



AVALIAÇÃO DOS TEORES FOLIARES DE CLOROFILA EM PLANTAS DE ALGODOEIRO CULTIVADAS EM ALTAS TEMPERATURAS E ELEVADO NÍVEL DE CO₂

Fabiola Vanessa de França Silva¹; Maria do Socorro Rocha¹; José Félix de Brito Neto²; Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão²; Valdinei Sofiatti²

CCA/UFPB¹, favanessa@ig.com.br; EMBRAPA/CNPA²

RESUMO – O aumento da temperatura aliado ao incremento de CO₂ atmosférico tem promovido alterações no comportamento fisiológico de culturas agrícolas importantes, como o algodoeiro. Reconhecer essas mudanças, portanto, é imprescindível para mitigar os efeitos das mudanças climáticas em curso, bem como minimizar efeitos na produção final da cultura. Assim, objetivou-se estimar os teores de clorofila *a*, *b*, carotenóides e clorofila total do algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.), cv. BRS 187 8H, em alta temperatura e elevado nível de dióxido de carbono. Conduziu-se o experimento na sede da Embrapa Algodão CNPA, Laboratório de Fisiologia, em câmara denominada Fitotron, combinando-se duas temperaturas (37°C e 30°C) e dois níveis de CO₂ (400 e 800 mmol L⁻¹), em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e cinco coletas. As leituras da clorofila foram realizadas retirando-se, em triplicata, um disco foliar por unidade experimental, posteriormente submetidos à determinação dos pigmentos fotossintéticos pelo método DMSO (dimetilssulfóxido), procedendo-se à leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 663 nm, 645 nm e 480 nm. A alta temperatura promoveu um aumento de 16% no teor de clorofila total; enquanto que o incremento de CO₂ aumentou a mesma variável em 24%.

Palavras-chave: mudanças climáticas; fotossíntese; clorofila.

INTRODUÇÃO

Dentro do cenário climático cujas mudanças estão em curso, componentes ambientais como temperatura e nível de dióxido de carbono (CO₂) podem incidir sobre a fisiologia dos vegetais a partir de um limite de tolerância a esses fatores, impactando a produtividade e o manejo de culturas importantes (AMORIM et al., 2008; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Oleaginosas C₃ devem sofrer mais impactos fisiológicos do que as plantas C₄ com as mudanças ambientais previstas, as quais podem promover neste grupo vegetal um aumento da atividade fotossintética, promover a evapotranspiração e inibir a fotorrespiração (MAGALHÃES, 1983; TAIZ; ZEIGER, 2009). Porém, experimentos controlados têm evidenciado a necessidade de ajustes fisiológicos específicos a nível de membrana do tilacóide a fim de suprir esta demanda, particularmente devido à afinidade da enzima RUBISCO pelo CO₂ (SILVA, 2011).

A atividade da RUBISCO pode ser afetada pela ausência de nitrogênio, nutriente que modifica a resistência estomática na difusão do CO₂, levando à conseqüente queda na taxa fotossintética (COSTA et al., 1988). Dessa maneira, a determinação dos pigmentos clorofilianos pode servir como suporte para prever a real necessidade de nitrogênio da cultura, e/ou na tomada de decisão da adubação durante o ciclo da mesma, pois os pigmentos fotossintéticos apresentam alta relação com os rendimentos em diversas espécies (AMARANTRE et al., 2008). Além disso, a eficiência fotossintética das plantas está ligada estreitamente à clorofila, devido à sua capacidade de conversão da radiação luminosa em energia, na forma de ATP e NADPH, que são dependentes das enzimas associadas aos cloroplastos, as quais são constituídas basicamente de proteínas; há, assim, uma interdependência com esse nutriente (LARCHER, 2006).

A determinação da clorofila exige grande aporte de reagentes, além da destruição dos tecidos vegetais, impossibilitando estudos ontogênicos foliares na cultura em questão (JESUS; MARRENCO, 2008). Após os processos de extração, a clorofila *a* apresenta uma coloração azul-esverdeada, enquanto a clorofila *b* apresenta uma cor amarelo-esverdeada, sendo mensuradas por meio da colorimetria (ANGEL; POGGIANI 1991), podendo assim ser estimadas as proporções de clorofila *a*, *b* e carotenóides na cultura do algodoeiro.

Dessa forma, objetivou-se, com este trabalho, estimar os teores de clorofila *a*, *b*, carotenóides e clorofila total do algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.), cv. BRS 187 8H, em alta temperatura e elevado nível de dióxido de carbono.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em câmara controlada denominada Fitotron, localizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Algodão, situado em Campina Grande – PB.

As câmaras são dotadas de lâmpadas fluorescente (40W) e incandescentes (100W), na proporção 4:1, constituindo-se na fonte luminosa para a cultura, fornecendo um total de 400,68 W m⁻². Um condicionador de ar de 10.000 BTUs e termohigrógrafo, instalados no interior da mesma, controlaram a temperatura do ar, programada para 37°C, no Fitotron 1 e 30°C no Fitotron 2. Cilindros pressurizados com 99,8% de CO₂, 58,3 Kg F cm⁻² promoveram o enriquecimento do ar no interior das câmaras para 400 e 800 mmol L⁻¹ de CO₂, combinados com os dois diferentes níveis de temperatura: (30° e 37°C), resultando em dois ciclos da cultura em quatro ambientes experimentais.

A unidade experimental constituiu-se de uma planta/vaso de polietileno com capacidade para 20 litros, contendo substrato tipo turfa e areia na proporção 1:1. Todas as plantas receberam

adubação mineral nitrogenada: 20% na fundação e 80% em cobertura, aos 15 dias após a emergência. As sementes de (*Gossipium. hirsutum L.*), cv. BRS 187 8H, foram adquiridas no Banco Ativo de Germoplasma do CNPA e semeadas cinco unidades por vaso, permanecendo uma planta por vaso após o desbaste. A irrigação foi realizada a cada três dias, na fase vegetativa, e a cada dois dias na fase reprodutiva, mantendo o potencial hídrico próximo da capacidade de campo. Após o desbaste foram colocados sacos plásticos nas unidades experimentais a fim de impedir a perda de água do substrato para o ambiente.

Para o estudo do teor foliar de pigmentos clorofilianos, foi retirado um disco com área de 113 mm² de cada amostra, em triplicata, e depositados em tubos de ensaio previamente envolvidos com papel alumínio para proteção da radiação solar, sendo conservados em baixa temperatura para reduzir a desnaturação de enzimas e proteínas. Seguindo as metodologias descritas por Arnon (1949) e adaptada por Hiscox e Israelstam, (1979), foi utilizado 5 ml do reagente dimetilsulfoxido (DMSO) para incubação das amostras a 70°C por 30 minutos em banho maria, seguidas de agitação individual a cada 10 min. Após resfriamento, procedeu-se às leituras em espectrofotômetro (Biomate® tm3) nos comprimentos de onda 663 nm, 645 nm e 480 nm. As determinações e quantificação seguiram as equações relatadas por Wellburn (1994) e Sofiatti et al. (2009).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, numa combinação fatorial 2x2x5 (temperatura, nível de CO₂ e período), com quatro repetições. Foram realizadas cinco coletas ao longo do ciclo. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo testados os efeitos simples e interações, comparando as médias pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$), procedendo-se à análise de regressão para o período de coleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variância dos dados da clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides e clorofila total, submetidos aos efeitos de alta temperatura e elevado nível de CO₂, em plantas do algodoeiro durante cinco períodos ao longo do ciclo, em porcentagem (%), encontram-se na Tabela 1. Observa-se que a interação tripla (temperatura x CO₂ x Períodos) só foi significativa para os dados de carotenóides, à 5%. Por sua vez, as interações duplas não foram significativas para a clorofila *a* (temperatura x período) e (CO₂ x temperatura), em todas as avaliações realizadas. Já a temperatura foi a única variável que não surtiu qualquer efeito significativo nas avaliações realizadas para clorofila *a*, *b* e carotenóides, indicando que as temperaturas empregadas no presente estudo não alteram o teor de clorofila total.

Quanto aos teores de carotenóides presentes nas folhas do algodoeiro (Tabela 1), o modelo de ajuste matemático de melhor representação foi o quadrático, com coeficiente de determinação de 0,80 e 0,94, nas temperaturas, e 0,98 e 0,74, para CO₂. A quantificação destes pigmentos é relevante, pois atuam como fotoprotetores do excesso de luz, dissipando energia no fotossistema II (PSII) quando este tem uma sobrecarga energética (TAIZ; ZEINGER, 2006; RICHARDSON, 2002). Quando as plantas estão sujeitas a algum tipo de estresse, ocorre um aumento nos teores de carotenóides reduzindo, assim, a produção de clorofila (DUARTE, 2003), conseqüentemente, a quantificação indireta dos carotenóides é importante indicador da ambientação do vegetal.

Quanto aos valores da clorofila *a*, *b* e carotenóides (Tabela1), pode ser observado que houve relação polinomial entre os períodos avaliados, temperaturas e CO₂, com coeficiente de determinação de 0,79 a 0,81, para temperatura, e de 0,95 a 0,73, para CO₂. Na clorofila *a* na clorofila *b*, o coeficiente de determinação de 0,90 a 0,92, CO₂ de 0,81 a 0,78 no carotenóides o coeficiente de determinação de 0,86 a 0,86, CO₂ de 0,98 a 0,74. Outros trabalhos também verificaram alta relação neste pigmento fotossintético, como em capim-elefante anão (ARAÚJO, 2008), em milho (ARGENTA et al. 2001), em macieira (AMARANTE et al. 2008) e em cana de açúcar (COSTA, 2009).

A alta temperatura promoveu, no algodoeiro herbáceo *Gossipium. hirsutum* L. cv. BRS 187 8H, um aumento de 16% no teor de clorofila total; enquanto que o incremento de CO₂ aumentou a mesma variável em 24%.

CONCLUSÃO

O aumento da temperatura combinado com o incremento de CO₂ atmosférico promoveu o aumento do teor de clorofila total na cultura do algodoeiro *Gossipium. hirsutum* L., cv. BRS 187 8H indicando, assim, que as mudanças climáticas podem promover o aumento da taxa fotossintética na cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE, C. V. T. do.; STEFFENS, C. A.; ZANARDI, O. Z.; ALVES, E. de O. Quantificação de clorofilas em folhas de macieiras 'royal gala' e 'fugi' com métodos ópticos não-destrutivos. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal., v. 30, n. 3, p. 590-595, set. 2008.

AMORIM, L. S.; LUCENA, C.; OLIVEIRA, M. I. P. de; SILVA, D. M. A.; BELTRÃO, N. E. de M. Contribuições da mamoneira na mitigação às mudanças climáticas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

MAMONA, 3., 2008, Salvador. **Energia e ricinoquímica**: resumos. Salvador: SEAGRI; Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008. 1 CD-ROM.

ANGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Rev. Bras. Fisiol. Vegetal**. v. 3, n.1, p. 39-45, 1991.

ARAÚJO, S. A. C. **Avaliação e seleção de genótipos de capim-elefante anão para pastejo**. 2008. 102 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal)- Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes, RJ, 2008.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. da; BORTOLINI, C. G. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 158-167, 2001.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.

COSTA, C. T. S. **Crescimento, pigmentos fotossintéticos e produtividade de cana-de-açúcar no quarto ciclo de cultivo**. 2009. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)-Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2009.

COSTA, R. C. L. da; LOPES, N. F.; OLIVA, M. A.; BARROS, N. F. de. Efeito da água e do nitrogênio sobre a fotossíntese, respiração e resistência estomática em *Phaseolus vulgaris*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, p. 1371-1379, 1988.

DUARTE, C. C. **Deteção óptica da eficiência quântica da fotossíntese**. 2003. 109 p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, 2003.

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, p. 1332-1334, 1979.

JESUS, S. V.; MARENCO, R. A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amaz.**, Manaus, v. 38, n. 4, dez. 2008 .

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Rimas artes, 2006. 531 p.

MAGALHÃES, A. C. N. Fotossíntese. In: FERRI, M. G. **Fisiologia Vegetal 1**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1983. v. 1, p.117-166.

RICHARDSON, A. D.; DUIGAN, S. P.; BERLYN, G. P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, Lancaster, v. 153, n. 1, p. 185-194, 2002.

SILVA, F. V. de F. **Metabolismo e crescimento de *Ricinus communis* L. sob temperatura supraótima e elevado nível de CO₂**. 2011. 78f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba, Areia – PB, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TEIXEIRA, L. C. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. **Revista Informe Agropecuário**, v. 26, n. 229. p. 18-27, 2006.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total Carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal Plant Physiology**, v. 144, p. 307-313, 1994.

Tabela 1. Resumos das análises de variância, teste de médias e análises de regressão para as variáveis: clorofila a (CL a), clorofila b (CL b), carotenóides (CAR) e clorofila total (CL t) em algodoeiro submetido a estresse de temperaturas (30 e 37°C), concentrações de CO₂ (400 e 800ppm) em diferentes períodos (20, 40, 60, 80 e 100 dias).

F. V.	GL	Quadrados Médios			
		Clorofila a	Clorofila b	Carotenóides	Clorofila total
Tratamentos	19	64133,00**	16045,15**	3601886457,05 **	101145,23**
Temperaturas (T)	1	390,99 ^{ns}	16807,82 ^{ns}	120898443,93 ^{ns}	39776,42*
Concentrações (CO ₂)	1	44297,52*	22292,34*	7464822260,31**	95947,62**
Períodos (P)	4	256586,38**	24731,74**	7464880707,78**	364864,31**
T x CO ₂	1	1,66*	8938,33 ^{ns}	119009307,550 ^{ns}	21274,08 ^{ns}
T x P	4	13647,22 ^{ns}	13049,34*	119943375,54*	29751,97*
CO ₂ x P	4	14074,53 ^{ns}	18386,99**	7478177486,04**	41540,24**
T x CO ₂ x P	4	9151,07 ^{ns}	8036,76 ^{ns}	119776598,66*	5033,79 ^{ns}
Resíduo	60	6371,32	4989,61	32973703,87	8391,82
CV (%)		39,20	111,03	58,69	35,01
30°C		205,78 a	49,12a	8554,22a	239,30b
37°C		20136 a	78,11a	11012,87a	283,89a
400ppm		227,10 a	80,31a	123,82b	296,23a
800ppm		180,04b	46,92b	19443,27a	226,96b
DMS		35,71	31,60	2569,45	40,99
Variáveis	Temperaturas (°C)				
	30°C	R ²	37°C	R ²	
CL a	Y= 57,128+10,242x-0,1069x ²	0,79	Y= 32,988+11,378x-0,1159x ²	0,81	
CL b	Y= 26,148+1,8789x-0,0204x ²	0,90	Y= 264,39-5,1213x+0,0274x ²	0,92	
CAR	Y=-11,856+14,986x -0,1473x ²	0,80	Y= 294,99+6,3849x-0,0896x ²	0,94	
CL t	Y=75958- 2224x +15,008x ²	0,86	Y=98023- 2871,6x +19,384x ²	0,86	
	Concentrações de CO ₂				
	400ppm	R ²	800ppm	R ²	
CL a	Y= 120,36+8,573x-0,0926x ²	0,95	Y=-30,76+13,076x-0,1304x ²	0,73	
CL b	Y= 270,5-5,3997x+0,0304x ²	0,81	Y= 17,62+2,2865x-0,0245x ²	0,78	
CAR	Y=295,75+6,0368x-0,0822x ²	0,98	Y=-12,614+15,334x-0,1546x ²	0,74	
CL t	Y=-16,264+7,0788x-0,0647x ²	0,92	Y= 174016-5103,2x+ 34,46x ²	0,86	

** , * e ^{ns}, Significativo a 1, 5% e não significativo pelo teste F, Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, FV= Fontes de Variação, GL= Graus de Liberdade, CV= Coeficiente de Variação, DMS= Diferença Mínima Significativa, R² = Coeficiente de determinação, clorofila a =CL a, clorofila b =CL b, carotenóides =CAR e clorofila total =CL t