

# Influência da alta concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> ( $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ) × disponibilidade hídrica nas relações hídricas, trocas gasosas e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica* L.<sup>1</sup>

Rodrigo Fazani Esteves Sanches<sup>1,2,3</sup>, Ingrid Cristina Araujo Catarino<sup>1,2</sup>, Marcia Regina Braga<sup>2</sup> e Emerson Alves da Silva<sup>2</sup>

Recebido: 09.07.2017; aceito: 27.10.2017

**ABSTRACT** - (Influence of high atmospheric CO<sub>2</sub> concentration ( $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ) × water availability in water relations, gas exchange and carbohydrate accumulation in *Coffea arabica* L.). The aim of this work was to evaluate the combined effects of  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  and water availability in water relations, gas exchange and carbohydrate accumulation in *Coffea arabica* L. Plants were cultivated under 400 and 760 ppm of CO<sub>2</sub> in open top chambers. For each  $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ , plants were divided into two groups and submitted to the following water regimes: daily watering and withholding watering for 7, 10, 14 and 37 days, followed by daily rehydration for 7 days. From day 10 on, significant changes in leaf water potential were observed in plants under water suppression in both treatments, with total recovery after rehydration. The *A* was higher in plants submitted to  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ , even under water suppression, compared to the daily watering regime. No change in the leaf carbohydrate content was observed in plants cultivated under  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  and water restriction when compared to those under  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  and daily watered treatment. However, plants submitted to 400 ppm CO<sub>2</sub> and water restriction showed a significant decrease in the sugar content, mainly in the leaves. Starch contents did not change in response to CO<sub>2</sub> and water treatments. An increase in the rates of leaf proline was observed at the beginning of water restriction, but decreased throughout the experiment. Our results indicate a mitigating effect of the  $\uparrow\text{CO}_2$  on water deficit through the maintenance of carbohydrate accumulation of coffee plants.

**Keywords:** climate changes, photosynthesis, water stress

**RESUMO** - (Influência da alta concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> ( $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ) × disponibilidade hídrica nas relações hídricas, trocas gasosas e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica* L.). O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  nas relações hídricas, trocas gasosas e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica*. Cafeeiros foram cultivados sob diferentes  $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  (400 e 760 ppm) e submetidos a dois regimes hídricos: rega diária e ciclos de suspensão de regas por 7, 10, 14 e 37 dias, seguidos de reidratação diária por 7 dias. Alterações significativas no potencial hídrico foram observadas nas plantas sob restrição hídrica a partir do 10º dia com recuperação total após a reidratação. As *A* foram maiores nos cafeeiros cultivados sob  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ , mesmo sob restrição hídrica se comparadas aos demais tratamentos. Cafeeiros cultivados em  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  e restrição hídrica não apresentaram diminuição nos teores de carboidratos em comparação aos cultivados sob  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  e rega diária. Entretanto, em plantas sob 400 ppm CO<sub>2</sub> e restrição hídrica, reduções significativas nos teores de açúcares, principalmente em folhas, foram observadas. Os teores de amido não alteraram em resposta aos tratamentos de CO<sub>2</sub> e água. Aumento no nível de prolina foi observado no início da restrição hídrica retornando a níveis basais ao longo do experimento. Nossos resultados apontam para um efeito mitigador do  $\uparrow\text{CO}_2$  sobre o déficit hídrico por meio da manutenção no acúmulo de carboidratos das plantas de café.

**Palavras-chave:** déficit hídrico, fotossíntese, mudanças climáticas

## Introdução

A concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) no ar atmosférico tem aumentado nos últimos dois

séculos, devido principalmente às emissões associadas à queima de combustíveis fósseis e da cobertura florestal. As medições confirmam que a proporção de CO<sub>2</sub>, dentre os gases atmosféricos, aumentou

1. Parte da Tese de Doutorado do primeiro Autor

2. Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Avenida Miguel Estéfano, 3.687, 04301-902 São Paulo, SP, Brasil

3. Autor para correspondência: [rodrigo.fazani@gmail.com](mailto:rodrigo.fazani@gmail.com)

globalmente de 280 ppm na era pré-industrial para 379 ppm em 2005 e, atualmente, já está em média 400 ppm (NOAA 2017). Este fato, associado ao potencial que as plantas possuem de assimilar carbono atmosférico por meio da fotossíntese e da produção de compostos de carbono, faz com que estudos sobre o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de plantas sob elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> recebam ampla atenção (Long & Bernacchi 2003, Braga *et al.* 2006, Kretschmar *et al.* 2009, Oliveira *et al.* 2013).

O aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico pode afetar os processos biológicos em diferentes níveis de organização, sendo que os controles fisiológicos e ecológicos são os estudados há mais tempo (Ainsworth & Rogers 2007). Ainsworth & Long (2005) verificaram que as taxas fotossintéticas de plantas cultivadas em ↑[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> aumentaram em média 28%. O estudo de Ainsworth & Long (2005) também mostra que ocorre redução na taxa de condutância estomática de aproximadamente 20% e aumento na eficiência do uso da água em até 50%. O aumento nas taxas fotossintéticas e a melhora nas relações hídricas observados nas plantas cultivadas em ↑[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> normalmente geram incrementos de biomassa e altura nestas plantas, que são respectivamente 49% e 12% maiores do que naquelas cultivadas em [CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> ambiente (Poorter & Pérez-Soba 2002, Ainsworth & Long 2005). Não obstante, Oliveira *et al.* (2010) demonstraram que plantas de *Chrysolaena obovata*, espécie C3 nativa do cerrado, responderam positivamente à elevada concentração de CO<sub>2</sub>, apresentando maior crescimento (40%), maior taxa fotossintética (63%), incremento de biomassa aérea (32%) e, ao final do período de exposição ao alto CO<sub>2</sub>, incremento de biomassa subterrânea (47%) de rizóforos e consequentemente maior produtividade de carboidratos.

Nas condições climáticas atuais, as alterações nas relações hídricas das plantas são uma resposta à disponibilidade hídrica sazonal. No Brasil, onde o clima se caracteriza predominantemente por verões úmidos e invernos secos, os principais processos fisiológicos afetados pelo o déficit hídrico sazonal são a condutância estomática, a fotossíntese e, por extensão, o crescimento das plantas. Entretanto, tais efeitos dependem da espécie estudada bem como da intensidade e duração do déficit hídrico ao qual as plantas ficam expostas (Chaves & Pereira 1992). Essas respostas, aliadas às previsões para esse século de aumento da [CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> e nas mudanças no regime hídrico com aumento das secas sazonais, sugerem que

haverá uma modificação na produtividade líquida e, por extensão, na estrutura e composição da vegetação (IPCC 2007) devido ao déficit hídrico. De fato, na natureza a extensão dos efeitos do déficit hídrico sobre as plantas depende da intensidade e da duração do estresse, bem como da capacidade geneticamente determinada da espécie em lidar com o meio ambiente. Já está bem estabelecido que a taxa de assimilação de carbono nas folhas é suprimida sob déficit hídrico moderado ou mesmo quando há queda na umidade do ar ou no potencial hídrico do solo (Gollan *et al.* 1986, Chaves 1991). Nesse caso, o controle estomático desempenha importante papel no controle das trocas gasosas quando o período de seca é prolongado (Chaves 1991).

Os efeitos positivos da elevada [CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> podem transcender os aumentos na eficiência do processo fotossintético *per se*. O aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico pode atuar mitigando os efeitos negativos de fatores abióticos estressantes, tais como, aumentos de temperatura do ar e alterações nos padrões de precipitação, também esperados por consequência do efeito estufa adicional, favorecendo a manutenção de altas taxas fotossintéticas e acúmulo de carboidratos.

No que diz respeito ao cafeeiro, nenhum trabalho neste sentido ainda foi realizado, a despeito do fato de que no Brasil as estimativas dos modelos climáticos globais observados são de aumento não uniforme na temperatura e diminuição da precipitação (Hamada *et al.* 2008). Alguns estudos alarmantes sugerem que, para o café, haverá reduções na produtividade de até 92% nas regiões brasileiras atuais de cultivo (Assad *et al.* 2007). Não obstante, a irrigação tem sido o principal fator que possibilita o estabelecimento do cultivo do café em regiões marginais, de baixa altitude, com temperaturas superiores as principais regiões produtoras do grão sendo uma importante opção de adaptação na cafeicultura frente às mudanças climáticas (Camargo 2010, Ramirez-Villegas *et al.* 2012).

Assim, medidas integradas de parâmetros ecofisiológicos e bioquímicos ao longo do tempo, podem colaborar no melhor entendimento da interação entre ↑[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> com diferentes disponibilidades hídricas sobre as relações hídricas, trocas gasosas e bioquímica de carboidratos em *C. arabica*. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito conjunto do aumento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> (↑ [CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub>) e de diferentes disponibilidades da água no solo, nas relações hídricas, trocas gasosas, acúmulo de carboidratos e osmorreguladores em

plantas de café sob condições de câmaras de topo aberto.

## Material e métodos

**Material Vegetal e Condições de Cultivo** - Mudanças de *Coffea arabica* var. Catuaí vermelho variedade IAC-144 com oito meses de idade foram transplantadas individualmente para vasos plásticos de sete litros, contendo substrato Biomix Mudanças e Plantio® e separadas em quatro lotes, cada um contendo 21 plantas. Estes lotes foram então distribuídos em quatro câmaras de topo aberto (OTC) de 1,5 m de diâmetro e 2,0 m de altura, providas de sistema de circulação de ar e instaladas no interior de Casa de Vegetação do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica (figura 1). Dois lotes foram mantidos em duas OTCs (21 plantas/OTC) com atmosfera ambiente de 400 ppm de CO<sub>2</sub>, enquanto outros dois lotes foram mantidos em outras duas outras OTCs à 760 ppm de CO<sub>2</sub>, por meio de injeção de gás a partir de cilindro de CO<sub>2</sub> comprimido acoplado ao sistema. As plantas permaneceram nessas condições atmosféricas de CO<sub>2</sub> e foram regadas diariamente por 30 dias.

Após este período, um lote com 21 plantas cultivadas em [CO<sub>2</sub>] ambiente (400 ppm de CO<sub>2</sub>) e outro cultivado em ↑[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> (760 ppm de CO<sub>2</sub>) foram submetidos aos seguintes regimes de suspensão de regas: dois ciclos de 7 e dois de 10 dias sem rega,



Figura 1. (a) Vista geral das quatro OTCs instaladas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica. (b) Plantas de *C. arabica* e os sensores de monitoramento da radiação solar, temperatura e umidade relativa no interior da câmara.

Figure 1. (a) Overview of the four OTCs installed in the Department of Plant Physiology and Biochemistry of Institute of Botany. (b) *C. arabica* plants and sensors for monitoring solar radiation, temperature and relative humidity inside the chamber.

seguidos de um ciclo de 14 dias e outro de 37 dias sem rega, após esse período, as plantas restantes foram submetidas à recuperação hídrica com regas diárias por 7 dias.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 2, sendo duas concentrações atmosféricas de CO<sub>2</sub> (400 e 760 ppm CO<sub>2</sub>) e dois regimes hídricos (regas diárias e suspensão de regas), num total de quatro tratamentos. Todos os parâmetros avaliados e as coletas de material vegetal (folhas e raízes) para as análises bioquímicas foram realizados ao final de cada ciclo de rega, eliminando-se 3 plantas em cada tempo de coleta, num total de 7 coletas.

**Análises Ecofisiológicas** - As condições edafoclimáticas foram monitoradas continuamente nos interiores das OTCs utilizando-se um sistema constituído de sensores de monitoramento contínuo da temperatura (T °C) e umidade relativa (UR) do ar (107 L em abrigo 41303-5A, Campbell Sci.), radiação fotossinteticamente ativa - DFFFA (Li-190SB, Li-Cor) e controle da concentração de CO<sub>2</sub>, utilizando analisador de gases no infravermelho (IRGA - WMA-4, PPSsystem). Os dados foram coletados a cada 15 minutos e armazenados em Datalogger (CR1000, Campbell Sci.) utilizando o Software de controle do sistema (Datalogger Support Software PC400 1.5, Campbell Sci.).

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_{w\text{ foliar}}$ ) foi medido em três folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, no período da antemãhã (entre 5:00 e 6:00 h), utilizando-se bomba de pressão tipo Scholander (model 1000, PMS Instrument Co). O teor relativo de água nas folhas foi determinado conforme descrito por Weatherley (1950).

A fotossíntese líquida ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), a taxa de transpiração foliar ( $E_{\text{foliar}}$ ,  $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e a concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $c_i$ , ppm de CO<sub>2</sub>) foram determinadas em três folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos. A análise foi realizada em sistema aberto, no período da manhã (entre 08:30 e 11:30 h), utilizando-se o analisador de gases a infravermelho portátil (IRGA - LCPro SD, ADC), sob concentrações de CO<sub>2</sub> em 400 ppm e 760 ppm e intensidade luminosa de 600  $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Silva *et al.* 2004). A partir dos dados de trocas gasosas, foi estimada a eficiência instantânea do uso da água, dada pela razão entre  $A$  e  $E_{\text{foliar}}$  (EIUA -  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ).



Análise de carboidratos e prolina - Amostras de folhas e raízes (3 g MF) das plantas de café nos diferentes tratamentos foram coletadas e maceradas em nitrogênio líquido e posteriormente liofilizadas (ModulyoD freezer Dyer 5 L, Thermo Electron). As amostras foram então separadas em alíquotas com 0,5 g e submetidas à extração exaustiva em etanol 80% a 80 °C por 15 minutos por 4 vezes, obtendo-se os extratos para dosagens de carboidratos e prolina. Os extratos etanólicos de cada extração individual foram reunidos, concentrados em rotavapor (modelo r-215, Buchi) a 40 °C e ressuspensos em 15 ml de água destilada. As soluções aquosas resultantes foram mantidas a -20 °C até que se procedesse às dosagens (Carvalho *et al.* 1998). Os resíduos resultantes da extração etanólica foram liofilizados e utilizados para extração e dosagem de amido.

A quantificação dos açúcares solúveis totais (AST) nos extratos aquosos foi realizada através do método do fenol sulfúrico (Dubois *et al.* 1956). A leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro (SP-22, Biospectro) com comprimento de onda em 490 nm. O conteúdo de açúcares redutores foi determinado segundo método Somogyi-Nelson (1945) a 520 nm. O cálculo da quantificação de AST e AR foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida a partir da curva padrão construída utilizando-se 100 µg ml<sup>-1</sup> de glicose (Sigma®) como padrão.

A quantificação de amido foi realizada no resíduo da extração etanólica conforme método enzimático proposto por Amaral *et al.* (2007). O teor de glicose foi determinado em leitor de microplacas de ELISA (KC4, Biotek Instruments) a 490 nm. A curva padrão foi feita com solução de glicose (Sigma®). A prolina livre (Pro) foi quantificada nas frações etanólicas obtidas e reunidas após a extração de carboidratos solúveis, segundo método proposto por Bates *et al.* (1973) a 520 nm, tendo 100 µg ml<sup>-1</sup> de L-prolina (Synth®) como padrão.

Análise Estatística - Os dados obtidos no experimento foram submetidos à análise de variância, sendo todo e qualquer contraste entre médias avaliado pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Para cada tempo de coleta considerou-se três repetições por tratamento (n = 3).

## Resultados e Discussão

A radiação fotossinteticamente ativa (DFFFA), a temperatura (°C) e a umidade do ar (%) e a [CO<sub>2</sub>] no interior das OTCs ao longo do período experimental foram em média, 428 ± 131 (µmol

fótons m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>), 22 ± 3 (°C), 70 ± 12 (%), 700 ± 59 nas câmaras com injeção de CO<sub>2</sub> e 458 ± 32 ppm nas câmaras sem injeção extra de CO<sub>2</sub>, ([CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub>, ppm), respectivamente. Estes parâmetros demonstram que as DFFFA ficaram próximas ao ponto de saturação luminoso da fotossíntese do cafeeiro que é de 600 µmol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, a temperatura do ar manteve-se dentro da faixa considerada ótima para o crescimento das plantas de café (Silva *et al.* 2004) e as [CO<sub>2</sub>] se mantiveram na faixa proposta para este estudo, *i.e.* 400 e 760 ppm CO<sub>2</sub> para as condições de ambiente e elevado CO<sub>2</sub>, respectivamente.

O  $\Psi_{w\text{ foliar}}$  (figura 2) foi sempre menor nas plantas submetidas à suspensão das regas, quando comparadas às plantas submetidas a regas diárias, independente da [CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub>, sendo as diferenças significativas observadas somente a partir dos ciclos com 10, 14 e 37 dias sem rega. Destaca-

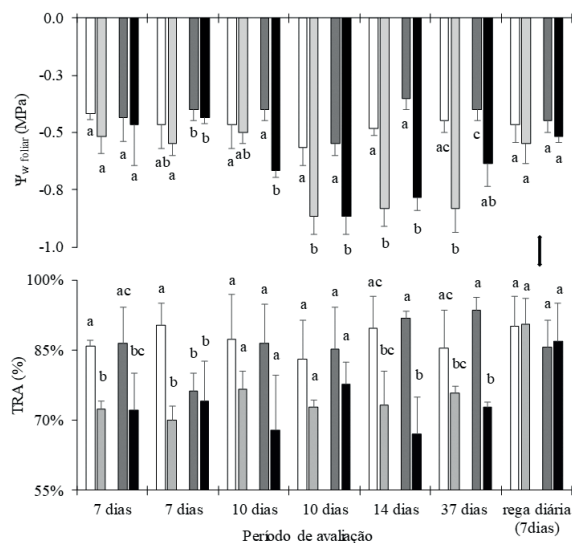


Figura 2. Potencial hídrico de folhas ( $\Psi_{w\text{ foliar}}$ , MPA) e teor relativo de água (TRA, %) em plantas de *C. arabica* submetidas aos tratamentos: □: 400 ppm CO<sub>2</sub> Regado, ■: 400 ppm CO<sub>2</sub> Não Regado, ■: 760 ppm CO<sub>2</sub> Regado, ■: 760 ppm CO<sub>2</sub> Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 2. Leaf water potential ( $\Psi_{w\text{ leaf}}$ , MPA) and relative water content (TRA, %) in *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO<sub>2</sub> Watering, ■: 400 ppm CO<sub>2</sub> Not Watered, ■: 760 ppm CO<sub>2</sub> Watering, ■: 760 ppm CO<sub>2</sub> Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean (n = 3). Means followed by the same letter in each sample do not differ statistically by the Tukey test at a 5% probability level.

se que os valores de  $\Psi_{w\text{ foliar}}$  nas plantas sob restrição hídrica não ultrapassaram -1,0 MPa, não evidenciando aspectos visíveis de deficiência hídrica nas plantas. Valores semelhantes de  $\Psi_{w\text{ foliar}}$  foram observados em cafeeiros irrigados sob condições de campo com atmosfera ambiente de CO<sub>2</sub> e submetidos à suspensão de irrigação por 30 dias em três diferentes regiões edafoclimáticas no Estado de São Paulo (Silva *et al.* 2010), que apresentaram  $\Psi_{w\text{ foliar}}$  mínimos de -0,9 MPa.

Diferente do  $\Psi_{w\text{ foliar}}$ , as reduções nos teores relativos de água (figura 2) das plantas submetidas aos ciclos de restrição hídrica, independente do tratamento de CO<sub>2</sub>, foram sempre significativas, quando comparadas às plantas sob rega diária, o que sugere que as alterações no  $\Psi_{w\text{ foliar}}$  se deveram principalmente às variações no conteúdo volumétrico de água das plantas imposto pelos ciclos de restrição hídrica. Não obstante, o retorno da rega diária nas plantas submetidas a restrição hídrica foi suficiente para aumentar o  $\Psi_{w\text{ foliar}}$  e TRA nas folhas, a valores semelhantes aos das plantas regadas diariamente em ambos os tratamentos de CO<sub>2</sub>.

As taxas de fotossíntese líquida (*A*), foram sempre maiores em plantas cultivadas sob ↑[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub>,

independentemente da disponibilidade hídrica. Observa-se na figura 3 que mesmo em plantas submetidas aos diferentes ciclos de suspensão de rega, os valores de *A* foram sempre maiores, com diferenças significativas ao longo do experimento evidenciando o efeito benéfico da elevada [CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> na fotossíntese dos cafeeiros, mesmo sob condições de déficit hídrico. Os índices de *g<sub>s</sub>* e *E<sub>foliar</sub>* não apresentaram variações significativas entre os tratamentos, com exceção das plantas submetidas ao ciclo de 37 dias sem reposição hídrica, na qual verificou-se menor valor de *g<sub>s</sub>* (figura 3). Recentemente, DaMatta *et al.* (2016) demonstraram em cafeeiros cultivados sob condições de campo, em sistema de enriquecimento de CO<sub>2</sub> ao ar livre (Ghini *et al.* 2015), que o ↑[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> propiciou aumentos significativos nas taxas fotossintéticas das plantas, com pequenas variações na *g<sub>s</sub>*.

Para Ainsworth & Rogers (2007), a alta disponibilidade de CO<sub>2</sub> atmosférico acresce o gradiente de difusão desse gás, da atmosfera para os cloroplastos, e, assim, estimula taxas fotossintéticas maiores que podem ser obtidas com baixas taxas de *g<sub>s</sub>* e *E<sub>foliar</sub>* o que por seu turno promovem aumentos na eficiência intrínseca do uso da água (EIUA). De

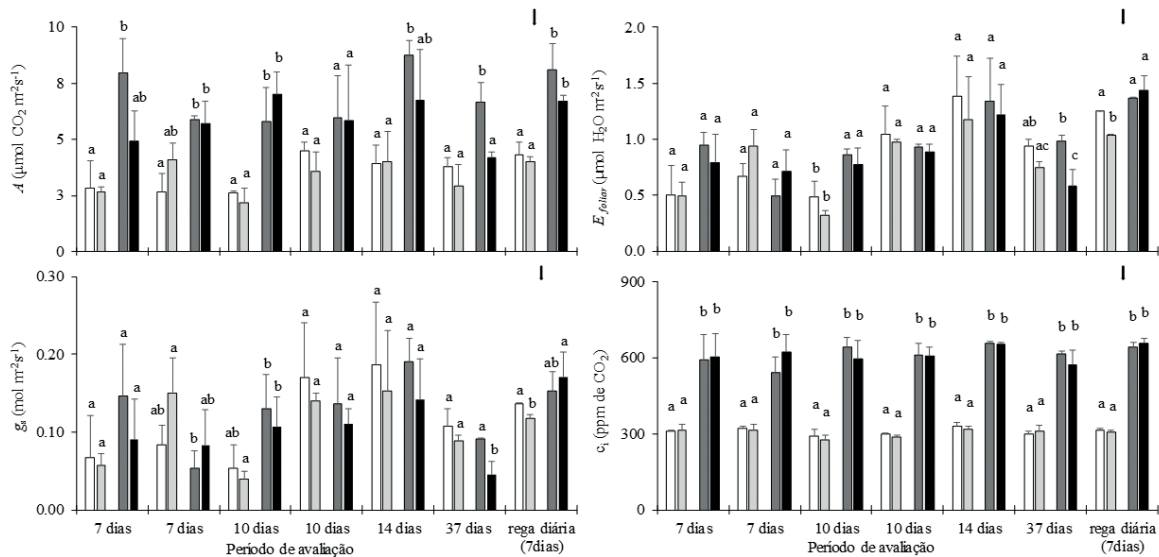


Figura 3. Fotossíntese (*A*, μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (*g<sub>s</sub>*, mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), transpiração foliar (*E<sub>foliar</sub>*, μmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e concentração interna de CO<sub>2</sub> (*c<sub>i</sub>*, ppm de CO<sub>2</sub>) sob intensidade luminosa de 600 μmol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO<sub>2</sub> Regado, ▤: 400 ppm CO<sub>2</sub> Não Regado, ▨: 760 ppm CO<sub>2</sub> Regado, ■: 760 ppm CO<sub>2</sub> Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 3. Photosynthesis (*A*, μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), stomatal conductance (*g<sub>s</sub>*, mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), leaf transpiration (*E<sub>foliar</sub>*, μmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) and internal CO<sub>2</sub> concentration (ppm CO<sub>2</sub>) under light intensity of 600 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, in *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO<sub>2</sub> Watering, ▤: 400 ppm CO<sub>2</sub> Not Watered, ▨: 760 ppm CO<sub>2</sub> Watering, ■: 760 ppm CO<sub>2</sub> Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean (n = 3). Means followed by the same letter in each sample do not differ statistically by the Tukey test at a 5% probability level.

fato, nossos resultados demonstram significativos aumentos na concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) das plantas de café cultivadas em  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  mesmo quando sob restrição hídrica (figura 3). Este comportamento associado às pequenas variações observadas na  $g_s$  e  $E_{\text{foliar}}$  podem explicar os aumentos pontuais na EIUA (figura 4), principalmente nos ciclos de maior restrição hídrica. De acordo com van der Sleen *et al.* (2015), as altas concentrações de  $\text{CO}_2$  aumentam as taxas fotossintéticas, bem como a eficiência no uso da água em plantas tropicais, como é o caso do café.

A disponibilidade hídrica associada às concentrações atmosféricas dos tratamentos 400 e 760 ppm de  $\text{CO}_2$  influenciaram o acúmulo de carboidratos nos cafeeiros. Como mostrado nas figuras 5 e 6, foi observada diminuição significativa nos teores de AST e AR nas folhas dos cafeeiros cultivados sob  $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  de 400 ppm e restrição hídrica, e diminuição significativa nos teores de AR nas folhas dos cafeeiros cultivados sob  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  de 760 ppm de  $\text{CO}_2$ . Por outro lado, os teores de AST nas raízes dos cafeeiros não diferiram significativamente entre os tratamentos ao longo do experimento, com exceção das plantas sob concentração de 400 e 760 ppm de  $\text{CO}_2$  e restrição hídrica no primeiro ciclo de 7 dias e 14 dias sem rega, respectivamente, nas quais foram observadas reduções

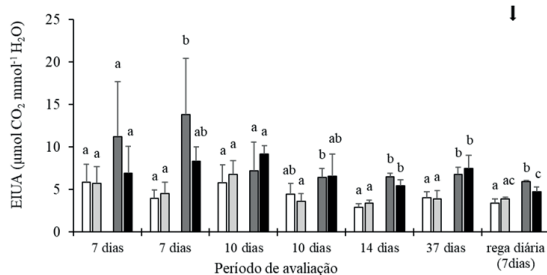


Figura 4. Eficiência instantânea do uso da água (EIUA,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ ) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Regado, ■: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Não Regado, ■: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Regado, ■: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média ( $n = 3$ ). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 4. Water use efficiency (EIUA,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ ) in *C. arabica* submitted to the following treatments: □ - 400 ppm  $\text{CO}_2$  Watering, ■: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Not Watered, ■: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Watering, ■: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean ( $n = 3$ ). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey test in a 5% probability level.

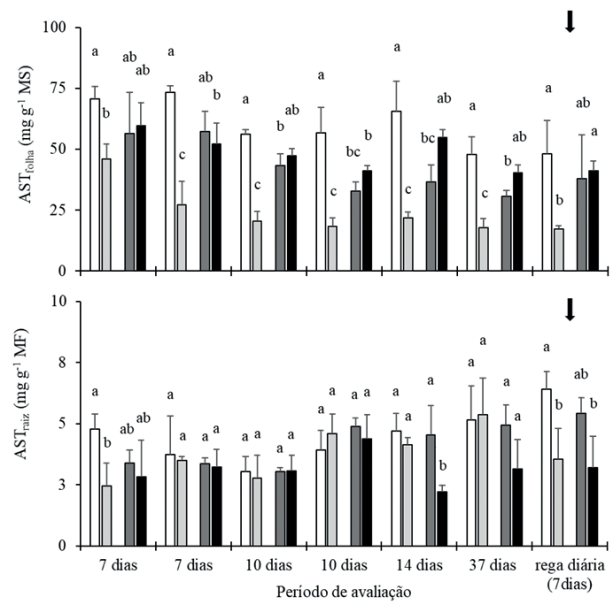


Figura 5. Conteúdo de açúcares solúveis totais em folhas (AST,  $\text{mg g}^{-1} \text{MS}$ ) (A) e raízes (AST,  $\text{mg g}^{-1} \text{MF}$ ) (B) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Regado, ■: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Não Regado, ■: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Regado, ■: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média ( $n = 3$ ). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 5. Total soluble sugar content in leaves (AST,  $\text{mg g}^{-1} \text{MS}$ ) (A) and roots (AST,  $\text{mg g}^{-1} \text{MF}$ ) (B) of *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Watering, ■: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Not Watered, ■: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Watering, ■: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean ( $n = 3$ ). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey subtraction at a 5% probability level.

nos teores de AST. Entretanto, a reidratação por 7 dias com rega diária nos tratamentos sob suspensão hídrica não foi suficiente para equiparar os níveis de AST a aqueles das plantas regadas diariamente. Os menores níveis desses carboidratos podem indicar a pronta utilização destes na manutenção do crescimento dessas plantas. Verificou-se aumento nos teores de amido (figura 7) em folhas, no início do experimento, e tendência de acúmulo desse carboidrato nas raízes dos cafeeiros cultivados sob  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ . A redução nos níveis AST sob condições de deficiência hídrica pode indicar baixo potencial osmorregulador das plantas, nas quais, possivelmente esta diminuição está associada ao consumo destes compostos para a manutenção da sobrevivência, enquanto que, os AR compõem formas de carboidratos facilmente

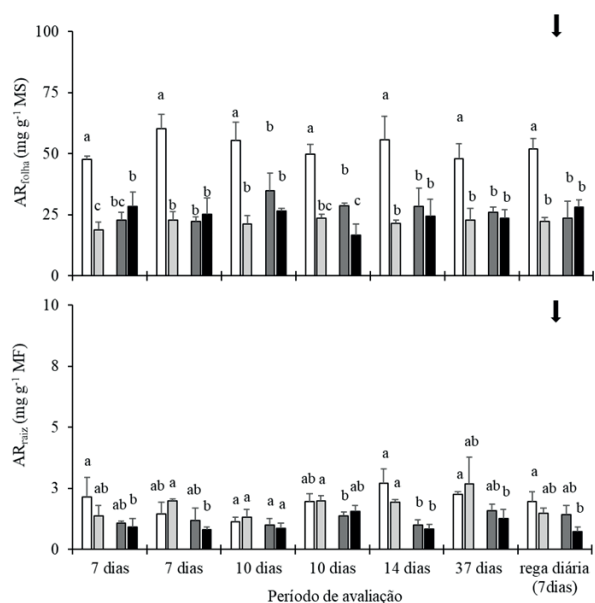


Figura 6. Conteúdo de açúcares redutores de folhas (AR, mg g<sup>-1</sup> MS) e raízes (AR, mg g<sup>-1</sup> MF) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO<sub>2</sub> Regado, ■: 400 ppm CO<sub>2</sub> Não Regado, ▨: 760 ppm CO<sub>2</sub> Regado, ▩: 760 ppm CO<sub>2</sub> Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 6. Content of reducing sugars in leaf (AR, mg g<sup>-1</sup> MS) and roots (AR, mg g<sup>-1</sup> MF) of *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO<sub>2</sub> Watering, ■: 400 ppm CO<sub>2</sub> Not Watered, ▨: 760 ppm CO<sub>2</sub> Watering, ▩: 760 ppm CO<sub>2</sub> Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean (n = 3). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey subtraction at a 5% probability level.

mobilizáveis para a produção de energia, que são altamente higroscópicos e apresentam ótima função osmorreguladora (Buckeridge *et al.* 2000, Melo *et al.* 2007, Whittaker *et al.* 2007).

Os níveis de prolina aumentaram nas folhas dos cafeeiros sob restrição hídrica apenas no início da suspensão das regas, o que pode indicar a manutenção do alto  $\Psi_{w\text{ foliar}}$  (figura 2) verificado no período. Todavia, os níveis de prolina foram baixos no decorrer da imposição da deficiência hídrica. O acúmulo de prolina, em muitos casos, é tomado como indicador de tolerância ao déficit hídrico, entretanto, segundo Maestri *et al.* (1995), o aumento dos níveis deste aminoácido, não se correlaciona satisfatoriamente com a tolerância

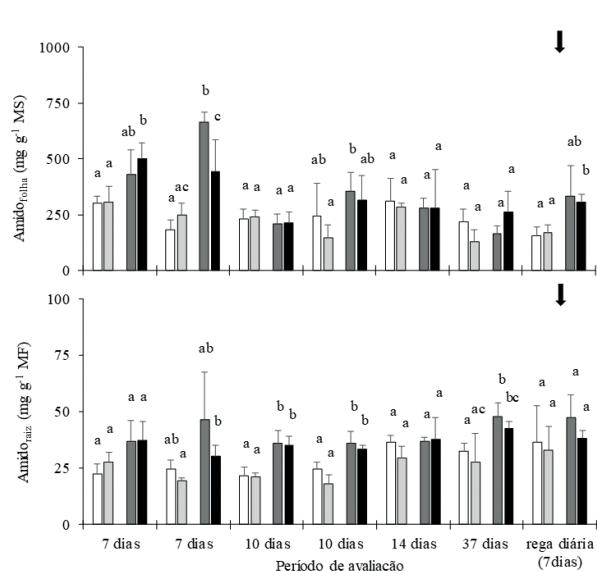


Figura 7. Conteúdo de amido em folhas (mg g<sup>-1</sup> MS) (A) e raízes (mg g<sup>-1</sup> MF) (B) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO<sub>2</sub> Regado, ■: 400 ppm CO<sub>2</sub> Não Regado, ▨: 760 ppm CO<sub>2</sub> Regado, ▩: 760 ppm CO<sub>2</sub> Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 7. Starch content in leaves (mg g<sup>-1</sup> MS) (A) and roots (mg g<sup>-1</sup> MF) (B) of *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO<sub>2</sub> Watering, ■: 400 ppm CO<sub>2</sub> Not Watered, ▨: 760 ppm CO<sub>2</sub> Watering, ▩: 760 ppm CO<sub>2</sub> Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean (n = 3). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey subtraction at a 5% probability level.

a seca em várias cultivares de café arábico. Com efeito, nossos resultados demonstram, mesmo em plantas mantidas sob  $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$  que o ajuste osmótico, frequentemente observado como mecanismo de resposta às condições de seca em muitas espécies, não parece ser um mecanismo relevante no cafeeiro (DaMatta & Ramalho 2006, Silva *et al.* 2010).

Em conclusão nossos resultados demonstram que as respostas de curto prazo de plantas de café submetidas à atmosfera enriquecida de CO<sub>2</sub> em condições de sob condições de câmaras de topo aberto, apontam para o efeito mitigador do CO<sub>2</sub> sobre o déficit hídrico, por meio do aumento das taxas fotossintéticas e manutenção no acúmulo de carboidratos nas folhas e raízes do cafeeiro.



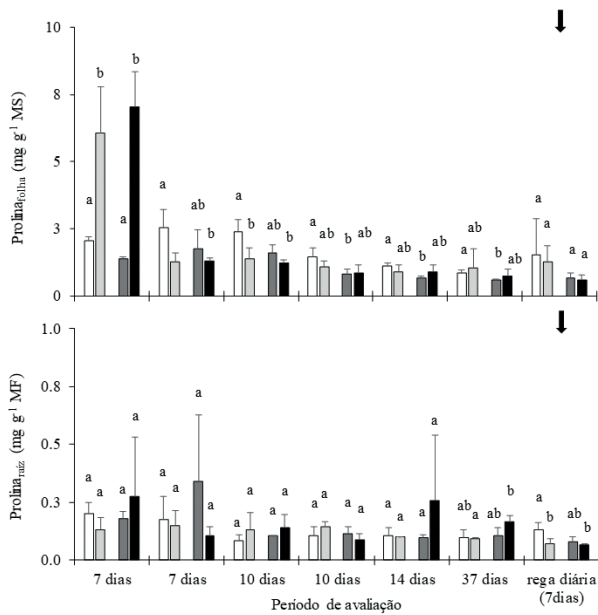


Figura 8. Conteúdo de prolina em folhas ( $\text{mg g}^{-1}$  MS) e raízes ( $\text{mg g}^{-1}$  MF) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Regado, ■: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Não Regado, ▨: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Regado, ▩: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média ( $n = 3$ ). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 8. Proline content in leaves ( $\text{mg g}^{-1}$  MS) and roots ( $\text{mg g}^{-1}$  MF) of *C. arabica* submitted to the following treatments: □ - 400 ppm  $\text{CO}_2$  Watering, ■: 400 ppm  $\text{CO}_2$  Not Watered, ▨: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Watering, ▩: 760 ppm  $\text{CO}_2$  Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean ( $n = 3$ ). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey subtraction at a 5% probability level.

### Agradecimentos

Os autores são gratos à FAPESP pelo Auxílio Pesquisa (Proc. 12/08874-3) e ao Sr. Paulo Gilberto Venturini - Viveiro Venturini, pela doação das plantas de Café. RFES agradece à Capes pela Bolsa de Doutorado e ICAC ao CNPq pela bolsa PIBIC. MRB agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa.

### Literatura citada

Ainsworth, E.A. & Rogers, A. 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising ( $\text{CO}_2$ ): mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* 30: 258-270.

Ainsworth, E.A. & Long, S.P. 2005. What have we learned from 15 years of free-air  $\text{CO}_2$  enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising  $\text{CO}_2$ . *New Phytologist* 165: 351-372.

Amaral, L.I.V., Costa, P.M.F., Aidar, M.P.M., Gaspar, M. & Buckeridge, M.S. 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34: 425-431.

Assad, E.D., Pinto, H.S., Zullo Jr., J. & Marin, F. 2007. Mudanças climáticas e agricultura: uma abordagem agroclimatológica. *Ciência e Ambiente* 34: 169-182.

Bates, L.S., Waldren, R.P. & Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

Braga, M.R., Aidar, M.P.M., Marabesi, M.A. & Godoy, J.R.L. 2006. Effects of elevated  $\text{CO}_2$  on the phytoalexin production of two soybean cultivars differing in the resistance to stem canker disease. *Environmental and Experimental Botany* 58: 85-92.

Buckeridge, M.S., Tiné, M.A.S., Santos, H.P. dos & Lima, D.U. 2000. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 137-162.

Camargo, M.B.P. de. 2010. The impact variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil. *Bragantia* 69: 239-247.

Carvalho, M.A.M., Pinto M.M. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L. 1998. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. *Revista Brasileira de Botânica* 21: 281-285.

Chaves, M.M. & Pereira, J.S. 1992. Water Stress,  $\text{CO}_2$  and Climate Change. *Journal of Experimental Botany* 43: 1131-1139.

Chaves, M.M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* 42: 1-16.

DaMatta, F.M. & Ramalho, J.D.C. 2006. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: A review. *Brazilian Journal Plant Physiology* 18: 55-81.

DaMatta, F.M., Godoy, A.G., Menezes-Silva, P.E., Martins S.C.V., Sanglard, L.M.V.P., Morais, L.E., Torre-Neto, A. & Ghini, R. 2016. Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air  $\text{CO}_2$  enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *Journal of Experimental Botany* 67: 341-352.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.



- Ghini R., Torre-Neto A., Dentzien A.F.M., Gerreiro-Filho O., Iost R., Patrício F.R.A., Prado J.S.M., Thomaziello R.A., Bettiol W. & DaMatta F.M.** 2015. Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO<sub>2</sub> enrichment. *Climatic Change* 132: 307-320.
- Gollan, T., Richards, R.A., Passioura, J.B., Rawson, H.M., Munns, R. & Johnson, D.A.** 1986. Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. *Australian Journal Plant Physiology* 13: 459-464.
- Hamada, E., Ghini, R., Fernandes, J.L., Pedro Jr, M.J. & Rossi, P.** 2008. Spatial and temporal variability of leaf wetness duration in the State of São Paulo, Brazil. *Scientia Agricola* 65: 26-31.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change).** 2007. The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kretschmar, F.S., Aidar, M.P.M., Salgado, L. & Braga, M.R.** 2009. Elevated CO<sub>2</sub> atmosphere enhances production of defense-related flavonoids in soybean elicited by NO and a fungal elicitor. *Environmental and Experimental Botany* 65: 319-329.
- Leakey, A.D.B., Ainsworth, E.A., Bernacchi, C.J., Rogers, A., Long, S.P. & Ort, D.R.** 2009. Elevated CO<sub>2</sub> effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany* 60: 2859-2876.
- Long, S.P. & Bernacchi, C.J.** 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54: 2393-2401.
- Maestri, M., DaMatta, F.M., Regazzi, A.J. & Barros, R.S.** 1995. Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water-stressed coffee plants (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *Journal of Horticultural Science* 70: 229-233.
- Melo, H.C., Castro, E.M., Soares, A.M., Melo, L.A. & Alves, J.D.** 2007. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. *Hoehnea* 34: 145-153.
- NOAA.** 2017. National Climatic Data Center, State of the Climate, published on line May 2017. Available in <https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/> (access in 06-VI-2017).
- Oliveira, V.F., Silva, E.A., Zaidan, L.B.P. & Carvalho, M.A.M.** 2013. Effects of elevated CO<sub>2</sub> concentration and water deficit on fructan metabolism in *Viguiera discolor* Baker. *Plant Biology* 15: 471-482.
- Oliveira, V.F., Zaidan, L.B.P., Braga, M.R., Aidar, M.P.M. & Carvalho, M.A.M.** 2010. Elevated CO<sub>2</sub> atmosphere promotes plant growth and inulin production in the cerrado species *Vernonia herbacea*. *Functional Plant Biology* 37: 223-231.
- Poorter, H., Pérez-Soba, M.** 2002. Plant growth at elevated CO<sub>2</sub>. In: H.A. Mooney & J.G. Canadell (eds.). *The Earth system: biological and ecological dimensions of global environmental change*. John Wiley & Sons, Inc., Chichester, pp. 489-496.
- Ramalho, J.C., Rodrigues, A.P., Semedo, J.N., Pais, I.P., Martins, L.D., Simões-Costa, M.C., Leitão, A.E., Fortunato, A.S., Batista-Santos, P., Palos, I.M., Tomaz, M.A., Scotti-Campos, P., Lindon, F.C. & DaMatta, F.M.** 2013. Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO<sub>2</sub>]. *PLoS One* 8: e82712.
- Ramirez-Villegas, J., Salazar, M., Jarvis, A. & Navarro-Racines, C.E.** 2012. A way forward on adaptation to climate change in Colombian agriculture: perspectives towards 2050. *Climatic Change* 115: 611-128.
- Silva, E.A., DaMatta, F.M., Ducatti, C., Regazzi, A.J. & Barros, R.S.** 2004. Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of Arabica coffee trees. *Field Crops Research* 89: 349-357.
- Silva, V.A., Antunes, W.C., Guimarães, B.L.S., Paiva, R.M.C., Silva, V.DeF., Ferrão, M.A.G., DaMatta, F.M. & Loureiro, M.E.** 2010. Resposta fisiológica de clone de café Conilon sensível à deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45: 457-464.
- Somogyi, M.** 1945. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* 160: 61-63.
- van der Sleen, P., Groenendijk, P., Vlam, M., Anten, N.P.R., Boom, A., Bongers, F., Pons, T.L., Terburg, G. & Zuidema, P. A.** 2015. No growth stimulation of tropical trees by 150 years of CO<sub>2</sub> fertilization but water-use efficiency increased. *Nature Geoscience* 8: 24-28.
- Weatherley, P.E.** 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist* 81-97.
- Whittaker, A., Martinelli, T., Farrant, J.M., Bochicchio, A. & Vazzana, C.** 2007. Sucrose phosphate synthase activity and the co-ordination of carbon partitioning during sucrose and amino acid accumulation in desiccation-tolerant leaf material of the C<sub>4</sub> resurrection plant *Sporobolus stapfianus* during dehydration. *Journal of Experimental Botany* 58: 3775-3787.