

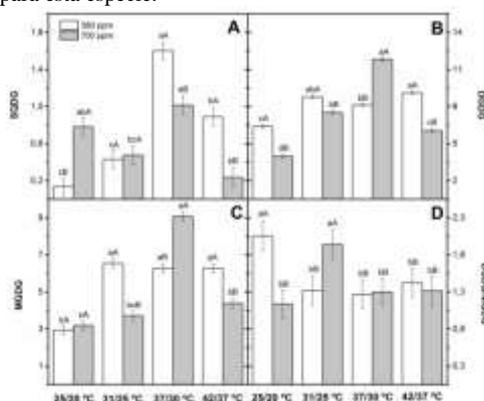
## AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> PERMITE *C. ARABICA* REMODELAR A COMPOSIÇÃO LIPÍDICA DAS MEMBRANAS DOS CLOROPLASTOS PARA ACLIMATAR ÀS ALTAS TEMPERATURAS.

W. P. Rodrigues<sup>1,2</sup>; M. Q. Martins<sup>1,3</sup>; A. S. Fortunato<sup>1</sup>; L. D. Martins<sup>1,3</sup>; I. P. Pais<sup>4,5</sup>; F. Colwel<sup>1</sup>; A. E. Leitão<sup>1,5</sup>; A. P. Rodrigues<sup>1</sup>; E. Campostrini<sup>2</sup>; F. L. Partelli<sup>6</sup>; M. A. Tomaz<sup>7</sup>; Ana I. Ribeiro-Barros<sup>1,5</sup>; P. Scotti-Campos<sup>4,5</sup>; R. Ghini<sup>7</sup>; F. C. Lidon<sup>5</sup>; F. M. DaMatta<sup>8</sup>; J. C. Ramalho<sup>1,5,\*</sup> Grupo Interações Planta-Ambiente & Biodiversidade, (LEAF), (DRAT), (ISA), Universidade de Lisboa (ULisboa), Oeiras, Portugal. <sup>2</sup>Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Univ. Estadual de Norte Fluminense, Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. <sup>3</sup>Centro Ciências Agrárias, Univ. Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil. <sup>4</sup>UBRG, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Oeiras, Portugal. <sup>5</sup>GeoBioTec, (FCT/UNL), Caparica, Portugal. <sup>6</sup>Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Univ. Federal do Espírito Santo, ES, Brasil. <sup>7</sup>EmbrapaEnvironment, Jaguariúna, SP, Brasil. <sup>8</sup>Dept. Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil. \*Autor correspondente: [cochichor@mail.telepac.pt](mailto:cochichor@mail.telepac.pt); [cochichor@isa.ulisboa.pt](mailto:cochichor@isa.ulisboa.pt).

Entre as mudanças climáticas globais previstas, o aumento da temperatura ambiente é considerado uma das mais prejudiciais para o metabolismo das plantas. Esperam-se aumentos na temperatura do ar entre 0,3-1,7 °C (melhor cenário) até 2,6-4,8 °C (pior cenário) até 2100, que serão acompanhados de um aumento na concentração de CO<sub>2</sub> ([CO<sub>2</sub>]) para valores entre 421 e 936 µL CO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (ppm) (IPCC, 2014). É bem conhecido que as temperaturas supra-ótimas podem causar perturbações significativas no metabolismo, crescimento das plantas e processos reprodutivos, uma vez que as reações químicas são aceleradas, as ligações químicas enfraquecidas e a matriz lipídica das membranas tornam-se mais fluida. Além disso, extremos de temperatura podem causar desnaturação e agregação de proteínas, bem como a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e a inibição de processos de transcrição e de tradução (Larcher, 1995; Krishna, 2004). As membranas dos tilacóides são particularmente sensíveis às temperaturas elevadas, pelo que danos na fase fotoquímica da fotossíntese estão entre os primeiros indicadores de sensibilidade a tal stress. As membranas dos tilacóides consistem principalmente de galactolípido [monogalactosildiacilglicerol (MGDG) e digalactosildiacilglicerol (DGDG)], que representam 70-80% da matriz lipídica dos tilacóides. Fosfolípidos e sulfoquinovosildiacilglicerol (SQDG) completam as classes presentes (Joyard et al., 1980; Nishihara et al., 1980). Alterações na composição dos ácidos gordos das membranas plasmáticas estão entre as estratégias usadas pelas plantas para lidar com o stress térmico (Campos et al., 2013; Chen et al., 2006; Partelli et al., 2011). Em génotipos de *C. arabica* temperaturas até 42 °C foi recentemente observado que o aumento na [CO<sub>2</sub>] melhora o funcionamento do aparato fotossintético e promove o reforço dos sistemas de defesa, envolvendo, por exemplo, compostos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, proteínas de choque térmico e pigmentos de proteção (Rodrigues et al., 2016; Martins et al., 2016). No entanto, permanece por esclarecer se o aumento da [CO<sub>2</sub>] permite uma melhor dinâmica e remodelação lipídica das membranas dos cloroplastos que permita manter uma fluidez adequada às suas funções sob altas temperaturas. Assim, no presente trabalho foram estudadas as classes de lípidos ao nível da membrana dos cloroplastos em plantas de *C. arabica* cv. IPR 108 com 1,5 anos de idade, cultivadas em vasos de 28 L, mantidas em câmaras de crescimento (FitoclimaEHHF 10000, ARALAB, Portugal) durante 1 ano em condições ambientais controladas de temperatura (25/20 °C, dia/noite), irradiância (ca. 650-800 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), humidade relativa (75%), fotoperíodo (12 h) e 380 ou 700 ppm de [CO<sub>2</sub>], sem restrições de água, nutrientes ou espaço para desenvolvimento radicular. Após esse período, a temperatura foi gradualmente aumentada de 25/20 °C até 42/34 °C, a uma taxa de 0,5 °C dia<sup>-1</sup>, com uma estabilização de 7 dias nas temperaturas 31/25, 37/30 e 42/34 °C para efectuar as análises em folhas recém-maduras. As classes de lípidos foram separadas por meio de cromatografia em camada fina utilizando placas de sílica gel G60 (Merck) e os seus ácidos gordos analisados por cromatografia gas-líquido (GC-FID, Varian, CP-3380, USA), como descrito e adaptado para plantas de café (Campos et al., 2003; Partelliet al., 2011).

### Resultados e discussão

A 25/20 °C, as plantas cultivadas a 700ppm apresentaram um aumento de cerca de 480% em SQDG e uma redução de cerca de 41% em DGDG em relação às plantas cultivadas a 380 ppm mas sem diferenças significativas em MGDG para as duas concentrações de CO<sub>2</sub> (Fig. 1). De uma maneira geral, o aumento da temperatura resultou num aumento da quantidade de lípidos das classes estudadas em relação às plantas em 25/20 °C, principalmente a 37/30 °C. Destacam-se os aumentos de 1085% em SQDG nas plantas de 380 ppm e 226 e 178% em DGDG e MGDG, respectivamente, nas plantas de 700 ppm (Fig. 1B, C). Aumentosem DGDG, do rácio DGDG/MGDG e do nível de saturação de DGDG têm sido relacionado com tolerância e aclimação ao aumento da temperatura em plantas cultivadas (Chenet et al., 2006; Spicheret al., 2016). O aumento do rácio DGDG/MGDG pode ser atribuído ao aumento da conversão de MGDG em DGDG (Chenet et al., 2006). Um aumento desta razão ocorreu pontualmente a 31/25 °C nas plantas crescidas a 700 ppm, enquanto que nas plantas a 380 ppm ocorreu um decréscimo a 31/25 °C que se manteve até aos 42/34°C (Figura 1D). De facto, as temperaturas elevadas provocaram aumentos quer do DGDG quer do MGDG em ambas as concentrações de CO<sub>2</sub>, mas superiores em MGDG a 37/30 °C. Para além disso, o MGDG e SQDG podem influenciar a atividade das ATPases, sendo que o último pode proteger a unidade CF<sub>1</sub> contra a inativação térmica (Webb e Green, 1991). Assim, o aumento em SQDG, principalmente nas plantas de 380 ppm a 37/30 °C e 42/34°C pode assegurar a síntese de ATP a ser utilizado para reparações e/ou síntese de moléculas de proteção, tais como compostos antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos. Além disso, a maior saturação de ácidos gordos em MGDG e DGDG (dados não mostrados) poderá aliviar os stresses causados por altas temperaturas, aumentando a estabilidade das membranas e assegurando o funcionamento do PSII (Yan et al., 2008). Desta forma, o efeito mitigador do aumento da [CO<sub>2</sub>] na maquinaria fotossintética do cafeeiro sob altas temperaturas (Rodrigues et al., 2016) poderá estar também ligado à dinâmica lipídica, quer com o aumento de saturação quer com o aumento das classes de galactolípido a 37/30 °C (por comparação a 380 ppm). Contudo, poderá não ser determinante já que se observa uma inversão dessa tendência a 42/34 °C. Contudo, independente da [CO<sub>2</sub>], o aumento da temperatura resultou num aumento das classes de lípidos estudadas, em particular a 37/30 °C. Tal poderá contribuir para manter a funcionalidade das membranas tilacoidais nesta temperatura (Rodrigues et al., 2016), bem acima das temperaturas consideradas adequadas para esta espécie.



**Figura 1.** Concentrações (mg g<sup>-1</sup> peso seco) de sulfoquinovosildiacilglicerol (SQDG), digalactosildiacilglicerol (DGDG), monogalactosildiacilglicerol (MGDG) e o rácio DGDG/MGDG em plantas de *Coffea arabica* cv. IPR 108 cultivadas a 380 ou 700 ppm de CO<sub>2</sub> e submetidas a um aumento gradual de temperatura (25/20 °C, 31/25 °C, 37/30 °C e 42/34 °C). As barras representam a média ± EP (n=4), e as letras expressam diferenças significativas entre temperaturas para a mesma concentração de CO<sub>2</sub> (a, b, c, d) ou entre tratamentos de CO<sub>2</sub> para cada temperatura, (A,B).