



TROCAS GASOSAS E CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS EM PLANTAS DE ALGODOEIRO SOB DIFERENTES TEMPERATURAS

Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão¹, Maria Isaura Pereira de Oliveira¹, José Félix de Brito Neto¹,
Valdinei Sofiatti¹, Fabíola Vanessa de França²

EMBRAPA/CNPA¹, CCA/UFPB²

Resumo: A temperatura é um dos fatores do ambiente que mais se correlaciona com a variação nos parâmetros fotossintéticos em plantas de algodoeiro. O experimento foi desenvolvido em câmaras de crescimento (fitotron) localizadas no laboratório de fisiologia vegetal da Embrapa Algodão em Campina Grande-PB. Plantas de algodão da cultivar CNPA 187 8H foram cultivadas em dois ambientes com temperaturas diferentes e controladas (30° C e 35° C), com objetivo de verificar algumas características fisiológicas em plantas de algodoeiro sob diferentes temperaturas. O aumento da temperatura (35 °C) ocasionou decréscimos na taxa fotossintética (11,12 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) comparado a taxa fotossintética (16,05 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) das plantas que foram submetidas à temperatura de 30 °C. As folhas do algodoeiro submetidas às condições de temperatura de 35 °C apresentaram menor sensibilidade ou menor resposta (0,15 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Observou-se que 65% dos estômatos estavam fechados às 14:00 horas

Palavras chave: Parâmetros fisiológicos, *Gossypium hirsutum* L., estresse.

INTRODUÇÃO

A temperatura é um dos principais fatores que determina a distribuição natural das espécies. As plantas superiores estão presentes nos mais variados ambientes, sendo as mesmas submetidas a grandes variações de temperatura durante todo o seu ciclo vegetativo, afetando os estádios de crescimento e desenvolvimento. Dessa mesma forma, a fotossíntese também é afetada pela temperatura, cujas mudanças são reversíveis quando essas variações estão compreendidas entre 10 e 35 °C (BERRY; BJÖRKMAN, 1980).

A resposta fotossintética à temperatura é resultado da interação complexa existente entre o meio ambiente onde a planta se desenvolve e as características inerentes às espécies. Um ponto importante a ser considerado é que a aclimação a altas temperaturas determina o aumento na temperatura limite em que o dano térmico do aparato fotossintético ocorre. A maior parte das mudanças iniciais que ocorrem na fotossíntese, quando as plantas são transferidas de um regime de temperatura mais amena para um de temperatura superior, estão relacionadas com o aumento da condutância estomática (BERRY; BJÖRKMAN, 1980). Segundo os referidos autores, os danos pelas

elevadas temperaturas são decorrentes da inativação das reações nas membranas dos tilacóides, devido a maior fluidez dos lipídios da membrana e das enzimas envolvidas no aparato fotossintético.

De acordo com esses mesmos autores, as mudanças nas propriedades dos lipídios constituintes da membrana cloroplastidial são os principais fatores envolvidos com a aclimação do aparato fotossintético à elevação da temperatura, permitindo o aumento na estabilidade da membrana. Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e, conseqüentemente, ao crescimento e à adaptabilidade a diversos ambientes é o conteúdo de clorofila e carotenóides. Além da concentração total desses pigmentos, a proporção entre eles e entre as clorofilas *a* e *b* muda em função da intensidade luminosa.

O conteúdo de clorofila nas folhas frequentemente é utilizado para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa. Uma planta com alta concentração de clorofila é capaz de atingir taxas fotossintéticas mais altas, pelo seu valor potencial de captação de “quanta” na unidade de tempo. Entretanto, nem sempre esta relação existe, pois a etapa bioquímica da fotossíntese (fase do escuro) pode limitar o processo (PORRA et al., 1989; CHAPPELLE; KIM, 1992). Nesse sentido, objetivou-se com esse trabalho, verificar o efeito do aumento da temperatura sobre a condutância estomática e transpiração em plantas de algodoeiro, bem como o teor de clorofila

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Algodão, localizada em Campina Grande-PB, em câmara de temperatura e luminosidade controlada (Fitotron), com dimensões de 3,10 m de comprimento x 1,90 m de largura x 2,50m de altura, sendo suas paredes de cor branca para melhor aproveitamento da luz. A luz foi fornecida através de lâmpadas fluorescentes (40W) e incandescentes (100W), em uma proporção de 4:1, fornecendo um total de 400,68 W m⁻² e um fotoperíodo de 16 horas de luz. A temperatura foi controlada através de condicionador de ar de 10.000 BTUS e termohigrógrafo, instalados no interior do fitotron. A simulação da ocorrência de alta temperatura do ar foi realizada desde a semeadura das plantas de algodão. Para tanto, a temperatura do ar, no interior do fitotron, foi elevada para 35 °C ± 1°C (Câmara A) e 30 °C ± 1°C (Câmara B) durante o dia e a 18°C ± 1°C à noite. A densidade de fluxo de fóton fotossintético (PPFD) foi monitorada por meio de um sensor HOBBO e os dados armazenados em um “datalogger”, programado para coletas a cada hora.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com oito repetições, e dois tratamentos compostos por dois fatores: plantas com e sem estresse hídrico para a espécie em estudo (algodão) nos dois ambientes (35 °C e 30° C). A unidade experimental foi constituída por vaso plástico de cor uniforme com capacidade para 30 litros. Os vasos foram preenchidos por um material formado por uma mistura de substrato orgânico e areia lavada na proporção de 3:1 (v/v), sendo os mesmos acomodados sobre bancadas de 70 cm de altura (Figura 1). Sementes de algodoeiro CNPA 187 8H obtidas no programa de melhoramento da Embrapa Algodão foram semeadas nos vasos (três sementes por vaso) permanecendo uma planta por vaso após o desbaste aos doze dias após a semeadura. As plantas foram irrigadas periodicamente, com potencial hídrico mantido em capacidade de substrato até o estágio de pré-florescimento. Decorrido este período, as mesmas foram monitoradas em condições de plena irrigação (controle) e sob deficiência hídrica, imposta pela suspensão da irrigação.

As medidas de fotossíntese, condutância estomática e transpiração foram realizadas em folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio da planta, por meio de um analisador de gás infravermelho (IRGA) portátil, de sistema aberto, modelo LICOR 6400 (Figura 1), conforme descrito por Santos Junior et al. (2006). Durante as medidas de trocas gasosas, independente da temperatura utilizada as condições na câmara de fotossíntese (IRGA) foram: DFFF de 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e DPV entre a folha e o ar ($\text{DPV}_{\text{f-ar}}$) entre 1 e 1,5 KPa. Os valores $\text{DPV}_{\text{f-ar}}$ foram controlados visando evitar o seu efeito no mecanismo estomático. Segundo Bernacchi et al. (2001), valores de $\text{DPV}_{\text{f-ar}}$ entre 1 e 1,5 KPa não causam fechamento estomático.

Para visualização dos estômatos, amostras de 6 folhas, de aproximadamente mesma área, foram coletadas de ramos frutíferos da região mediana de cada planta das duas espécies. Uma fina camada de acetato de celulose foi pincelada nas superfícies da folha, deixando-a secar por um período de 10 minutos. Quatro seções da película de acetato formada foram removidas nas regiões apical, mediana e basal, de ambas as faces, e montadas em lâminas de microscópio, realizando-se quatro observações em cada posição.

O conteúdo de clorofila (índice de clorofila Falker) foi estimado de forma não destrutiva, sobre quatro folhas por tratamento, utilizando um medidor de clorofila Clorofilog (Falker – CFL 1030) (Figura 2). Após as leituras com o clorofilômetro, foram extraídos cinco discos foliares com área de 113 mm² e acondicionadas em tubos de ensaio numerados, onde foram adicionados 5 mL de Dimetil sulfóxido (DMSO). Os tubos de ensaio com as folhas imersas foram então incubados em banho-maria a temperatura de 70 °C (HISCOX; ISRAELSTAM, 1979) por um período de 150 minutos. Após o resfriamento do extrato líquido, uma alíquota de 3 mL foi utilizada para leituras em 470, 646 e 663 nm

com o espectrofotômetro. A partir das leituras obtidas no espectrofotômetro determinou-se o conteúdo das clorofilas a, b e total, além do conteúdo de carotenóides utilizando-se as equações propostas por Wellburn (1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar de não ter se observado interação entre os fatores temperatura e estresse hídrico, verificou-se que, para as plantas de algodoeiro, a fotossíntese é um processo sensível a variações na temperatura (Figura 2), pois o aumento da temperatura (35 °C) ocasionou decréscimos na taxa fotossintética (11,12 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) comparado a taxa fotossintética (16,05 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) das plantas que foram submetida a temperatura de 30 °C. A temperatura tem sido frequentemente apontada, como influenciadora nas trocas gasosas das plantas, afetando a fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2004). A capacidade fotossintética diminui em proporção ao tamanho e severidade do dano devido às altas temperaturas. Dependendo do tipo de dano, podendo haver recuperação da capacidade fotossintética em poucas horas e dias ou morte do tecido. Quando os tecidos são submetidos a temperaturas próximas à temperatura limite, ocorre perda da atividade da enzima Rubisco e as funções das membranas fotossintéticas são alteradas. Já em temperaturas superiores à temperatura limite, ocorre a perda de integridade celular e o estresse torna-se plástico (LARCHER, 2000).

Embora não tenha detectado diferença estatística para condutância estomática, as folhas do algodoeiro submetidas às condições de temperatura de 35 °C apresentam menor sensibilidade ou menor resposta (0,15 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) (Figura 2). Deste modo, a queda na condutância estomática parece ser a causa mais provável da redução da fotossíntese. De maneira geral, a perda de água através da transpiração está relacionada com a fotossíntese, pois ambos os processos utilizam o mesmo caminho de difusão desde o mesófilo da folha até o ambiente, através do estômato. Assim, conforme se eleva a fotossíntese, também aumenta a transpiração (Figura 2), como pode ser observado nas plantas de algodoeiro no presente estudo, onde as plantas que apresentaram alto potencial fotossintético também alcançaram as maiores taxas da transpiração. Quando os dois parâmetros acima não estão correlacionados, é possível interpretar a economia de água da planta no processo de acúmulo de carboidratos. Valores elevados (3,055) do quociente fotossíntese/transpiração (P/T) indicam a capacidade da planta assimilar gás carbônico com baixo potencial de transpiração. No entanto, no presente estudo, não foi se observou diferença estatística.

A transpiração é um fenômeno bastante influenciado pelas condições do ambiente, principalmente a temperatura e o déficit de saturação do ar. Sob idênticas condições, diferenças neste parâmetro podem indicar um mecanismo estomático mais ou menos eficiente, implicando na

economicidade de água pela planta. Nas plantas submetidas à condições de temperatura de 35 °C, um comportamento diferenciado com relação aos estômatos da folha do algodoeiro. Observou-se que 65% dos estômatos estavam fechados às 14:00 horas (Figura 3). O fechamento estomático é um importante mecanismo de defesa que as plantas apresentam contra perdas exageradas de água e eventual morte por estresse hídrico.

Segundo Deinum et al. (1968), aumentos na temperatura podem reduzir o teor de proteína das plantas. No entanto, este efeito de temperaturas altas depende do grupo fotossintético e da intensidade e duração deste estresse. Os danos primários causados por temperaturas supraótimas afetam proteínas específicas da membrana dos tilacóides, reduzindo a atividade do PS II, antes do fechamento dos estômatos, da desnaturação de enzimas do estroma ou da alteração da integridade da célula (AL-KATIB; PAULSEN, 1989). A leitura realizada com clorofilômetro (Figura 15) estimou, com boa precisão, o teor relativo de clorofila na folha do algodoeiro e da mamoneira, além de apresentar as vantagens de maior rapidez, menor custo e de não implicar em destruição de folhas.

As quantidades de clorofila total e de clorofilas *a* e *b* extraíveis da folha do algodoeiro, submetida a condições de cultivo de temperatura de 30 °C e 35 °C, estão apresentadas na Tabela 1. As determinações quantitativas de clorofila por unidade de peso fresco demonstram que o menor nível de temperatura (30 °C) provocou um aumento na concentração de clorofila *a*, *b* e total, no algodoeiro. Observou-se que, quanto menor a radiação incidente, mais alto foi o teor de clorofila nas folhas do algodoeiro (Tabela 1). De modo geral, o aumento da concentração de clorofila, com a redução da luminosidade, aumenta a capacidade de absorção de luz de comprimento de onda diferentes dos picos da fotossíntese, tal como a luz na faixa verde, presente em grande quantidade no interior das florestas. Os carotenóides aumentaram sua concentração, com a redução da intensidade luminosa (Tabela 1).

CONCLUSÕES

A taxa fotossintética decresceu ($11,12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) com o aumento da temperatura (35 °C) quando comparada à taxa fotossintética ($16,05 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) das plantas submetidas a temperatura de 30 °C. A maior concentração de clorofila *a*, *b* e total foi verificada nas plantas sob temperatura de 30 °C. As folhas do algodoeiro submetida às condições de temperatura de 35 °C apresentaram menor sensibilidade ou menor resposta ($0,15 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-KHATIB, K.; PAUSEN, G. M. Enhance of thermal injury to photosynthesis in wheat plants and thylakoid by high light intensity. **Plant Physiology**, n. 90, p. 1041-1048, 1989.

ANGUS, J. F.; HASEGWA, S.; HISAO, T. C.; LIBOOM, S. P.; ZANDSTRA, H. G. The water balance of post-monsoonal dryland crops. **Journal of Agricultural Science**, n. 101, p. 699-710, 1983.

BERRY, J.; BJÖRKMAN, O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 31, p. 491-543, 1980.

BERNACCHI, C. J.; SINGSAAS, E. L.; PIMENTEL, C.; PORTIS, A. R.; LONG, S. P. Improved temperature response functions for models of Rubisco-limited photosynthesis. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, p. 253-259, 2001.

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): the algorithm for a remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. **Remote Sensing of Environment**, New York, v. 39, p. 239-247, 1992.

DEINUM, B.; Es, A. J. H. van; SOEST, P. J. van. Climate, nitrogen and grass. II. The influence of light intensity, temperature and nitrogen on in vivo digestibility of grass and the prediction of these effects from some chemical procedures. **Netherland Journal of Agricultural Science**, n. 16, p. 217-223, 1968.

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.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Editora Rima, 2000. 531 p.

PORRA, R. J.; THOMPSON, W. A.; KRIDEMANN, P. E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochimic et Biophysica Acta**, v. 975, p. 384-394, 1989.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

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.

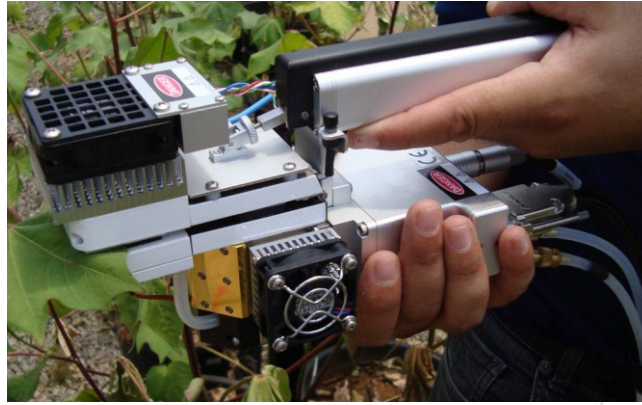


Figura 1. Câmara de fotossíntese do IRGA (Licor, Li-6400, EUA) usada para medidas de trocas gasosas.

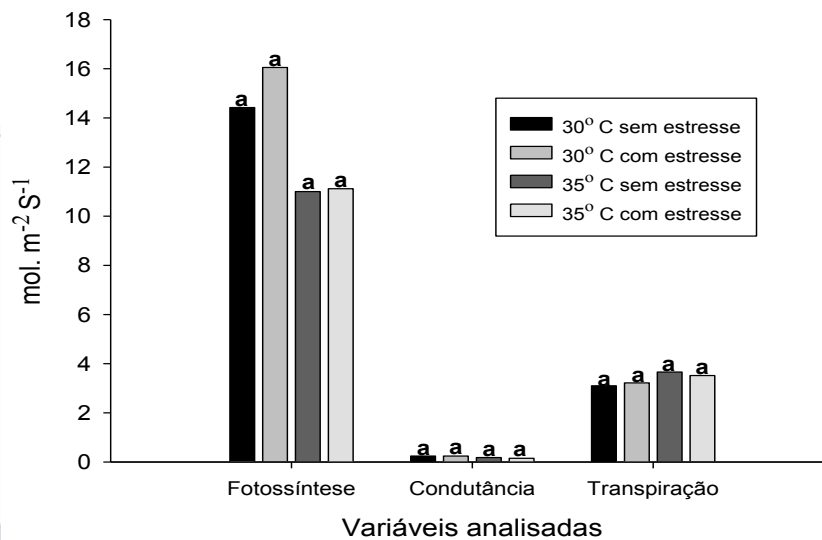


Figura 2. Efeito da temperatura na taxa de fotossíntese, condutância estomática e transpiração foliar ($\text{mol. m}^{-2} \text{s}^{-1}$) do algodoeiro submetidas à regime de temperatura a 35 °C e 30 °C. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% do teste de Tukey.

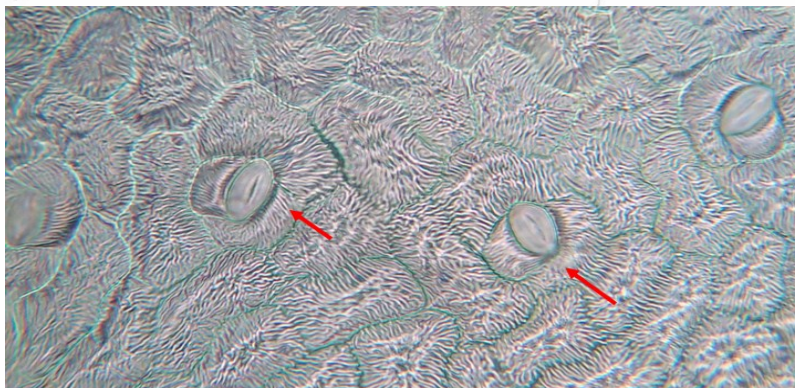


Figura 3. Estômatos da folha adaxial (mediana) de planta de algodoeiro submetido a condições de temperatura a 35 °C. As setas vermelhas, indicam os estômatos fechados.

Tabela 1. Teor de clorofila a, b, total (a+b), relação clorofila a/b e de carotenóides (concentração em mol.m⁻²) do algodoeiro submetida a condições de cultivo de temperatura de 35 °C e 30 °C, respectivamente.

	Clorofila a	Clorofila b	(a+b)	a/b	Carotenóide
30 °C	304,65 a	65,90 a	9,34 a	371,21 a	182,13

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% do teste de Tukey *- altamente significativo (P< 0,05).