

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

**ADIBE LUIZ ABDALLA FILHO**

**Quantificação e caracterização da biomassa produzida em condições de  
simulação de aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico  
no sistema agropastoril**

**Piracicaba**

**2018**



**ADIBE LUIZ ABDALLA FILHO**

**Quantificação e caracterização da biomassa produzida em condições de  
simulação de aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico  
no sistema agropastoril**

**Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011**

**Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear  
na Agricultura da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor em Ciências**

**Área de Concentração: Química na Agricultura e  
no Ambiente**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marisa de Cássia  
Piccolo**

**Piracicaba**

**2018**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

**Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP**

Abdalla Filho, Adibe Luiz

Quantificação e caracterização da biomassa produzida em condições de simulação de aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico no sistema agropastoril / Adibe Luiz Abdalla Filho; orientadora Marisa de Cássia Piccolo. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2018.

93 p. : il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.

1. Análise de alimentos para animal 2. Dióxido de carbono 3. Fotossíntese 4. Gramíneas forrageiras 5. Mudança climática 6. Produção animal 7. Sustentabilidade I. Título

CDU 581.583 : 636.084.22

**Elaborada por:**

Marilia Ribeiro Garcia Henyei  
CRB-8/3631

Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

Dedico este trabalho aos meus pais por me proporcionarem educação e formação ética dos princípios e valores, por sempre me apoiarem e por todo o amor!



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, saúde e oportunidades que tem me proporcionado.

Agradeço aos meus pais, Adibe e Cláudia, aos meus irmãos Kalil e Samir, por todo o apoio e suporte para a realização deste trabalho, pelas conversas, risadas, desabafos e incentivos. Sei que sempre estarão ao meu lado para o que for preciso. Sempre estarei com vocês também! Agradeço a toda minha família, avó, tios, primos e amigos que sempre estão torcendo por mim.

*In memoriam*, agradeço aos meus tão especiais avós Serra, Cida e Nêgo. Sei que estão sempre olhando por mim, me iluminando e protegendo! Agradeço à Lana (*in memoriam*), Sofia, Laika e Marla, pela amizade sincera e por nossas constantes conversas.

Agradeço à Prof<sup>ª</sup>. Marisa de Cássia Piccolo pela oportunidade, paciência e ensinamentos. Agradeço à Prof<sup>ª</sup>. Raquel Ghini (*in memoriam*) e a equipe da Embrapa Meio Ambiente pela oportunidade e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Também por todo o apoio e ensinamentos, agradeço aos Professores Luiz Antonio Martinelli, Plínio Barbosa de Camargo, Marcelo Zacharias Moreira, Helder Louvandini, Adibe Luiz Abdalla, Paulo José Duarte-Neto e Hudson Wallace Pereira de Carvalho e à equipe de apoio do Laboratório de Nutrição Animal (LANA), Maria Regina S. R. Peçanha, Lécio Aparecido Castilho e Karinna Scotton; do Laboratório de Ecologia Isotópica (LEI), Fabiana Cristina Fracassi Adorno, Edmar Antonio Mazzi, Maria Antonia Zambetta Perez, Geraldo de Arruda Junior; do Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN), Eduardo de Almeida e do Laboratório de Ciclagem de Nutrientes (LCN), Guilherme Furlan.

Agradeço aos amigos do LCN (Lucas, Wanderlei, Cristiane, George, Marina, Juliana, Rodrigo, Silvia), LEI (Leonardo, Isadora, Taciana, Gabriela, Amin, Fernanda, Janaina, Siglea, Karina, Maristela, Osmarina, Robson, Rafaela, Luciana, Thais, Juliana, Moacir, Melissa, Luiza e Luis), LANA (Paulo, Gabriel, Dinesh, Egon, Tairon, Juliano, Andressa, Ana Cláudia, Ronaldo, Alessandra, Alline, Leticia, Rafael, Patrícia, Willian, Thiago, Felipe, Camila, Vagner, Beatriz, Paula, Murilo) e LIN (Geovani, Eduardo, Marcos, Susi, Joyce, Nádia, Tatiana), pela constante ajuda, atenção e amizade.

Agradeço à bibliotecária Marília pela ajuda na estratégia da revisão sistemática e formatação deste documento, à Comissão de Pós-Graduação pela oportunidade e à equipe da Secretaria de Pós-Graduação, Gilson, Cleide, Marcos, Magali e Liene, pelo apoio, dedicação, auxílio e atenção dispensada, sempre me atendendo prontamente.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão da Bolsa de Doutorado, Processo nº 141762/2015-2.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pela concessão da Bolsa de Doutorado, processo nº 2015/14699-1.

Agradeço ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) e à Universidade de São Paulo (USP) pela oportunidade de participar do programa de pós-graduação.

Muito obrigado!

## RESUMO

ABDALLA FILHO, A. L. **Quantificação e caracterização da biomassa produzida em condições de simulação de aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico no sistema agropastoril**. 2018. 93 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

O aumento da concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) atmosférico é um dos aspectos causadores das mudanças climáticas, mas poucos estudos avaliam seus efeitos nas gramíneas tropicais utilizadas nas pastagens brasileiras, principal fonte de alimento empregada na atividade pecuária do país. Este trabalho teve o objetivo de avaliar os efeitos do incremento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na produção e qualidade nutricional de gramíneas tropicais. Uma revisão sistemática com meta-análise foi realizada a fim de analisar dados disponíveis na literatura científica sobre o tópico “elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e seus efeitos em plantas de ciclo C<sub>4</sub>”, e demonstraram a importância de serem realizados mais estudos experimentais para um melhor entendimento das questões envolvendo mudanças climáticas e seus efeitos na agropecuária. O experimento a campo foi desenvolvido em uma instalação FACE (Free Air Carbon-dioxide Enrichment), sendo avaliados os parâmetros produção de biomassa, características morfológicas, composição química e degradabilidade *in vitro* de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e a produção de biomassa, características morfológicas, frações de fibra, composição elementar e isotópica de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk. Em períodos distintos, as gramíneas foram semeadas em cada um dos doze anéis do FACE, onde seis anéis foram mantidos em condição ambiente (Controle; concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico  $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ;  $\delta^{13}\text{C-CO}_2 = -8 \text{‰}$ ) e outros seis anéis foram enriquecidos com CO<sub>2</sub> puro para se atingir a concentração alvo de  $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  (CO<sub>2</sub> Elevado;  $\delta^{13}\text{C-CO}_2 = -10,6 \text{‰}$ ). Antes do início do experimento, amostras de solo (0-0,10 m) foram coletadas para análises da densidade do solo e das concentrações, estoques e teores isotópicos de carbono (C) e nitrogênio (N), que não apresentaram diferenças entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). A produção de biomassa, assim como as características morfológicas, composição química e degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica de *B. brizantha* não foram diferentes entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). Também não foram verificados efeitos da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na produção de biomassa, características morfológicas e frações da fibra de *B. decumbens* ( $P > 0,05$ ). Entretanto, menor concentração de cálcio (Ca) foi determinada nas amostras de folha e material senescente de *B. decumbens* mantida sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico ( $P < 0,05$ ). Menor relação C:N foi detectada na fração total de *B. decumbens* do tratamento CO<sub>2</sub> Elevado ( $P < 0,05$ ). A composição isotópica desta forragem também foi modificada pela elevação de CO<sub>2</sub> atmosférico, apresentando menores valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e maiores valores de  $\delta^{15}\text{N}$  quando comparados aos do Controle ( $P < 0,05$ ). Os resultados indicam que as gramíneas avaliadas são menos responsivas à elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico que plantas de ciclo C<sub>3</sub>, provavelmente por diferenças nos mecanismos fisiológicos envolvidos nos processos de fotossíntese que,

em plantas do tipo C<sub>4</sub> já se encontram próximos da saturação nas atuais concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico. Entretanto, sob atmosfera de concentração elevada de CO<sub>2</sub>, *B. decumbens* apresentou menor teor de Ca, o que em um cenário previsível de mudanças climáticas, pode gerar consequências para os sistemas de produção pecuária baseados em pastagens.

**Palavras-chave:** *Brachiaria brizantha*. *Brachiaria decumbens*. Mudanças climáticas. FACE. Pecuária.

## ABSTRACT

ABDALLA FILHO, A. L. **Biomass quantification and characteristics produced under increased atmospheric CO<sub>2</sub> simulated conditions in agricultural system.** 2018. 93 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

Increased atmospheric carbon-dioxide (CO<sub>2</sub>) is a consequence of recent anthropogenic environmental change and few studies have evaluated its effect on tropical grasses used in Brazilian pastures, main feed source of major part of livestock. The present study aimed to evaluate the effects of increased CO<sub>2</sub> atmospheric concentration on production and nutritive value of tropical grasses. A systematic review with meta-analysis was performed in order to systematize and analyze published data on the topic "elevated concentration of atmospheric CO<sub>2</sub> and its effects on plants with type C<sub>4</sub> photosynthetic cycle" and demonstrated the importance of more experimental studies for a better understanding of the issues surrounding climate change and its effects on agriculture. Using a FACE (Free-Air Carbon dioxide Enrichment) facility, forage production, morphological characteristics, chemical composition and *in vitro* organic matter degradability of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (palisade grass), and biomass production, morphologic characteristics, fiber fractions, elemental and isotopes composition of *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk (signal grass) were evaluated. In different periods, the grasses were sown in each of the twelve rings of the FACE facility where six rings were kept at ambient condition (current atmospheric CO<sub>2</sub> concentration; Control  $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -10.6 \text{ ‰}$ ) and six other rings were enriched with pure CO<sub>2</sub> in order to achieve the target concentration of  $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  (Elevated CO<sub>2</sub>;  $\delta^{13}\text{C} = -10.6 \text{ ‰}$ ). Before the beginning of the experiment, soil samples were collected to determine the concentrations, stocks and isotopic contents of carbon (C) and nitrogen (N), which showed no difference between treatments ( $P > 0.05$ ). Biomass production, as well as morphological characteristics, chemical composition and *in vitro* organic matter degradability of *B. brizantha* were not different between Control and Elevated CO<sub>2</sub> treatments ( $P > 0.05$ ). In addition, no effects of Elevated CO<sub>2</sub> were observed in biomass production, morphological characteristics and fiber fractions of *B. decumbens* ( $P > 0.05$ ). However, lower values of calcium (Ca) were observed in the leaves and senescent material of *B. decumbens* on the Elevated CO<sub>2</sub> treatment ( $P < 0.05$ ). Lower C:N ratio was observed in the total fraction of *B. decumbens* under Elevated CO<sub>2</sub> treatment ( $P < 0.05$ ). The isotopic compositions of *B. decumbens* were also affected by the increased CO<sub>2</sub> atmosphere, presenting lower  $\delta^{13}\text{C}$  and higher  $\delta^{15}\text{N}$  values when compared to Control ( $P < 0.05$ ). These results indicate that the evaluated grasses (C<sub>4</sub>) are less responsive than C<sub>3</sub> plants to CO<sub>2</sub> enrichment, probably due to the physiological mechanisms during photosynthesis leading to an increased CO<sub>2</sub> concentration in the loci of photosynthesis of C<sub>4</sub> plants. However, under elevated CO<sub>2</sub> atmospheric concentration, *B. decumbens* showed lower Ca content, which can affect the livestock production in a predictable scenario of climate change.

**Keywords:** *Brachiaria brizantha*. *Brachiaria decumbens*. Climate change. FACE. Livestock.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1** – Número de referências recuperadas de acordo com o tipo de artigo (Revisão Bibliográfica ou Estudo Original) ..... 22
- Figura 2.2** – Número de referências recuperadas de acordo com o tipo de ciclo fotossintético (C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>) das plantas avaliadas ..... 23
- Figura 2.3** – Número de referências recuperadas avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub>, de acordo com o país de origem..... 24
- Figura 2.4** – Número de referências recuperadas avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub>, de acordo com as instalações utilizadas para a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> ..... 25
- Figura 2.5** – Concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico (média ± desvio padrão) utilizadas como tratamento Controle e CO<sub>2</sub> Elevado das referências recuperadas avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub>..... 25
- Figura 2.6** – Número de referências recuperadas de acordo com a espécie avaliada..... 26
- Figura 2.7** – Número de referências recuperadas de acordo com as variáveis avaliadas ..... 27
- Figura 2.8** – “Forest plot” com os resultados da meta-análise que avaliou o efeito da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (% de alteração) na produção de matéria seca (MS) de plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (Resultado geral = 0,4068653; Intervalo de confiança 95% = 0,353213; p valor (teste z) = 0,0168; índice de heterogeneidade (I<sup>2</sup>) = 48,8%) ..... 35
- Figura 2.9** – “Forest plot” com os resultados da meta-análise que avaliou o efeito da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (% de alteração) na área foliar de plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (Resultado geral = 0,4349446; Intervalo de confiança 95% = 0,4605227; p valor (teste z) = 0,5554; índice de heterogeneidade (I<sup>2</sup>) = 74,1%)..... 35
- Figura 3.1** – Delineamento experimental: blocos casualizados (6 blocos) com dois tratamentos (seis parcelas com concentração de CO<sub>2</sub> ambiente e seis parcelas com concentração de CO<sub>2</sub> elevada). Adaptado de Google Maps ..... 46
- Figura 3.2** – Semeadura de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e demarcações das áreas de coleta de amostra ..... 49
- Figura 3.3** – Área de coleta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu antes e após o corte de uniformização ..... 50

- Figura 3.4** – Precipitação acumulada e temperatura média mensal durante os setenta dias entre a semeadura e o corte de uniformização ..... 51
- Figura 3.5** – Precipitação acumulada e temperatura média mensal durante os meses de colheita de biomassa ..... 52
- Figura 3.6** – Produção de biomassa (massa fresca) e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas ..... 56
- Figura 3.7** – Produção de biomassa (massa seca) e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas..... 57
- Figura 3.8** – Altura média e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas ..... 58
- Figura 3.9** – Teor de C total e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas ..... 59
- Figura 3.10** – Teor de N total e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas ..... 60
- Figura 3.11** – Relação C:N e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas..... 61
- Figura 3.12** – Teor de S total e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas..... 62
- Figura 4.1** – Precipitação mensal acumulada (mm; barras) e temperatura média mensal (°C; círculos) de janeiro de 2012 a julho de 2014 ..... 77
- Figura 4.2** – Concentração média (mg kg<sup>-1</sup>) de Ca, Fe, Mn, P e S na fração total de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk cultivada sob contrastantes atmosferas de CO<sub>2</sub>. Controle – condição ambiente (≈390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> Elevado – atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (≈550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>). Barras são erro padrão das médias (n=12)..... 82
- Figura 4.3** – Concentração média (mg kg<sup>-1</sup>) de Ca, Fe, Mn, P e S na porção folha de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk cultivada sob contrastantes atmosferas de CO<sub>2</sub>. Controle – condição ambiente (≈390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> Elevado – atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (≈550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>). Barras são erro padrão das médias (n=12)..... 83
- Figura 4.4** – Concentração média (mg kg<sup>-1</sup>) de Ca, Fe, Mn, P e S na porção colmo de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk cultivada sob contrastantes atmosferas de CO<sub>2</sub>. Controle – condição ambiente (≈390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> Elevado – atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (≈550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>). Barras são erro padrão das médias (n=12)..... 84
- Figura 4.5** – Concentração média (mg kg<sup>-1</sup>) de Ca, Fe, Mn, P e S na porção material senescente de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk cultivada sob contrastantes atmosferas de CO<sub>2</sub>. Controle – condição ambiente (≈390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> Elevado – atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (≈550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>). Barras são erro padrão das médias (n=12). .. 85

## LISTA DE TABELAS

|                     |  |    |
|---------------------|--|----|
| <b>Tabela 2.1</b> – | Lista de referências recuperadas avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético do tipo C <sub>4</sub> .....   | 23 |
| <b>Tabela 2.2</b> – | Referências que analisaram os resultados da variável produção de matéria seca (MS) .....   | 28 |
| <b>Tabela 2.3</b> – | Referências bibliográficas de artigos que avaliaram os dados de área foliar .....  | 28 |
| <b>Tabela 2.4</b> – | Tabulação das médias, desvios-padrões e <i>n</i> amostrais referentes a produção de matéria seca dos 8 artigos científicos selecionados.....   | 29 |
| <b>Tabela 2.5</b> – | Tabulação das médias, desvios-padrões e <i>n</i> amostrais referentes a área foliar dos 5 artigos científicos selecionados .....   | 29 |
| <b>Tabela 2.6</b> – | Tamanho do efeito, variância, peso e relação peso:tamanho das referências selecionadas para avaliar o efeito da concentração de CO <sub>2</sub> atmosférico na produção de matéria seca .....  | 34 |
| <b>Tabela 2.7</b> – | Tamanho do efeito, variância, peso e relação peso:tamanho das referências selecionadas para avaliar o efeito da concentração de CO <sub>2</sub> atmosférico na área foliar .....   | 34 |
| <b>Tabela 3.1</b> – | Propriedades químicas do solo (camadas 0-0,10 e 0,10-0,20 m) em concentrações contrastantes de CO <sub>2</sub> atmosférico.....  | 47 |
| <b>Tabela 3.2</b> – | Concentrações de C e N total, relação C:N, estoques de C e N e teores isotópicos nas amostras de solo (10 cm de profundidade) dos diferentes tratamentos, antes da semadura da forragem .....  | 55 |
| <b>Tabela 3.3</b> – | Características morfológicas, composição química, razões isotópicas, degradabilidade e produção de gases <i>in vitro</i> de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em concentrações contrastantes de CO <sub>2</sub> atmosférico .....  | 63 |
| <b>Tabela 3.4</b> – | Coeficientes de Correlação de Pearson entre concentrações de CO <sub>2</sub> , produção de biomassa seca (MS), altura, relação folha:colmo, teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), proteína bruta (PB), produção total de gases (PG), metano (CH <sub>4</sub> ) e degradabilidade da matéria orgânica <i>in vitro</i> (DVMO), fator de partição (FP), teores de carbono (C), nitrogênio (N) e enxofre (S) ..... | 65 |

|                     |   |    |
|---------------------|---|----|
| <b>Tabela 4.1</b> – | Produção de biomassa, altura média, proporção de folha, colmo, material senescente e inflorescência de <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk cultivada sob contrastantes concentrações de CO <sub>2</sub> atmosférico..... | 79 |
| <b>Tabela 4.2</b> – | Teores de matéria orgânica e frações de fibra de <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk cultivada sob contrastantes concentrações de CO <sub>2</sub> atmosférico ....   | 80 |
| <b>Tabela 4.3</b> – | Análise multielementar e composição isotópica de <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk cultivada sob contrastantes concentrações de CO <sub>2</sub> atmosférico .....  | 81 |

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....  | 17 |
| 1.1 Objetivo Geral .....   | 18 |
| 1.2 Objetivos Específicos .....  | 18 |
| 1.3 Hipótese.....  | 19 |
| <br>   |    |
| 2 REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE .....   | 21 |
| 2.1 Revisão Sistemática – Estratégia de busca.....   | 22 |
| 2.2 Revisão Sistemática – Referências recuperadas.....   | 22 |
| 2.3 Meta-Análise .....   | 29 |
| 2.3.1 Material e Métodos.....  | 29 |
| 2.4 Resultados.....  | 33 |
| 2.5 Discussão.....   | 36 |
| 2.6 Conclusões.....  | 38 |
| REFERÊNCIAS .....  | 38 |
| <br>   |    |
| 3 ELEVADA CONCENTRAÇÃO DE CO <sub>2</sub> NÃO AFETA PRODUÇÃO DE BIOMASSA E O VALOR NUTRITIVO DE UMA GRAMÍNEA TROPICAL EM CURTO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO..... | 43 |
| 3.1 Introdução.....  | 44 |
| 3.2 Material e Métodos.....  | 45 |
| 3.2.1 Local e tratamentos experimentais .....  | 45 |
| 3.2.2 Amostragem e análises de solo.....   | 48 |

|  |    |
|--|----|
| 3.2.3 Estabelecimento da forragem.....   | 49 |
| 3.2.4 Colheitas de forragem.....   | 51 |
| 3.2.5 Composição química da forragem.....  | 53 |
| 3.2.6 Degradabilidade da matéria orgânica e produção de gases <i>in vitro</i> .....  | 53 |
| 3.2.7 Análise estatística.....   | 55 |
| 3.3 Resultados.....  | 55 |
| 3.4 Discussão.....   | 66 |
| 3.5 Conclusões.....  | 68 |
| Referências.....   | 68 |
| <br>   |    |
| 4 FRAÇÕES DE FIBRA, COMPOSIÇÃO MULTIELEMENTAR E ISOTÓPICA DE UMA<br>GRAMÍNEA TROPICAL EM CONDIÇÃO DE ELEVADA CONCENTRAÇÃO DE CO <sub>2</sub><br>ATMOSFÉRICO..... | 73 |
| 4.1 Introdução.....  | 74 |
| 4.2 Material e Métodos.....  | 75 |
| 4.2.1 Local e tratamentos experimentais.....   | 75 |
| 4.2.2 Amostragem da forragem e análises químicas.....  | 76 |
| 4.2.3 Análise estatística.....   | 79 |
| 4.3 Resultados.....  | 79 |
| 4.4 Discussão.....   | 85 |
| 4.5 Conclusões.....  | 88 |
| Referências.....   | 88 |
| <br>   |    |
| 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....  | 93 |

## 1 INTRODUÇÃO

A concentração de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) na atmosfera vem aumentando principalmente devido à queima de combustíveis fósseis, mudanças de uso do solo, expansão industrial e aumento populacional. Possíveis cenários futuros de concentrações de gases de efeito estufa do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas projetam que, nas próximas décadas as concentrações de  $\text{CO}_2$  atmosférico atinjam de 420 a 1300  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ , e esse aumento pode acarretar efeitos em vários aspectos da produção vegetal por estarem fundamentalmente relacionados ao  $\text{CO}_2$  atmosférico utilizado na fotossíntese.

Um cenário de elevada concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico pode elevar as taxas fotossintéticas de plantas, levando a uma maior produção de biomassa e alterar a qualidade nutricional de várias culturas, além de modificar a composição do solo pelo aumento da entrada de nutrientes via decomposição de resíduos culturais. Estas alterações são importantes pois têm potencial de gerar impactos significativos nos processos econômicos e ecológicos. De forma geral, os efeitos de uma maior concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico já vêm sendo intensamente investigados em plantas de ciclo fotossintético do tipo  $\text{C}_3$ , mas são poucos os estudos que abordem os efeitos em gramíneas tropicais ( $\text{C}_4$ ).

As gramíneas tropicais são a principal fonte de alimento para a produção pecuária brasileira, que apresenta um dos maiores rebanhos de ruminantes e é responsável por 15% da produção mundial de carne, com aproximadamente 211 milhões de cabeças, ocupando 170 milhões de hectares de pastagens, em sua maioria cultivadas com espécies de gramíneas do gênero de origem africana *Brachiaria* spp. Por diversas vezes a atividade pecuária está associada a questões ambientais como desflorestamento, mudanças climáticas, poluição do ar e água, além de perda de biodiversidade. Portanto, é de fundamental importância que esta atividade econômica busque práticas mais sustentáveis.

Determinar os efeitos das mudanças climáticas nas pastagens pode ser complexo devido às interações com diferentes práticas de manejo e disponibilidade de água, entretanto alguns estudos observaram que a produtividade de forragens aumentou à custas de diminuição de sua qualidade nutricional e isso pode acarretar em redução nos índices produtivos e reprodutivos da pecuária baseada em pastejo extensivo, uma vez que muitas vezes estes animais dependem exclusivamente das forragens para suprir suas exigências nutricionais.

Embora a atividade pecuária no Brasil seja uma das maiores do Mundo, pouca informação está disponível acerca das possíveis alterações na produtividade e qualidade nutricional das forragens causadas pelo aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Tais informações são essenciais para desenvolver estratégias visando adaptar o setor pecuário aos futuros cenários de mudanças climáticas.

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos resultantes do incremento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na produção e qualidade nutricional de gramíneas tropicais. Para tanto, uma revisão sistemática com meta-análise foi realizada a fim de analisar dados publicados sobre o tema “elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e seus efeitos em plantas de ciclo C<sub>4</sub>” (Capítulo 2). Além disto, estudos experimentais foram desenvolvidos no campo com duas das principais espécies de gramíneas do gênero *Brachiaria* spp. utilizando-se a instalação do tipo FACE (“Free Air Carbon-dioxide Enrichment”) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Meio Ambiente) para a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. O primeiro estudo buscou investigar possíveis alterações nos teores de carbono e nitrogênio do solo, na produtividade e qualidade nutricional de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivada por curto período de tempo (9 meses) em condições de elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (Capítulo 3). O segundo estudo avaliou os efeitos da exposição a longo prazo (30 meses) de atmosferas contrastantes quanto a concentração de CO<sub>2</sub> na produção de biomassa, frações de fibra, composição elementar e isotópica de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk (Capítulo 4).

## 1.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos resultantes do incremento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na produção e qualidade nutricional de gramíneas tropicais.

## 1.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão sistemática e meta-análise visando a análise de dados publicados sobre o tema “elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e seus efeitos em plantas de ciclo C<sub>4</sub>”;
- Determinar os efeitos a curto prazo (9 meses) de duas concentrações contrastantes de CO<sub>2</sub> atmosférico (Controle  $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$  e CO<sub>2</sub> Elevado  $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ) na produção de biomassa de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e estabelecer sua qualidade nutricional;

- Quantificar os teores elementares e razão isotópica do C e N no solo e na forragem, além de determinar os estoques de C e N no solo em ambientes com concentrações contrastantes de CO<sub>2</sub> atmosférico;
- Determinar os efeitos a longo prazo (30 meses) de duas concentrações contrastantes de CO<sub>2</sub> atmosférico (Controle  $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$  e CO<sub>2</sub> Elevado  $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ) na produção de biomassa, teor de fibras e composição multielementar de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk.

### 1.3 Hipótese

A elevação da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> aumenta a produção compromete a composição química e qualidade nutricional das pastagens tropicais.



## 2 REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

Além de estudos experimentais, a realização de uma revisão sistemática e meta-análise com estudos já publicados pode auxiliar na compreensão de resultados obtidos e até mesmo direcionar futuros estudos sobre um determinado tema. Em termos gerais, meta-análise pode ser definida como uma revisão sistemática da literatura apoiada por métodos estatísticos onde o objetivo é agregar e comparar os resultados de vários estudos relacionados (GLASS, 1976).

Na transformação dos resultados de pesquisa em conhecimento utilizável, um único experimento pode não ser conclusivo para uma inferência, dessa forma, para um mesmo assunto, vários experimentos são realizados (SAUVANT; SCHMIDELY; DAUDIN, 2005). A revisão sistemática e meta-análise são procedimentos que combinam resultados de vários estudos em uma síntese reproduzível e quantificável dos dados, permitindo assim obter uma visão geral da situação avaliada.

Com esta análise, os meios para se realizar uma síntese do conhecimento adquirido sobre determinado tema são fornecidos, podendo evidenciar um efeito de tratamento que, individualmente, não permite estabelecer conclusões por falta de potência analítica (baixo  $n$ , por exemplo) (LOVATTO et al., 2007).

Além disto, a meta-análise permite o levantamento de resultados contraditórios, possibilita ajustar (ou corrigir) a média geral dos estudos aos fatores de variação, com o efeito do tratamento sendo avaliado em diferentes condições experimentais, aumentando a aplicabilidade para a população, podendo justificar a necessidade de um novo experimento e até mesmo identificar novas hipóteses diferentes das que motivaram os experimentos incluídos na análise (FAGARD; STAESSEN; THIJS, 1996; LOVATTO et al., 2007).

Com o objetivo de sistematizar e analisar dados publicados sobre o tema “elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e seus efeitos em plantas de ciclo C<sub>4</sub>”, uma revisão sistemática e meta-análise foi realizada.

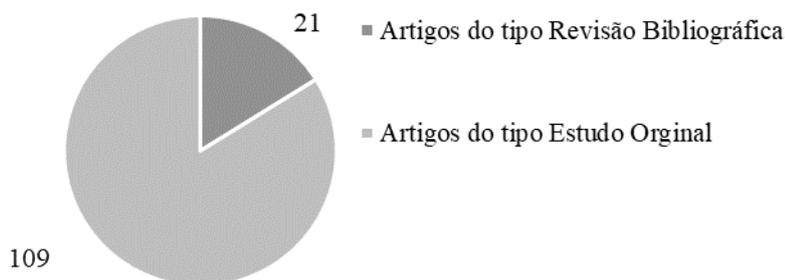
## 2.1 Revisão Sistemática – Estratégia de busca

A pesquisa nas bases de dados Science Direct, Scopus, PubMed e Web of Science foi realizada utilizando como estratégia de busca as expressões “Elevated CO<sub>2</sub>” e “Forage”, presentes no título, resumo e palavras-chave, resultando em 130 referências recuperadas, desde 1991 até 2018.

## 2.2 Revisão Sistemática – Referências recuperadas

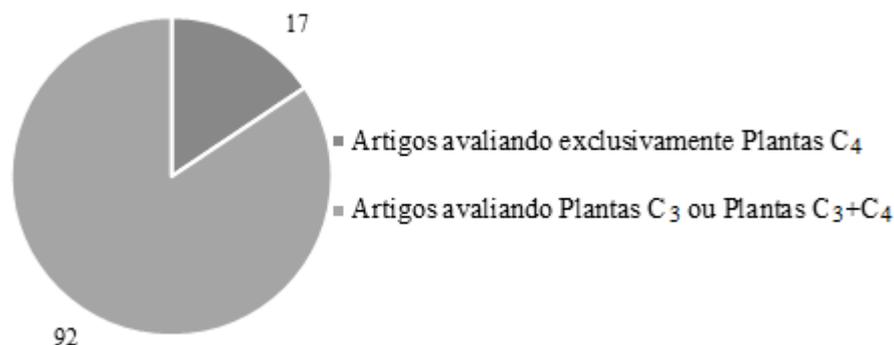
Do total de referências recuperadas, cerca de 16 % tratava de artigos do tipo revisão de literatura (Figura 2.1) e não foram consideradas no levantamento de informações para este trabalho.

**Figura 2.1** - Número de referências recuperadas de acordo com o tipo de artigo (Revisão Bibliográfica ou Estudo Original)



Para levantar informações acerca dos efeitos da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico em plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub>, as referências foram separadas de acordo com o tipo de ciclo fotossintético da planta avaliada (Figura 2.2). Como os efeitos da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na produtividade de gramíneas C<sub>4</sub> não são tão previsíveis quando avaliados em conjunto (mistura) com plantas C<sub>3</sub> (DIJKSTRA et al., 2010), apenas as referências avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub> foram utilizadas. Em relação ao total de referências consideradas, observou-se baixo número de artigos avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (15 %), corroborando Lara e Andreo (2011).

**Figura 2.2** - Número de referências recuperadas de acordo com o tipo de ciclo fotossintético ( $C_3$  e  $C_4$ ) das plantas avaliadas



A lista das 17 referências avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético do tipo  $C_4$  é apresentada na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1** – Lista de referências recuperadas avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético do tipo  $C_4$

| Referências bibliográficas | Ano  | Periódico                               |
|----------------------------|------|---|
| Samarakoon e Gifford       | 1996 | Australian Journal of Plant Physiology  |
| Ziska e Bunce              | 1997 | Photosynthesis Research                 |
| Ziska et al.               | 1999 | Physiologia Plantarum                   |
| Maroco et al.              | 1999 | Planta                                  |
| Ottman et al.              | 2001 | New Phytologist                         |
| Wall et al.                | 2001 | New Phytologist                         |
| Williams et al.            | 2001 | New Phytologist                         |
| Cousins et al.             | 2003 | Journal of Experimental Botany          |
| Triggs et al.              | 2004 | Agricultural and Forest Meteorology     |
| Newman et al.              | 2006 | Agronomy Journal                        |
| Welzmilller et al.         | 2008 | Soil Science Society of America Journal |
| Ferreira et al.            | 2013 | Journal of Pest Science                 |
| Santos et al.              | 2014 | Revista Brasileira de Zootecnia         |
| Erbs et al.                | 2015 | Agronomy for Sustainable Development    |
| Prado et al.               | 2016 | PlosOne                                 |
| Gleadow et al.             | 2016 | Field Crops Research                    |
| Yu et al.                  | 2017 | Frontiers in Plant Science              |

Das 17 referências avaliadas, a maioria dos estudos (65 %) foram conduzidos nos Estados Unidos da América (Figura 2.3), seguido por Brasil (17 %), Alemanha, China e Austrália (aproximadamente 6 % cada).

**Figura 2.3** - Número de referências recuperadas avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub>, de acordo com o país de origem



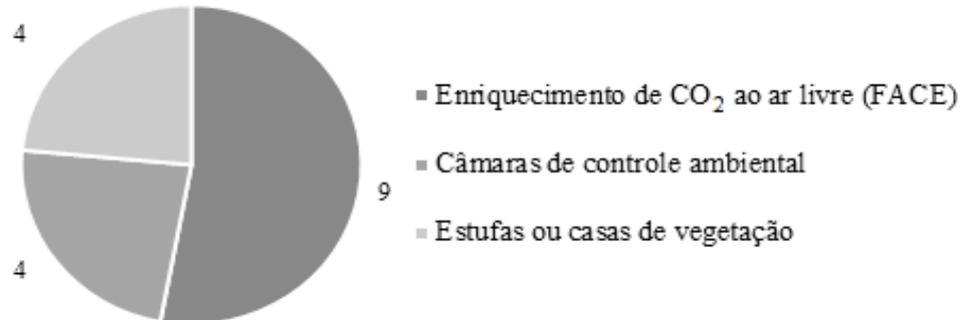
Dos onze estudos desenvolvidos nos Estados Unidos da América, destaca-se a quantidade de trabalhos (7) desenvolvidos na Universidade do Arizona, na cidade de Maricopa (OTTMAN et al., 2001; WALL et al., 2001; WILLIAMS et al., 2001; COUSINS et al., 2003; TRIGGS et al., 2004; WELZMILLER et al., 2008; GLEADOW et al.; 2016).

No Brasil, os estudos foram desenvolvidos na Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora - MG (FERREIRA et al., 2013), Embrapa Semiárido, em Petrolina - BA (SANTOS et al., 2014) e na Universidade de São Paulo, em Ribeirão Preto - SP (PRADO et al., 2016).

O estudo mais antigo (SAMARAKOON; GIFFORD, 1996) e mais recente (YU et al., 2017) recuperados nesta busca foram desenvolvidos, respectivamente, em Camberra (Austrália) e em Shandong (China). Na cidade de Braunschweig foi desenvolvido o estudo que teve a Alemanha como país de origem (ERBS et al., 2015).

Em relação à metodologia empregada para a elevação da concentração de CO<sub>2</sub>, destaca-se o enriquecimento de CO<sub>2</sub> ao ar livre (Free Air Carbon Dioxide Enrichment – FACE), utilizado em 53 % dos trabalhos avaliados (Figura 2.4).

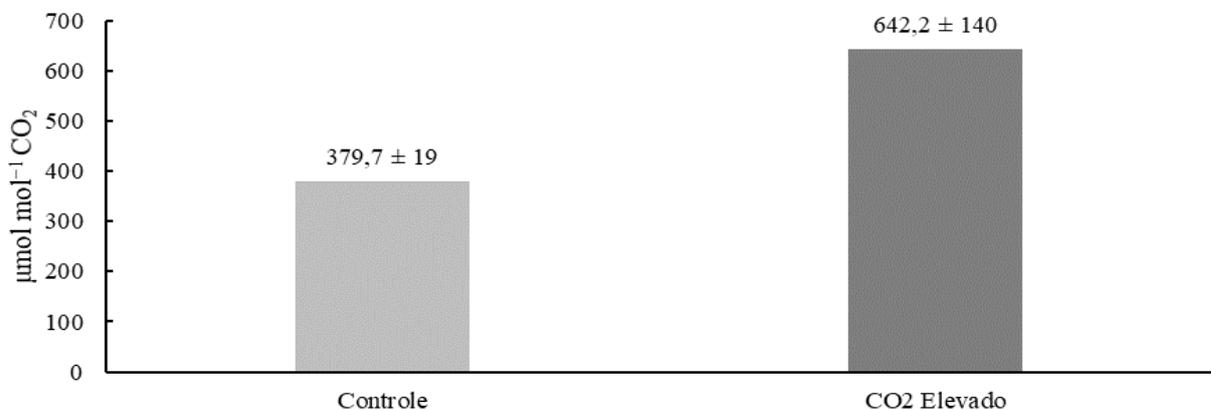
**Figura 2.4** - Número de referências recuperadas avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub>, de acordo com as instalações utilizadas para a elevação da concentração de CO<sub>2</sub>



As instalações do tipo FACE ou suas variações (miniFACE e T-FACE) foram utilizadas em estudos realizados por Ottman et al. (2001), Wall et al. (2001), Williams et al. (2001), Cousins et al. (2003), Triggs et al. (2004), Welzmilller et al. (2008), Erbs et al. (2015), Prado et al. (2016) e Gleadow et al. (2016).

Em média, a concentração de CO<sub>2</sub> utilizada como tratamento “CO<sub>2</sub> Elevado” nestes estudos foi 1,6 vezes maior que a concentração utilizada como “Controle” (Figura 2.5).

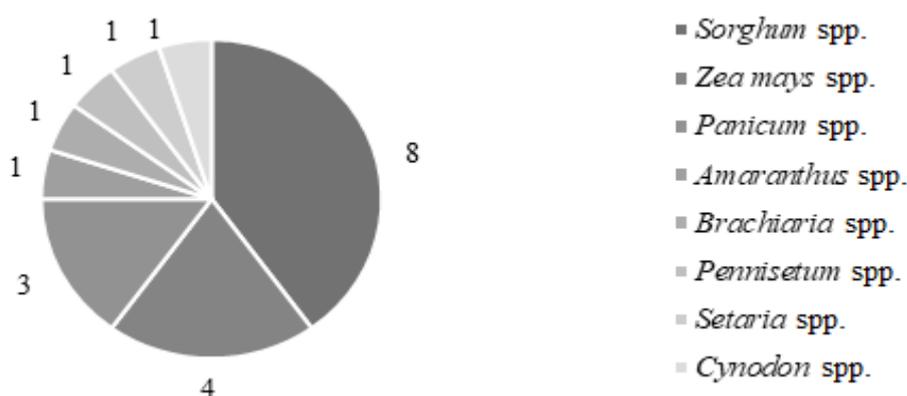
**Figura 2.5** - Concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico (média ± desvio padrão) utilizadas como tratamento Controle e CO<sub>2</sub> Elevado das referências recuperadas avaliando exclusivamente plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub>



Das referências recuperadas, a mais elevada concentração de CO<sub>2</sub> utilizada como tratamento “CO<sub>2</sub> Elevado” (1100 ± 50 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>) foi a empregada por Maroco et al. (1999). A menor concentração de CO<sub>2</sub> no tratamento “CO<sub>2</sub> Elevado” foi utilizada por Ferreira et al. (2013) (≈ 500 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>). Em relação a concentração de CO<sub>2</sub> do Controle, os valores utilizados variaram de 354 ± 11 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> (ZISKA et al., 1999) a 403 ± 42 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> (COUSINS et al., 2003).

Em relação às principais espécies vegetais utilizadas nestes trabalhos, destacam-se *Sorghum* spp., *Zea mays* spp. presentes, respectivamente, em 35 % e 17 % das referências avaliadas (Figura 2.6).

**Figura 2.6** - Número de referências recuperadas de acordo com a espécie avaliada



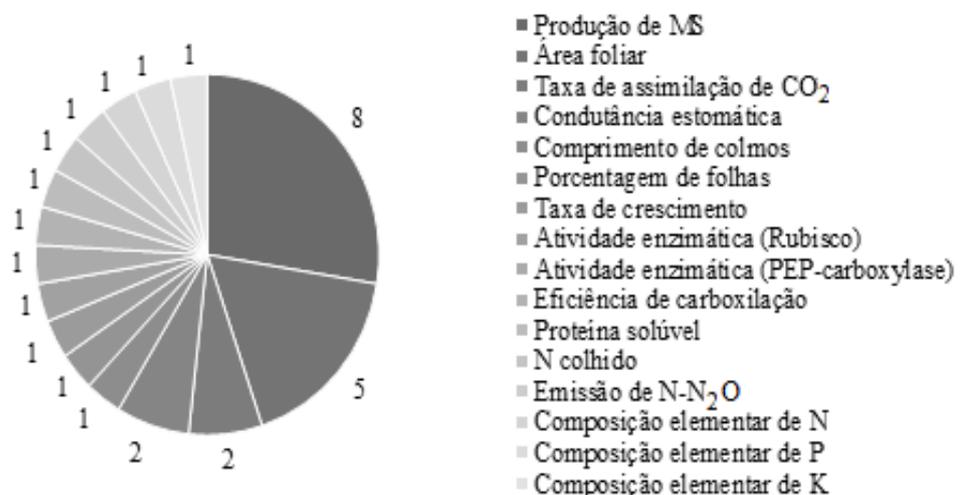
Gleadow et al. (2016) avaliando *Sorghum* spp., concluíram que diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> não afetam significativamente a concentração total de N ou as concentrações de cianeto e nitrato. Cousins et al. (2003) verificaram que alguns tecidos de folhas jovens de *Sorghum* spp. expressaram características fotossintéticas de plantas C<sub>3</sub>, mas a taxa de fotossíntese nestas células não pode ser considerada significativa.

De acordo com Ottman et al. (2001), em condições de elevada concentração de CO<sub>2</sub> e em regiões onde se tenha limitada a disponibilidade de água, pode-se obter uma maior produção de *Sorghum* spp. Isto porque, entre outros efeitos, a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> minimizaria os efeitos deletérios da seca nos processos fisiológicos de *Sorghum* spp. (WALL et al., 2001; WILLIAMS et al., 2001), reduzindo a evapotranspiração (TRIGGS et al., 2004) e permitindo de forma mais eficiente a utilização da água disponível no solo pelas plantas.

Samarakoon e Gifford (1996) demonstraram que em condições de déficit hídrico, a elevada concentração de CO<sub>2</sub> pode afetar diretamente o crescimento de *Zea mays* spp., possibilitando o sequestro de consideráveis quantidades de C disponíveis no ambiente devido aos processos de aclimação, alterações na atividade de certas enzimas fotossintéticas e maior eficiência na utilização da água disponível (MAROCO et al., 1999). Além de atenuar os efeitos da seca em *Zea mays* spp., em condições de elevada concentração de CO<sub>2</sub>, a composição elementar, características da biomassa e qualidade das sementes também pode ser afetada (ERBS et al., 2015).

Após a sistematização e codificação das informações extraídas das referências apresentadas na Tabela 2.1, observou-se que produção de matéria seca (MS) e área foliar foram as variáveis avaliadas no maior número de trabalhos (Figura 2.7).

**Figura 2.7** – Número de referências recuperadas de acordo com as variáveis avaliadas



Nas Tabelas 2.2 e 2.3 são apresentadas as informações das referências que estudaram as variáveis produção de MS e área foliar, respectivamente.

**Tabela 2.2** - Referências que analisaram os resultados da variável produção de matéria seca (MS)

| Referência            | Ano  | Periódico                              | Local                 | Espécie   |
|-----------------------|------|--|-----------------------|---|
| a Samarakoon; Gifford | 1996 | Australian Journal of Plant Physiology | Camberra - Australia  | <i>Zea mays</i>   |
| b Ziska; Bunce        | 1997 | Photosynthesis Research                | Beltsville - EUA      | <i>Panicum spp.</i> , <i>Sorghum spp.</i> , <i>Zea mays</i> |
| c Ziska et al.        | 1999 | Physiologia Plantarum                  | Beltsville - EUA      | <i>Flaveria trinervia</i> , <i>Panicum spp.</i>             |
| d Maroco et al.       | 1999 | Planta                                 | Pullman - EUA         | <i>Zea mays</i>   |
| e Ottman et al.       | 2001 | New Phytologist                        | Maricopa - EUA        | <i>Sorghum bicolor</i>                                      |
| f Newman et al.       | 2006 | Agronomy Journal                       | Gainesville - EUA     | <i>Paspalum notatum</i>                                     |
| g Ferreira et al.     | 2013 | Journal of Pest Science                | Juiz de Fora - Brasil | <i>Brachiaria spp.</i> e <i>Pennisetum spp.</i>             |
| h Santos et al.       | 2014 | Revista Brasileira de Zootecnia        | Petrolina - Brasil    | <i>Cenchrus ciliaris</i>                                    |

**Tabela 2.3** - Referências que analisaram os resultados da variável área foliar

| Referência       | Ano  | Periódico                      | Local                   | Espécie   |
|------------------|------|--------------------------------|-------------------------|---|
| a Ziska; Bunce   | 1997 | Photosynthesis Research        | Beltsville - EUA        | <i>Panicum spp.</i> , <i>Sorghum spp.</i> , <i>Zea mays</i> |
| b Ziska et al.   | 1999 | Physiologia Plantarum          | Beltsville - EUA        | <i>Flaveria trinervia</i> , <i>Panicum spp.</i>             |
| c Maroco et al.  | 1999 | Planta                         | Pullman - EUA           | <i>Zea mays</i>   |
| d Cousins et al. | 2003 | Journal of Experimental Botany | Maricopa - EUA          | <i>Sorghum bicolor</i>                                      |
| e Prado et al.   | 2016 | PlosOne                        | Ribeirão Preto - Brasil | <i>Panicum maximum</i>                                      |

## 2.3 Meta-Análise

### 2.3.1 Material e Métodos

Os resultados exibidos nos artigos (na forma de tabelas e figuras) referentes às médias de produção de MS e área foliar foram tabulados (Tabelas 2.4 e 2.5, respectivamente) e utilizados na meta-análise com o objetivo de testar a hipótese que a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> aumenta a produção de plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub>.

**Tabela 2.4** – Tabulação das médias, desvios-padrões e *n* amostrais referentes à produção de matéria seca dos 8 artigos científicos selecionados

| Referência | meanT | sdT  | nT | meanC | sdC  | nC |
|------------|-------|------|----|-------|------|----|
| a          | 109   | 25   | 12 | 88    | 30   | 12 |
| b          | 33    | 34   | 6  | 30    | 32   | 6  |
| c          | 48    | 13   | 12 | 47    | 17   | 12 |
| d          | 48    | 4    | 4  | 40    | 2    | 4  |
| e          | 1378  | 227  | 4  | 1280  | 281  | 4  |
| f          | 11800 | 4959 | 4  | 10088 | 4030 | 4  |
| g          | 7     | 4    | 10 | 7     | 2    | 10 |
| h          | 6     | 1    | 5  | 5     | 1    | 5  |

Referência: a - Samarakoon e Gifford (1996); b - Ziska e Bunce (1997); c - Ziska et al. (1999); d - Maroco et al. (1999); e - Ottman et al. (2001); f - Newman et al. (2006); g - Ferreira et al. (2013); h - Santos et al. (2014); meanT, sdT e nT – média, desvio padrão e *n* amostral do tratamento CO<sub>2</sub> Elevado; meanC, sdC e nC – média, desvio padrão e *n* amostral do Controle.

**Tabela 2.5** – Tabulação das médias, desvios-padrões e *n* amostrais referentes à área foliar dos 5 artigos científicos selecionados

| Referência | meanT  | sdT    | nT | meanC  | sdC    | nC |
|------------|--------|--------|----|--------|--------|----|
| a          | 2290.6 | 743.05 | 6  | 2097.4 | 683.6  | 6  |
| b          | 3912   | 683    | 12 | 3578.3 | 1203.1 | 12 |
| c          | 2300   | 200    | 4  | 1800   | 200    | 4  |
| d          | 5.78   | 0.45   | 4  | 5.95   | 0.23   | 4  |
| e          | 202.08 | 10.25  | 8  | 195.68 | 8.2    | 8  |

Referência: a – Ziska e Bunce (1997); b - Ziska et al. (1999); c - Maroco et al. (1999); d - Cousins et al. (2003); e – Prado et al. (2016); meanT, sdT e nT – média, desvio padrão e *n* amostral do tratamento CO<sub>2</sub> Elevado; meanC, sdC e nC – média, desvio padrão e *n* amostral do Controle.

As análises foram realizadas no software estatístico R (<https://www.r-project.org/>) com a utilização do pacote “meta”, que consiste em um conjunto de funções para a realização de meta-análises, incluindo funções para cálculo de várias medidas de efeito e criação de gráficos meta-analíticos (SCHWARZER et al., 2015).

Seguindo a metodologia descrita em Crawley (2012), a seguir são apresentados os comandos (>) utilizados no software estatístico. Foram calculados o tamanho do efeito, variância e peso de cada referência e a síntese do tamanho do efeito dos diferentes estudos para a meta-análise. Utilizou-se a metodologia do inverso da variância, em modelo de efeito fixo (teste z), testando a heterogeneidade e a representação gráfica na forma de “Forest plot”, para efeito da elevação da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> na produção de MS e área foliar, considerando a concentração ambiente (controle) como referência.

Para a meta-análise que avaliou o efeito na produção de MS a Tabela 2.4 foi convertida para um arquivo tipo csv (Microsoft Excel Comma Separated Values File (biomass.csv)) e os seguintes comandos (>) foram utilizados:

```
> View(biomass)
```

```
> attach(biomass)
```

O tamanho do efeito para cada estudo foi a diferença entre as médias do tratamento (CO<sub>2</sub> Elevado) e o Controle:

```
> d <- meanT - meanC
```

```
> d
```

O desvio padrão de cada estudo foi calculado:

```
> (swithin <- sqrt(((nT-1)*sdT^2+(nC-1)*sdC^2)/(nT+nC-2)))
```

A relação tamanho do efeito e o desvio padrão de cada estudo (o tamanho do efeito geral da meta-análise) foi calculado:

```
> (d <- d/swithin)
```

O cálculo da variância da diferença escalonada (Vd) foi realizado:

```
> (Vd <- (nC+nT)/(nC*nT)+d^2/(2*(nC+nT)))
```

O valor  $g$  de Hedges ( $g$ ) e sua variância das médias corrigidas ( $Vg$ ) foram calculados:

```
> (J <- 1-3/(4*(nC+nT-2)-1))
> (g <- J*d)
> (Vg <- J^2*Vd)
```

Os intervalos de confiança ( $int$ ) das diferenças escalonadas foram obtidos:

```
> (int <- 1.96*sqrt(Vg))
> (ll <- d-int)
> (ul <- d+int)
```

O total de amostras utilizadas em cada referência ( $ns$ ) foram computados para a produção dos símbolos de quadrados no Forest plot:

```
> (ns <- nT+nC)
```

O peso de cada referência ( $W$ ; o inverso da variância) foi calculado:

```
> (W <- 1/Vg)
```

Para se obter o produto ( $WY$ ) de cada referência, o peso foi multiplicado pelo  $g$  de Hedges:

```
> (WY <- W*g)
```

O resultado geral da meta-análise ( $M$ ) foi a soma dos produtos ( $WY$ ) dividido pela soma dos pesos:

```
> (M <- sum(WY)/sum(W))
```

A variância do resultado geral ( $VM$ ) foi calculada como inverso da soma dos pesos:

```
> (VM <- 1/sum(W))
```

O erro padrão do resultado geral da meta análise ( $SEM$ ) foi dado pela raiz quadrada de sua variância ( $VM$ ):

```
> (SEM <- sqrt(VM))
```

O valor do teste estatístico (z) e o intervalo de confiança foram calculados:

```
> (z <- M/SEM)
> (ci <- 1.96*SEM)
```

Para a produção do “Forest plot” apresentando os oito estudos e suas estimativas, além da representação gráfica do efeito geral da meta-análise, os seguintes comandos foram utilizados:

```
> plot(c(-15, 10), c(0, 7), type="n", xlab="Efeito CO2 %", yaxt="n",
ylab="Referências avaliando produção de MS")
> points(d,8-(1:8),pch=15,cex=10*ns/sum(ns))
> for (i in 1:8) lines (c(ll[i], ul[i]), c(8-i, 8-i))
> polygon (c(M-ci, M, M+ci, M), c(1,1.1,1,0.9), col="red")
> abline (v=0, lty=2)
> text(rep(-8,7), 0:10, c("Santos et al. (2014)", "Ferreira et al. (2013)", "Newman et al.
(2006)", "Ottman et al. (2001)", "Maroco et al. (1999)", "Ziska et al. (1999)", "Ziska e
Bunce (1997)", "Samarakoon e Gifford (1996)"))
> text(rep(5,7),1:1, c("Resultado geral"), col="red")
> metacont(nT,meanT,sdT,nC,meanC,sdC)
```

Na meta-análise que avaliou o efeito da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na área foliar de plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub>, a Tabela 2.5 foi convertida para um arquivo tipo csv (Microsoft Excel Comma Separated Values File (leafarea.csv)) e os mesmos comandos apresentados anteriormente foram utilizados, exceto os relacionados ao banco de dados e a produção do Forest plot:

Banco de dados:

```
> View(leafarea)
> attach(leafarea)
```

Forest plot:

```
> plot(c(-20, 20), c(0, 6), type="n", xlab="Efeito CO2 %", yaxt="n",
ylab="Referências avaliando área foliar")
> points(d,6-(1:5),pch=15,cex=10*ns/sum(ns))
> for (i in 1:6) lines (c(ll[i], ul[i]), c(6-i, 6-i))
```

```

> polygon (c(M-ci, M, M+ci, M), c(1,1.1,1,0.9), col="red")
> abline (v=0, lty=2)
> text(rep(-12,5), 1:5, c("Prado et al. (2016)", "Cousins et al. (2003)", "Maroco et al.
(1999)", "Ziska et al. (1999)", "Ziska e Bunce (1997)"))
> text(rep(10,5), 1:1, c("Resultado geral"), col="red")
> metacont(nT,meanT,sdT,nC,meanC,sdC)

```

Nos gráficos do tipo “Forest plot”, o eixo vertical de tendência central representa a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos avaliados. Este tipo de gráfico apresenta também a estimativa do tamanho do efeito e o intervalo de confiança do efeito de cada estudo: o tamanho do quadrado é proporcional ao peso do estudo na meta-análise e a linha horizontal que o cruza representa o intervalo de confiança. Se a linha cruza o eixo vertical de tendência central, não existe diferença significativa entre o tratamento CO<sub>2</sub> Elevado e o Controle.

O losango vermelho sintetiza o tamanho do efeito nos diferentes estudos e é a própria meta-análise. Suas dimensões horizontais são o intervalo de confiança desta estimativa e seu centro é a estimativa pontual do tamanho do efeito. Quando o losango cruza o eixo vertical o resultado da meta-análise é negativo, ou seja, não existe diferença significativa na comparação entre o tratamento CO<sub>2</sub> Elevado e o Controle.

## 2.4 Resultados

Os resultados dos cálculos de tamanho de efeito, variância, peso e relação peso:tamanho de efeito de cada referência para a meta-análise que avaliou o efeito da concentração de CO<sub>2</sub> na produção de MS e área foliar estão apresentados nas Tabelas 2.6 e 2.7, respectivamente.

**Tabela 2.6** – Tamanho do efeito, variância, peso e relação peso:tamanho das referências selecionadas para avaliar o efeito da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na produção de matéria seca

| Referência | Tamanho    | Variância | Peso     | Peso:Tamanho |
|------------|------------|-----------|----------|--------------|
| a          | 0,76050027 | 0,1787158 | 6,002289 | 4,4073371    |
| b          | 0,09086738 | 0,3336774 | 3,517203 | 0,2950145    |
| c          | 0,06608186 | 0,1667576 | 6,432713 | 0,4104275    |
| d          | 2,52982213 | 0,9000000 | 1,469444 | 3,2325505    |
| e          | 0,38366524 | 0,5091999 | 2,597212 | 0,8664868    |
| f          | 0,37889192 | 0,5089724 | 2,598373 | 0,8560890    |
| g          | 0,00000000 | 0,2000000 | 5,450908 | 0,0000000    |
| h          | 1,00000000 | 0,4500000 | 2,723923 | 2,4603175    |

Referência: a - Samarakoon e Gifford (1996); b - Ziska e Bunce (1997); c - Ziska et al. (1999); d - Maroco et al. (1999); e - Ottman et al. (2001); f - Newman et al. (2006); g - Ferreira et al. (2013); h – Santos et al. (2014).

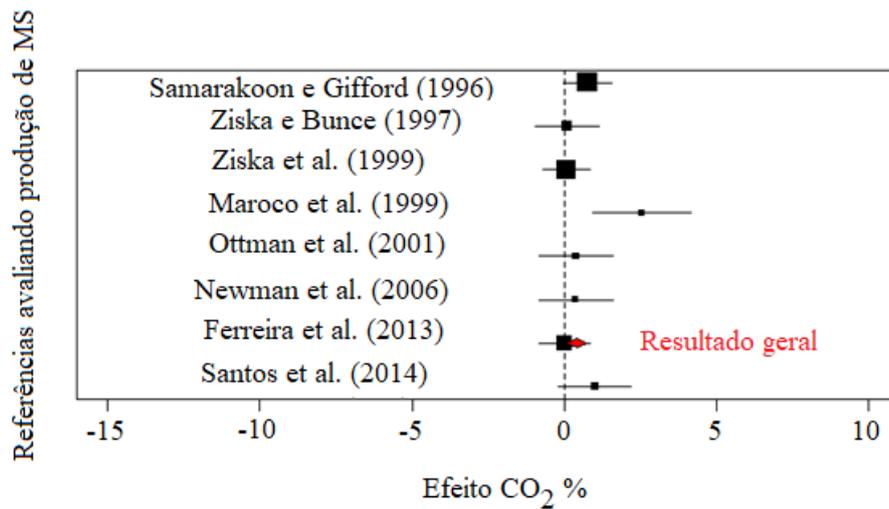
**Tabela 2.7** – Tamanho do efeito, variância, peso e relação peso:tamanho das referências selecionadas para avaliar o efeito da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na área foliar

| Referência | Tamanho    | Variância | Peso     | Peso:Tamanho |
|------------|------------|-----------|----------|--------------|
| a          | 0,2706094  | 0,3363846 | 3,488897 | 0,8715032    |
| b          | 0,3411200  | 0,1690909 | 6,343949 | 2,0894258    |
| c          | 2,5000000  | 0,8906250 | 1,484912 | 3,2280702    |
| d          | -0,4757223 | 0,5141445 | 2,572234 | -1,0640600   |
| e          | 0,6895237  | 0,2648576 | 4,223828 | 2,7535699    |

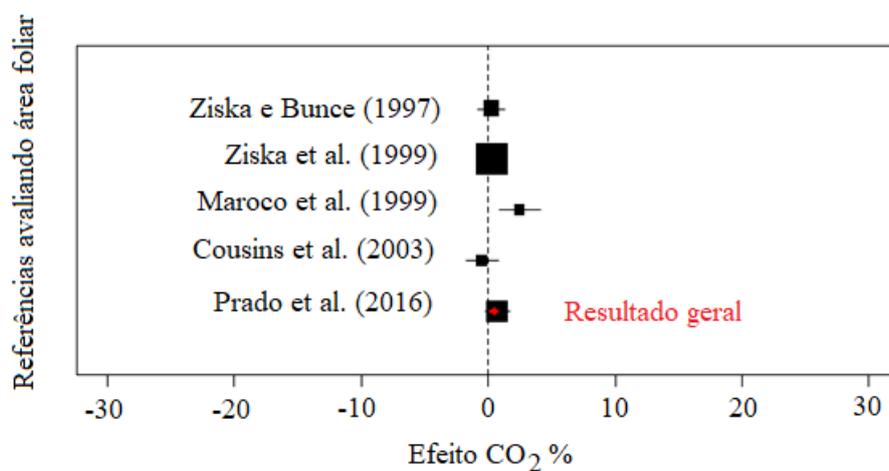
Referência: a – Ziska e Bunce (1997); b - Ziska et al. (1999); c - Maroco et al. (1999); d - Cousins et al. (2003); e – Prado et al. (2016).

Nas Figuras 2.8 e 2.9 estão apresentados os gráficos do tipo “Forest plot” com os resultados das meta-análises que avaliaram o efeito da concentração de CO<sub>2</sub> na produção de MS e área foliar, respectivamente.

**Figura 2.8** - “Forest plot” com os resultados da meta-análise que avaliou efeito da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (% de alteração) na produção de matéria seca (MS) de plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (Resultado geral = 0,4068653; Intervalo de confiança 95% = 0,353213; p valor (teste z) = 0,0168; índice de heterogeneidade (I<sup>2</sup>) = 48,8%)



**Figura 2.9** - “Forest plot” com os resultados da meta-análise que avaliou o efeito da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (% de alteração) na área foliar de plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (Resultado geral = 0,4349446; Intervalo de confiança 95% = 0,4605227; p valor (teste z) = 0,5554; índice de heterogeneidade (I<sup>2</sup>) = 74,1%)



Na meta-análise que avaliou o efeito da concentração de CO<sub>2</sub> na produção de MS de plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (Figura 2.8), o losango não cruza o eixo vertical e isto se reflete no valor significativo do teste estatístico ( $P < 0,05$ ), indicando que existe diferença entre o tratamento CO<sub>2</sub> Elevado e o Controle, com os valores de produção de MS sendo maiores (posição à direita do eixo vertical) com a elevação da concentração de CO<sub>2</sub>. O resultado da meta-análise que avaliou o efeito da concentração de CO<sub>2</sub> na área foliar de plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (Figura 2.9) foi negativo ( $P > 0,05$ ), indicando ausência de efeito significativo entre o tratamento CO<sub>2</sub> Elevado e o Controle para esta variável.

## 2.5 Discussão

Os impactos globais do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico em diferentes culturas vêm sendo tema de vários estudos (PORTEAUS et al., 2009) e as respostas são dependentes do grupo funcional, mecanismo fotossintético, fixação ou não de nitrogênio, sistema reprodutivo e forma de crescimento destas plantas (ROBINSON et al., 2012; HAGER et al., 2016).

Em plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>3</sub> a fotossíntese ocorre no mesófilo (camadas intermediárias das células), enquanto que em plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> ocorre no mesófilo e nas células da bainha do feixe vascular (STOKES et al., 2016). De forma geral, plantas C<sub>4</sub> são adaptadas a ambientes com baixa concentração de CO<sub>2</sub> e apresentam um funcionamento bioquímico que concentra o CO<sub>2</sub> nos locais de carboxilação, reduzindo as perdas de C pela fotorrespiração. Assim, alguns autores ponderam que, nos atuais níveis de CO<sub>2</sub> atmosférico, a função de carboxilação em plantas do ciclo C<sub>4</sub> já se encontra próxima da saturação, impedindo qualquer aumento de sua eficiência com o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (ZISKA; BUNCE, 1997; HAGER et al., 2016).

Entretanto, os resultados deste estudo de meta-análise indicam que a hipótese de que a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> aumenta a produção de plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub> foi confirmada em relação à produção de MS. As razões exatas para explicar as respostas positivas na produção de biomassa de plantas C<sub>4</sub> em ambientes de elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico não são claras e algumas questões são propostas (SOUZA et al., 2008): aumento da concentração de CO<sub>2</sub> onde a ribulose-1,5-bisofato carboxylase-oxigenase (RuBisCO) fica localizada, sem que ocorra saturação do processo de carboxilação (ZISKA; BUNCE, 1997); alterações nas células da bainha do feixe vascular (WATLING et

al., 2000); características de fotossíntese do tipo C<sub>3</sub> em folhas jovens (ZISKA et al., 1999; COUSINS et al., 2003); diminuição da condutividade estomatal, o que pode aumentar a eficiência no uso da água e a performance fisiológica durante o período de estresse hídrico e/ou alterações na temperatura foliar, o que pode otimizar a temperatura para que a fotossíntese ocorra (GHANNOUM et al., 2000).

Apesar dos resultados deste estudo de meta-análise mostrarem aumento da produção de MS de plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub> em condições de elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, a análise apresentou moderado (48.8 %) índice de heterogeneidade (I<sup>2</sup>). A heterogeneidade representa a porcentagem das diferenças entre os tratamentos que não são explicadas por erro amostral e sim por fatores que não foram medidos, sejam eles viés de publicação, diferenças metodológicas e /ou materiais utilizados nos trabalhos avaliados. Seu cálculo é fundamental para avaliar o grau de confiança dos resultados obtidos (PEREIRA; GALVÃO, 2014).

Tratando-se de revisões sistemáticas e meta-análises, maior será o questionamento sobre a validade de se combinar resultados e chegar a conclusões, quanto maior for o índice de heterogeneidade da análise (PEREIRA; GALVÃO, 2014). No presente estudo, o índice moderado de heterogeneidade encontrado para MS pode ser resultado da análise de dados originários de estudos que utilizaram diferentes métodos para a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, pois câmaras de controle ambiental do tipo “open-top” podem superestimar os efeitos do CO<sub>2</sub> atmosférico sobre parâmetros fotossintéticos e de crescimento vegetal (LEAKEY et al., 2006). Além disto, a resposta das plantas à elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico podem variar de acordo com a espécie avaliada (HAGER et al., 2016) e neste estudo os dados de produção de diferentes espécies C<sub>4</sub> (*Zea mays*, *Panicum* spp., *Sorghum* spp., *Flaveria trinerviam*, *Paspalum notatum*, *Brachiaria* spp., *Pennisetum* spp., *Cenchrus ciliaris*) foram utilizados na análise. Ainda segundo Pereira e Galvão (2014), na presença de heterogeneidade, recomenda-se investigar suas causas por meio de análise de sensibilidade e metarregressão, não realizadas no presente estudo.

Este estudo mostrou, nas condições em que foi realizado, que a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico aumenta a produção de MS de plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub>. Mas devido ao índice de heterogeneidade da análise, estes resultados não são conclusivos, não sendo possível extrapolá-los e afirmar que algumas das principais

pastagens utilizadas como base da produção pecuária a pasto no Brasil também responderão à elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico com aumento de sua produção de MS.

## 2.6 Conclusões

Os resultados indicam que a hipótese da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> afetar a produção de plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub> foi confirmada em relação à produção de MS. Entretanto pelos índices de heterogeneidade observados, os resultados não foram conclusivos, não tornando possível confirmar os efeitos da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> na produção de plantas C<sub>4</sub>, sendo que novos estudos experimentais devem ser realizados para um melhor entendimento das questões envolvendo mudanças climáticas e seus efeitos na agropecuária.

## Referências

COUSINS, A.B.; ADAM, N.R.; WALL, G.W.; KIMBALL, B.A.; PINTER JUNIOR, P.J.; OTTMAN, M.J.; LEAVITT, S.W.; WEBBER, A.N. Development of C<sub>4</sub> photosynthesis in sorghum leaves grown under free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, p. 1969-1975, 2003.

CRAWLEY, M.J. **The R Book**. 2. ed. Chichester: Wiley, 2013.

DIJKSTRA, F.; BLUMENTHAL, D.; MORGAN, J.; PENDALL, E.; CARRILLO, Y.; FOLLETT, R. Contrasting effects of elevated CO<sub>2</sub> and warming on nitrogen cycling in a semiarid grassland. **New Phytologist**, London, v. 187, p. 426-437, 2010.

ERBS, M.; MANDERSCHIED, R.; HÜTHER, L.; SCHENDERLEIN, A.; WIESER, H.; DÄNICKE, S.; WEIGEL, H.J. Free-air CO<sub>2</sub> enrichment modifies maize quality only under drought stress. **Agronomy for Sustainable Development**, Les Ulis, v. 35, p. 203-212, 2015.

FAGARD, R.H.; STAESSEN, J.A.; THIJS, L. Advantages and disadvantages of the meta-analysis approach. **Journal of Hypertension. Supplement**, London, v. 14, p. S09-12, discussion S13, 1995.

FERREIRA, R.B.; MORAES, J.C.; AUAD, A.M.; FONSECA, M.G. Interaction of spittlebug and forage grass under different carbon dioxide concentrations. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 86, p. 161-166, 2013.

GHANNOUM, O.; VON CAEMMERER, S.; ZISKA, L.H.; CONROY, J.P. The growth response of C<sub>4</sub> plants to rising atmospheric CO<sub>2</sub> partial pressure: a reassessment. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 23, p. 931-942, 2000.

GLASS, G.V. Primary, secondary and meta-analysis of research. **Educational Researcher**, Washington, DC, v. 5, p. 3-8, 1976.

GLEADOW, R.M.; OTTMAN, M.J.; KIMBALL, B.A.; WALL, G.W.; PINTER JUNIOR, P.J.; LAMORTE, R.L.; LEAVITT, S.W. Drought-induced changes in nitrogen partitioning between cyanide and nitrate in leaves and stems of sorghum grown at elevated CO<sub>2</sub> are age dependent. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 185, p. 97-102, 2016.

HAGER, H.A.; RYAN, G.D.; KOVACS, H.M.; NEWMAN, J.A. Effects of elevated CO<sub>2</sub> on photosynthetic traits of native and invasive C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> grasses. **BMC Ecology**, London, v. 16, p. 28, 2016. doi: 10.1186/s12898-016-0082-z.

LARA, M.V.; ANDREO, C.S. C<sub>4</sub> plants adaptation to high levels of CO<sub>2</sub> and to drought environments. In: SHANKER, A.; VENKATESWARLU, B. (Ed.). **Abiotic stress in plants - Mechanisms and adaptations**. Rijeka, Croatia: InTech, 2011.

LEAKEY, A.D.B.; URIBELARREA, M.; AINSWORTH, E.A.; NAIDU, S.L.; ROGERS, A.; ORT, D.R.; LONG, S.P. Photosynthesis, productivity, and yield of maize are not affected by open-air elevation of CO<sub>2</sub> concentration in the absence of drought. **Plant Physiology**, Rockville, v. 140, p. 779-790, 2006.

LOVATTO, P.A.; LEHNEN, C.R.; ANDRETTA, I.; CARVALHO, A.D.; HAUSCHILD, L. Meta-análise em pesquisas científicas: enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, p. 285-294, 2007.

MAROCO, J.P.; EDWARDS, G.E.; KU, M.S.B. Photosynthetic acclimation of maize to growth under elevated levels of carbon dioxide. **Planta**, Berlin, v. 2010, p. 115-125, 1999.

NEWMAN, Y.C.; SOLLENBERGER, L.E.; BOOTE, K.J.; ALLEN JUNIOR, L.H.; THOMAS, J.M.; LITTELL, R.C. Nitrogen fertilization affects Bahiagrass responses to elevated atmospheric carbon dioxide. **Agronomy Journal**, Madison, v. 98, p. 382-387, 2006.

OTTMAN, M.J.; KIMBALL, B.A.; PINTER, P.J.; WALL, G.W.; VANDERLIP, R.L.; LEAVITT, S.W.; LAMORTE, R.L.; MATTHIAS, A.D.; BROOKS, T.J. Elevated CO<sub>2</sub> increases sorghum biomass under drought conditions. **New Phytologist**, London, v. 150, p. 261-273, 2001.

PEREIRA, M.G.; GALVÃO, T.F. Heterogeneidade e viés de publicação em revisões sistemáticas. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, DF, v. 23, p. 775-778, 2014.

PORTEAUS, F.; HILL, J.; BALL, A.S.; PINTER, P.J.; KIMBALL, B.A.; WALL, G.W.; ADAMSEN, F.J.; HUNSAKER, D.J.; LAMORTE, R.L.; LEAVITT, S.W.; THOMPSON, T.L.; MATTHIAS, A.D.; BROOKS, T.J.; MORRIS, C.F. Effect of free air carbon dioxide enrichment (FACE) on the chemical composition and nutritive value of wheat grain and straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 149, p. 322-332, 2009.

PRADO, C.H.B.A.; CAMARGO-BORTOLIN, L.H.G.; CASTRO, E.; MARTINEZ, C.A. Leaf dynamics of *Panicum maximum* under future climatic changes. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 2, e0149620, 2016.

ROBINSON, E.A.; RYAN, G.D.; NEWMAN, J.A. A meta-analytical review of the effects of elevated CO<sub>2</sub> on plant-arthropod interactions highlights the importance of interacting environmental and biological variables. **New Phytologist**, London, v. 194, p. 321–336, 2012.

SAMARAKOON, A.B.; GIFFORD, R.M. Elevated CO<sub>2</sub> effects on water use and growth of maize in wet and drying soil. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 23, p. 53-62, 1996.

SANTOS, R.M.; VOLTOLINI, T.V.; ANGELOTTI, F.; AIDAR, S.T.; CHAVES, A.R.M. Productive and morphogenetic responses of buffel grass at different air temperatures and CO<sub>2</sub> concentrations. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 43, p. 404-409, 2014.

SAUVANT, D.; SCHMIDELY, P.; DAUDIN, J.J. Les méta-analyses des données expérimentales: applications en nutrition animale. **INRA Productions Animales**, Paris, v. 18, p. 63-73, 2005.

SCHWARZER, G.; CARPENTER, J.R.; RÜCKER, G. **Meta-Analysis with R**. 1. ed. Heidelberg: Springer International Publishing, 2015.

SOUZA, A.P.; GASPAR, M.; SILVA, E.A.; ULIAN, E.C.; WACLAWOVSKY, A.J.; NISHIYAMA JUNIOR, M.Y.; SANTOS, R.V.; TEIXEIRA, M.M.; SOUZA, G.M.; BUCKERIDGE, M.S. Elevated CO<sub>2</sub> increases photosynthesis, biomass and productivity, and modifies gene expression in sugarcane. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 31, p. 1116-1127, 2008.

STOKES, C.J.; INMAN-BAMBER, N.G.; EVERINGHAM, Y.L.; SEXTON, J. Measuring and modelling CO<sub>2</sub> effects on sugarcane. **Environmental Modelling and Software**, Oxford, v. 78, p. 68-78, 2016.

TRIGGS, J.M.; KIMBALL, B.A.; PINTER JUNIOR, P.J.; WALL, G.W.; CONLEY, M.M.; BROOKS, T.J.; LAMORTE, R.L.; ADAM, N.R.; OTTMAN, M.J.; MATTHIAS, A.D.; LEAVITT, S.W.; CERVENY, R.S. Free-air CO<sub>2</sub> enrichment effects on the energy balance and evapotranspiration of sorghum. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 124, p. 63-79, 2004.

WALL, G.W.; BROOKS, T.J.; ADAM, N.R.; COUSINS, A.B.; KIMBALL, B.A.; PINTER JUNIOR, P.J.; LAMORTE, R.L.; TRIGGS, J.; OTTMAN, M.J.; LEAVITT, S.W.; MATTHIAS, A.D.; WILLIAMS, D.G.; WEBBER, A.N. Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> improved *Sorghum* plant water status by ameliorating the adverse effects of drought. **New Phytologist**, London, v. 152, p. 231-248, 2001.

WATLING, J.R.; PRESS, M.C.; QUICK, W.P. Elevated CO<sub>2</sub> induces biochemical and ultrastructural changes in leaves of the C<sub>4</sub> cereal sorghum. **Plant Physiology**, Rockville, v. 123, p. 1143–1152, 2000.

WELZMILLER, J.T.; MATTHIAS, A.D.; WHITE, S.; THOMPSON, T.L. Elevated carbon dioxide and irrigation effects on soil nitrogen gas exchange in irrigated Sorghum. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 72, p. 393-401, 2008.

WILLIAMS, D.G.; GEMPKO, V.; FRAVOLINI, A.; LEAVITT, S.W.; WALL, G.W.; KIMBALL, B.A.; PINTER JUNIOR, P.J.; LAMORTE, R.; OTTMAN, M. Carbon isotope discrimination by *Sorghum bicolor* under CO<sub>2</sub> enrichment and drought. **New Phytologist**, London, v. 150, p. 285-293, 2001.

YU, J.; LI, R.; FAN, N.; YANG, Z.; HUANG, B. Metabolic pathways involved in carbon dioxide enhanced heat tolerance in Bermudagrass. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, art. 1506, 2017.

ZISKA, L.H.; BUNCE, J.A. Influence of increasing carbon dioxide concentration on the photosynthetic and growth stimulation of selected C<sub>4</sub> crops and weeds. **Photosynthesis Research**, The Hague, v. 54, p. 199-208, 1997.

ZISKA, L.H.; SICHER, R.C.; BUNCE, J.A. The impact of elevated carbon dioxide on the growth and gas exchange of three C<sub>4</sub> species differing in CO<sub>2</sub> leak rates. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 105, p. 74-80, 1999.



### 3 ELEVADA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> NÃO AFETA PRODUÇÃO DE BIOMASSA E O VALOR NUTRITIVO DE UMA GRAMÍNEA TROPICAL EM CURTO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO

#### Resumo

O aumento da concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) atmosférico é um dos aspectos causadores das mudanças climáticas, mas poucos estudos avaliam seus efeitos nas gramíneas tropicais utilizadas nas pastagens brasileiras, que são a principal fonte de alimento utilizada na atividade pecuária do país. Neste estudo, foram avaliadas a produção de forragem, características morfológicas, composição química e degradabilidade da matéria orgânica *in vitro* de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivada em contrastantes concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico. A forragem foi semeada em cada um dos doze anéis octagonais da instalação do tipo FACE (Free Air Carbon-dioxide Enrichment) localizada na área experimental da Embrapa Meio Ambiente em Jaguariúna, SP. Seis anéis foram mantidos em condição ambiente (Controle; concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico  $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ) e outros seis anéis foram enriquecidos com injeção de CO<sub>2</sub> puro para atingir a concentração alvo de  $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  (CO<sub>2</sub> Elevado). Antes do início do experimento, amostras de solo foram coletadas (0-0,10 m) para determinar a densidade e as concentrações elementar e isotópica de carbono (C) e nitrogênio (N), não sendo observadas diferenças entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). Setenta dias após a semadura, um corte de uniformização foi realizado e a intervalos regulares de 21 dias a forragem foi colhida entre janeiro e julho de 2016 e encaminhada para as análises laboratoriais. A produção de biomassa, assim como suas características morfológicas, composição química e degradabilidade da matéria orgânica *in vitro* não foram diferentes entre os tratamentos Controle e CO<sub>2</sub> Elevado ( $P > 0,05$ ), indicando que, em curto tempo de exposição, a *B. brizantha* não foi afetada pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Estes resultados estão de acordo com outros estudos que mostram que plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> são menos responsivas à elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico do que plantas de ciclo C<sub>3</sub>, muito provavelmente explicado por diferenças nos mecanismos fisiológicos envolvidos nos processos de fotossíntese que em plantas do tipo C<sub>4</sub> se encontram próximos da saturação já nas atuais concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico.

**Palavras-chave:** *Brachiaria* spp. CO<sub>2</sub> elevado. Mudanças climáticas. Produção de gases *in vitro*.

### 3.1 Introdução

O aumento da concentração atmosférica de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) devido principalmente a queima de combustíveis fósseis e ao desflorestamento é um dos causadores das mudanças climáticas e pode aumentar as taxas fotossintéticas de plantas, levando a uma maior produção de biomassa (HOFMOCKEL et al., 2011; DUMONT et al., 2015). Pode também afetar a composição do solo por aumentar a entrada de nutrientes via decomposição de resíduos culturais e serapilheira (GILL et al., 2006; NIBOYET et al., 2017). Além disto, concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> atmosférico têm o potencial de alterar a qualidade nutricional de várias culturas (PORTEAUS et al., 2009; MYERS et al., 2014).

As mudanças climáticas também possuem o potencial de impactar os ecossistemas de pastagens alterando sua produtividade e sazonalidade, o que pode interferir nas práticas empregadas para seu manejo (CHANG et al., 2017). Efeitos da elevação da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> vêm sendo investigados intensamente em plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>3</sub> enquanto que apenas alguns poucos estudos foram realizados com gramíneas tropicais de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub> (LARA; ANDREO, 2011).

De forma geral, as áreas de pastagens têm se expandido na América do Sul para atender à demanda crescente de produção de carne (LEE et al., 2017). O Brasil apresenta o maior rebanho de ruminantes, responsável por 15 % da produção mundial de carne, com aproximadamente 211 milhões de cabeças, ocupando área que varia de 160 a 220 milhões de hectares de pastagens (BARNEZE et al., 2014; CERRI et al., 2016; DICK et al., 2015; IBGE, 2012) em sua maioria (85% das pastagens do Cerrado) cultivadas com gramíneas tropicais do gênero *Brachiaria* spp. (GRACINDO et al., 2014). A pecuária vem se expandido mais rapidamente que outros setores da agropecuária (STEINFELD; WASSENAAR, 2007) e está associada a importantes questões ambientais como desflorestamento, mudanças climáticas, poluição do ar e água e perda de biodiversidade (TILMAN et al., 2011). Portanto, é fundamental que esta importante atividade econômica busque práticas mais sustentáveis (GERBER et al., 2013; CERRI et al., 2016; FIGUEIREDO et al., 2017).

As respostas das pastagens frente às mudanças climáticas são complexas devido às interações com questões de disponibilidades de água e práticas de manejo (CHANG et al., 2017). Alguns autores observaram que a produtividade das pastagens deve aumentar e sua qualidade nutricional diminuir (MILCHUNAS et al., 2005; MUELLER et al., 2016).

Embora a atividade pecuária no Brasil seja uma das maiores do mundo, pouca informação está disponível acerca das possíveis alterações na produtividade e qualidade nutricional das forragens devido ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Tais informações são essenciais para desenvolver estratégias visando adaptar o setor pecuário aos futuros cenários de mudanças climáticas.

O objetivo deste estudo foi investigar as alterações nos teores de C e N do solo, na produtividade e qualidade nutricional de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivada por curto período de tempo (9 meses) em condições de elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. A hipótese é que os teores de C e N serão alterados, ocorrerá um aumento na produção de biomassa de *B. brizantha* e sua qualidade nutricional será reduzida quando cultivada em um cenário de mudança climática de elevação na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

## **3.2 Material e Métodos**

### **3.2.1 Local e tratamentos experimentais**

A instalação de enriquecimento de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ao ar livre (“Free Air Carbon-Dioxide Enrichment”, FACE) da área experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Unidade Embrapa Meio Ambiente, localizada na cidade de Jaguariúna no Estado de São Paulo (22°43’S, 47°01’O, a 570 m de altitude) foi utilizada. O clima da região é definido como subtropical úmido, Cfa na classificação de Köppen.

Conforme descrito por Ghini et al. (2015), a instalação tem doze anéis octogonais (10 m de diâmetro) distribuídos em uma área de 7 ha, com um delineamento em blocos aleatorizados, com dois tratamentos (Figura 3.1). Seis anéis, que representam o tratamento de controle, foram mantidos em condições naturais (atmosfera atual de CO<sub>2</sub>; Controle) e os outros seis anéis receberam fluxo de CO<sub>2</sub> puro, fornecido por um contêiner de 20 t de CO<sub>2</sub>, para atingir a concentração alvo ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub> Elevado) diariamente durante o período de luz solar.

Sensores ambientais (analisadores de gás de infravermelhos – IRGA - para medir a concentração de CO<sub>2</sub>, anemômetros, sensores de temperatura do ar e do solo e umidade, radiação solar e precipitação) foram adaptados para módulos ZigBee e cada segmento do octógono possuía válvulas de gás individuais para compensar a direção do vento, além de um dispositivo de controle de fluxo para compensar as alterações de velocidade de vento. As concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico nos anéis CO<sub>2</sub> Elevado foram mantidas dentro da

concentração alvo em 61,1% do período experimental. Os dados climatológicos da área experimental (precipitação, temperatura do ar e umidade relativa) foram obtidos diariamente em 3 estações meteorológicas (modelo WXT520) instaladas dentro dos anéis número 1, 4 e 8.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 6 blocos relativos à localização geográfica e 2 tratamentos (Controle e CO<sub>2</sub> Elevado) (Figura 3.1).

**Figura 3.1** - Delineamento experimental: blocos casualizados (seis blocos) com dois tratamentos (seis parcelas com concentração de CO<sub>2</sub> ambiente e seis parcelas com concentração de CO<sub>2</sub> elevada). Fonte: Adaptado de Google Maps



O solo do local é caracterizado como Latossolo Vermelho distroférico típico de acordo com a classificação brasileira de solos (MALUF et al., 2015). O solo é moderadamente ácido com aproximadamente 50% de saturação por bases (V) sem altas concentrações de alumínio e as características químicas de fertilidade eram similares entre as parcelas dos tratamentos CO<sub>2</sub> Elevado e Controle (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1** – Propriedades químicas do solo (camadas 0-0,10 e 0,10-0,20 m) na área experimental em concentrações contrastantes de CO<sub>2</sub> atmosférico

| Tratamentos             | Camadas<br>(m) | pH<br>(H <sub>2</sub> O) | H+Al<br>-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ----- | SB  | CTC | V<br>(%) | MO<br>dag kg <sup>-1</sup> | Zn                             | Fe   | Mn   | Cu  | B   | S   |
|-------------------------|----------------|--------------------------|---|-----|-----|----------|----------------------------|--------------------------------|------|------|-----|-----|-----|
|                         |                |                          |   |     |     |          |                            | -----mg dm <sup>-1</sup> ----- |      |      |     |     |     |
| Controle                | 0 – 0,10       | 5,4                      | 4,5   | 4,9 | 9,4 | 51,2     | 2,4                        | 1,8                            | 79,8 | 20,8 | 0,9 | 0,2 | 8,6 |
|                         | 0,10 – 0,20    | 5,6                      | 4   | 4,8 | 8,8 | 54,1     | 2,1                        | 1,6                            | 61   | 18,5 | 0,8 | 0,2 | 8,4 |
| CO <sub>2</sub> Elevado | 0 – 0,10       | 5,2                      | 5,1   | 4,2 | 9,3 | 45,9     | 2,5                        | 1,7                            | 76,9 | 16   | 0,9 | 0,2 | 10  |
|                         | 0,10 – 0,20    | 5,3                      | 4,5   | 4,2 | 8,7 | 48,3     | 2,3                        | 1,4                            | 70,3 | 13,8 | 0,8 | 0,2 | 8,1 |

Tratamentos: Concentrações contrastantes de CO<sub>2</sub> atmosférico – Controle –  $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> Elevado –  $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub>; SB – Soma de bases; CTC – Capacidade de troca de cátions; V – Porcentagem de saturação por bases; MO – Teor de matéria orgânica. Adaptado de Maluf et al. (2015).

### 3.2.2 Amostragem e análises de solo

Antes da semeadura da pastagem, duas amostras de solo do interior de cada parcela (0,10 m de profundidade) foram coletadas com estrutura indeformada através de um anel (cilindro metálico) de volume conhecido; uma amostra foi utilizada para o cálculo da densidade aparente do solo e a outra amostra foi utilizada para a determinação das concentrações de C e N total ( $\text{g kg}^{-1}$ ), teores isotópicos e os estoques de C e N ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ). A densidade foi determinada em amostra de solo seca em estufa com ventilação de ar ( $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 72h) e calculada de acordo com a equação:

$$\rho = m/v \quad \text{Equação 1}$$

onde:  $\rho$  = densidade da amostra do solo ( $\text{g m}^{-3}$ );  $m$  = massa amostra seca a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  (g);  $v$  = volume do cilindro ( $\text{cm}^3$ ).

Para as demais análises, outra amostra de cada anel foi seca ao ar, homogeneizada através de moagem e passada em peneira de 0,15 mm. Sub-amostras foram obtidas por quarteador de Jones e as concentrações de C e N total ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e as composições isotópicas do solo foram determinadas no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA/USP, através da combustão a seco das amostras sob fluxo contínuo de hélio (He), em um analisador elementar (Carlo Erba, CH-1110; Milão, Itália), acoplado ao espectrômetro de massas Thermo Scientific (Delta Plus; Bremen, Alemanha). Os gases ( $\text{CO}_2$  e  $\text{N}_2$ ), resultantes da combustão das amostras, foram analisados em duplicatas, com erro analítico de 0,3‰ e 0,5‰ para  $\text{CO}_2$  e  $\text{N}_2$ , respectivamente. Na quantificação dos teores elementares de C e N ( $\text{g kg}^{-1}$ ) foi utilizado um padrão interno de solo e para as razões isotópicas ( $\delta\text{‰}$ ) o padrão internacional VPDB para C e ar atmosférico para N.

Os estoques de C e N ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) foram calculados multiplicando-se os teores de C e N pela densidade do solo e pela camada de solo amostrada, conforme a equação:

$$E = \rho \times z \times [X] \quad \text{Equação 2}$$

onde:  $E$  = estoque de carbono ou nitrogênio total do solo ( $\text{Mg ha}^{-1}$ );  $\rho$  = densidade aparente do solo ( $\text{g m}^{-3}$ );  $z$  = espessura da camada amostrada (m);  $[X]$  = teor de carbono ou nitrogênio do solo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

As razões isotópicas expressas pela notação delta ( $\delta$ ), em partes por mil (‰), dos padrões internacionais, VPDB para carbono e ar atmosférico para nitrogênio, foram calculadas pela equação 3:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ou } \delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = [(R \text{ amostra}/R \text{ padrão}) - 1] \times 10^3 \quad \text{Equação 3}$$

onde: R amostra e R padrão são as relações  $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$  ou  $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$  da amostra e do padrão. Vienna PeeDee Belemnite (VPDB) e N atmosférico foram utilizados como padrões para  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , respectivamente.

### 3.2.3 Estabelecimento da forragem

Em outubro de 2015 a forragem (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) foi semeada na quantidade de  $6 \text{ kg ha}^{-1}$  (VC = 72%) em parcelas de  $5,8 \text{ m}^2$  ( $5,3 \times 1,1 \text{ m}$ ), na entrelinha da cultura de café (*Coffea arabica* cv. Catuí Vermelho IAC 144) dentro de cada anel do “FACE” para estabelecimento dos estandes de coleta (Figura 3.2).

**Figura 3.2** - Semeadura de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e demarcações das áreas de coleta de amostra



Na semeadura da forragem realizou-se a adubação fosfatada e potássica de estabelecimento nas quantidades de  $82 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e  $41 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ , com superfosfato triplo e cloreto de potássio, respectivamente. Após 30 dias foi realizada a adubação nitrogenada na quantidade de  $40 \text{ kg ha}^{-1}$  de N com nitrato de amônio

(125 kg ha<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>). A adubação de forragens não é uma prática comumente utilizada no Brasil (CERRI et al., 2016; FIGUEIREDO et al., 2017), entretanto NPK foi aplicado para eliminar qualquer restrição nutricional que pudesse mascarar o efeito do enriquecimento atmosférico de CO<sub>2</sub>.

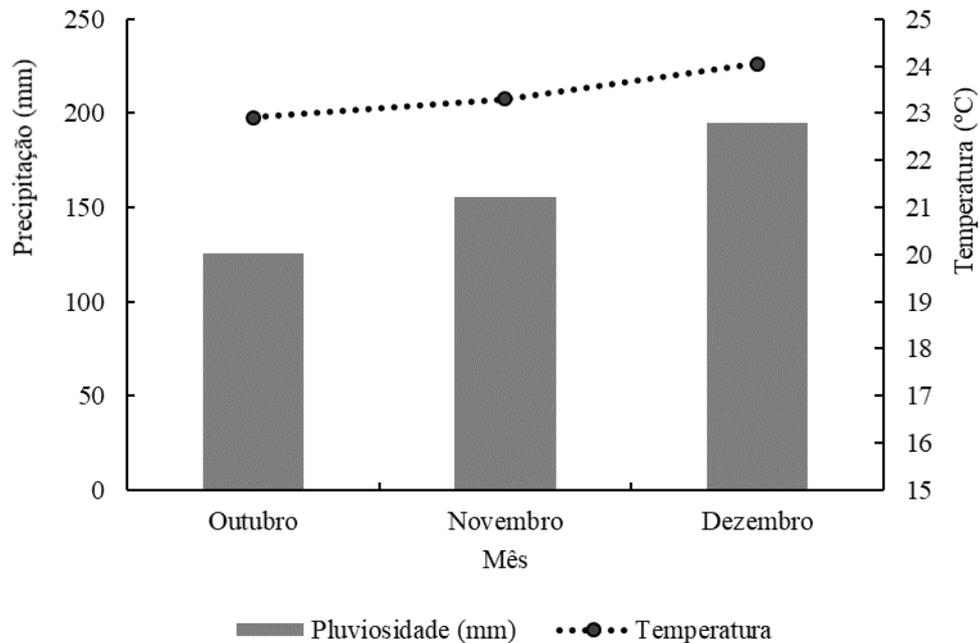
Setenta dias após a semeadura (janeiro de 2016), o corte de uniformização (0,20 m acima do solo; altura de resíduo) da forragem foi realizado (Figura 3.3).

**Figura 3.3** - Área de coleta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu antes e após o corte de uniformização



Neste período de setenta dias, as condições climáticas foram 23,5 °C de temperatura média, 476 mm de precipitação acumulada (Figura 3.4).

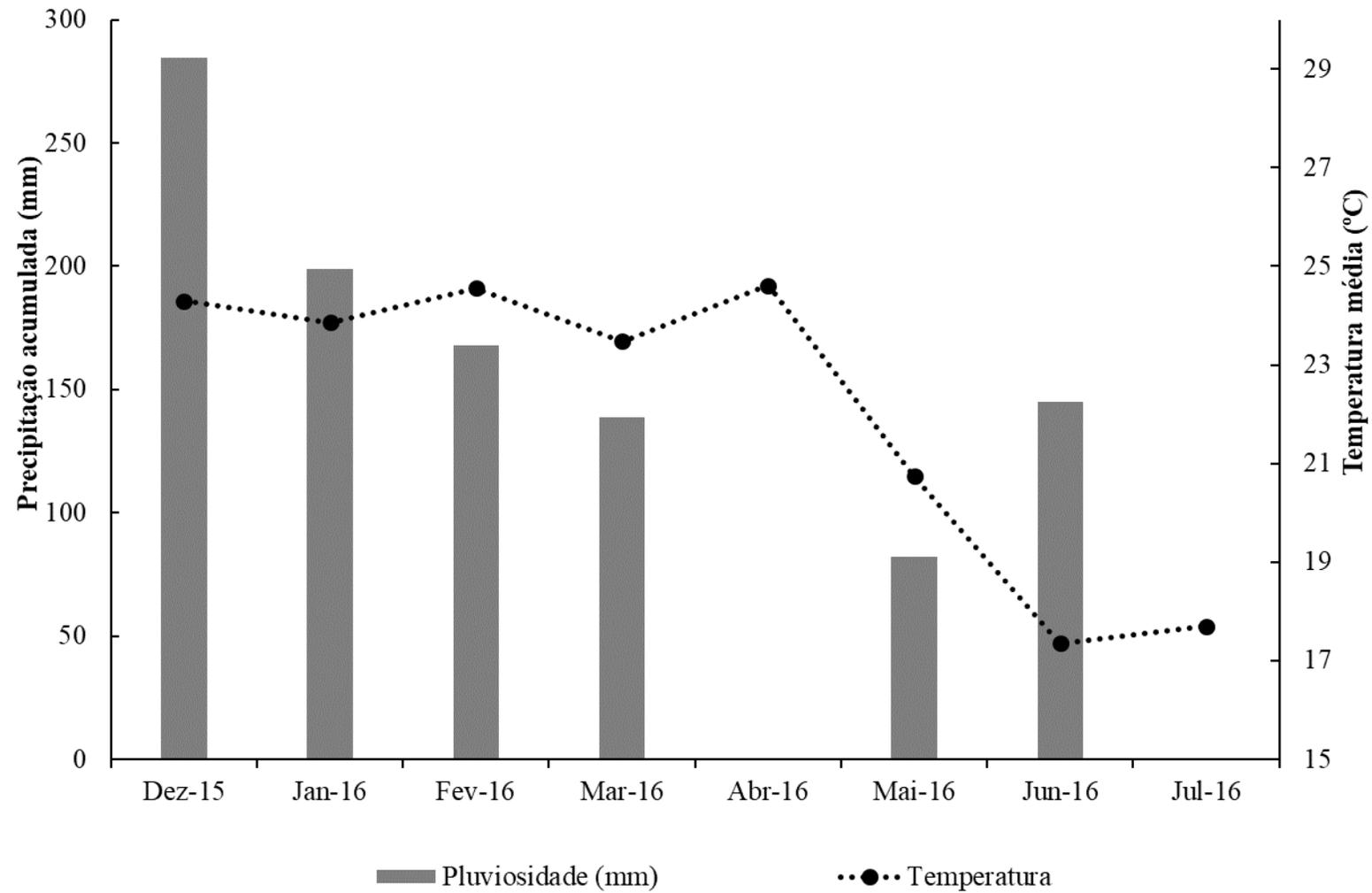
**Figura 3.4** - Precipitação acumulada e temperatura média mensal durante os setenta dias entre a semeadura e o corte de uniformização



### 3.2.4 Colheitas de forragem

Após a uniformização, adotou-se o intervalo de 21 dias e a altura de resíduo de 20 cm para realizar as colheitas da forragem, visando uniformizar o estágio fisiológico da forrageira comumente utilizada em condições tropicais (COELHO et al., 2014; SANTOS et al., 2014). Entre janeiro e julho de 2016, quando a injeção de CO<sub>2</sub> no sistema FACE foi desligada e o experimento interrompido, foram realizadas dez colheitas da biomassa disponível para pastoreio nas datas de 12/01/2016, 02/02/2016, 23/02/2016, 15/03/2016, 04/04/2016, 25/04/2016, 16/05/2016, 06/06/2016, 27/06/2016 e 18/07/2016. As datas compreenderam períodos contrastantes de pluviosidade (Figura 3.5).

**Figura 3.5** - Precipitação acumulada e temperatura média mensal durante os meses de colheita de biomassa



Em cada data de colheita, após medir a altura média do dossel, duas amostras de forragem (0,25 m<sup>2</sup>) foram colhidas para a determinação da produção da biomassa e suas características. As amostras foram divididas em duas partes iguais, mantidas em sacos de papel e pesadas em balança analítica. Uma porção permaneceu intacta (fração total) e a outra porção foi separada em colmo e folhas (fração colmo e fração folha) para determinação de suas proporções (%). Depois de secas em estufa (60 °C com ventilação de ar) por 72 h, as frações foram pesadas novamente para determinação massa seca. As amostras foram moídas (1 mm) e armazenadas em freezer (4 °C) até serem analisadas.

### **3.2.5 Composição química da forragem**

No Laboratório de Nutrição Animal do CENA/USP, as amostras foram analisadas com base no teor de matéria seca (MS) e, assim como os teores de matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) foram realizadas de acordo com AOAC (2011). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) foram determinados sequencialmente segundo a metodologia proposta por Van Soest et al. (1991) e adaptada por Mertens (2002) conforme AOAC (2011) utilizando-se um analisador de fibras (Tecnal TE-149, Piracicaba, Brasil) e sacos de fibra Ankom ® F57 (Macedon, Nova York, Estados Unidos).

Após serem moídas (0,15 mm), alíquotas das amostras foram analisadas quanto ao conteúdo de C, N e enxofre (S) em analisadores elementares. Os teores elementares de C e N foram determinados no Laboratório de Ecologia Isotópica (Carlo Erba, CH-1110; Milão, Itália) e o teor de S no Laboratório de Ciclagem de Nutrientes (LECO, S144-DR, Saint Joseph, Estados Unidos) do CENA/USP. Na análise dos teores de C e N, padrão interno de material vegetal (folhas de cana-de-açúcar), e na análise de S, padrão certificado LECO (Trigo 502-092), foram empregados.

### **3.2.6 Degradabilidade da matéria orgânica e produção de gases *in vitro***

Para avaliar a degradabilidade do material e o potencial de produção de metano entérico, ensaios *in vitro* de produção de gases (aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CEUA-CENA/USP Protocolo N°011/2016) foram realizados, seguindo metodologia de Theodorou et al. (1994) adaptada ao sistema semi-automático (MAURICIO et al., 1999; BUENO et al., 2005) utilizando transdutor de pressão e data logger (Pressure Press Data 800, LANA, CENA/USP,

Piracicaba, Brasil). As amostras de forragem foram pesadas (0,5 g) em sacos de fibra Ankom® F57 e incubadas em garrafas de vidro de 160 mL, juntamente com 50 mL de solução de incubação (tampão de Menke) e 25 mL de inóculo ruminal (frações líquida e sólida, na proporção 50:50, coletadas de ovinos Santa Inês, machos, castrados com cânula ruminal e alimentados em pastagem de gramíneas tropicais). O conteúdo ruminal de dois animais foi utilizado para a preparação de cada um dos três diferentes inóculos empregados neste ensaio. As garrafas de vidro foram imediatamente seladas com rolhas de 20 mm (Bellco Glass Inc, Vineland, Nova Jersey, Estados Unidos), agitadas manualmente e incubadas a 39 °C em estufa de circulação forçada de ar (Marconi MA35, Piracicaba, SP, Brasil) por 24 horas. O mesmo procedimento foi utilizado para amostras de padrão interno (feno de Tifton, *Cynodon dactylon*) e branco (garrafas sem substrato, contendo apenas inóculo e meio de incubação) para corrigir a produção total de gás do inóculo. A pressão de gás foi medida em cada garrafa nos tempos 4, 8, 12 e 24 horas, após a incubação, para se determinar a produção total de gases utilizando a equação:

$$V = 7,365 \times p \quad \text{Equação 4}$$

onde: V é o volume de gás (mL) e p é a pressão (psi) medida (ARAÚJO et al., 2011).

Durante cada medida da pressão interna em cada garrafa, uma alíquota de 2,5 mL de gás foi coletada utilizando seringas de 5 mL (Becton-Dickson Indústria Cirúrgica Ltda, Curitiba, Brasil) e armazenada em tubos Vacuntainer® (10 mL) para posterior análise da concentração de metano CH<sub>4</sub> em cromatógrafo a gás (Shimadzu GC-2014, Tóquio, Japão), conforme descrito por Soltan et al. (2012). Também durante cada medição de pressão, uma alíquota de gás foi coletada e utilizada para determinação da razão isotópica do C no CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> ( $\delta^{13}\text{C-CH}_4$  e  $\delta^{13}\text{C-CO}_2$ ) em espectrômetro (*cavity ring down*) (Picarro G2201-i, Santa Clara, Califórnia, Estados Unidos).

A degradabilidade verdadeira da matéria orgânica (DVMO) foi determinada de acordo com Blümmel et al. (1997) utilizando solução de detergente neutro (SDN). Ao final das 24h de incubação, os sacos de fibra Ankom® F57 (com o conteúdo de amostra não degradada) foram retirados das garrafas e imediatamente imersos em água a -4°C para interromper o processo de fermentação microbológica. Todos os sacos de fibra foram tratados com solução SDN por uma hora a 90 °C, lavados com água destilada e então acetona.

A DVMO foi determinada como a diferença entre a quantidade de MO incubada e seu resíduo não degradado. O fator de partição (FP) foi calculado como a relação entre DVMO (mg) e o volume de gás (mL) após 24 horas de incubação (BLÜMMEL et al., 1997).

### 3.2.7 Análise estatística

O software SAS ® v.9.4 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) foi utilizado para a análise estatística dos dados obtidos. A análise de variância foi realizada utilizando-se o procedimento PROC GLM considerando bloco e tratamento como efeitos fixos e a pluviosidade acumulada em cada data de colheita como covariável. As médias foram comparadas adotando-se 5% como nível de significância. Análise de correlação (PROC CORR) foi empregada para verificar as relações entre as concentrações de CO<sub>2</sub>, produção de biomassa, características morfológicas, composição química e as variáveis de produção de gases e degradabilidade da matéria orgânica *in vitro*.

### 3.3 Resultados

Em relação às análises realizadas nas amostras de solo coletadas antes da semeadura da forragem (Tabela 3.2), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para as concentrações de C e N total (g kg<sup>-1</sup>), relação C:N, teores isotópicos (‰) e os estoques de C e N (Mg ha<sup>-1</sup>) (P > 0,05).

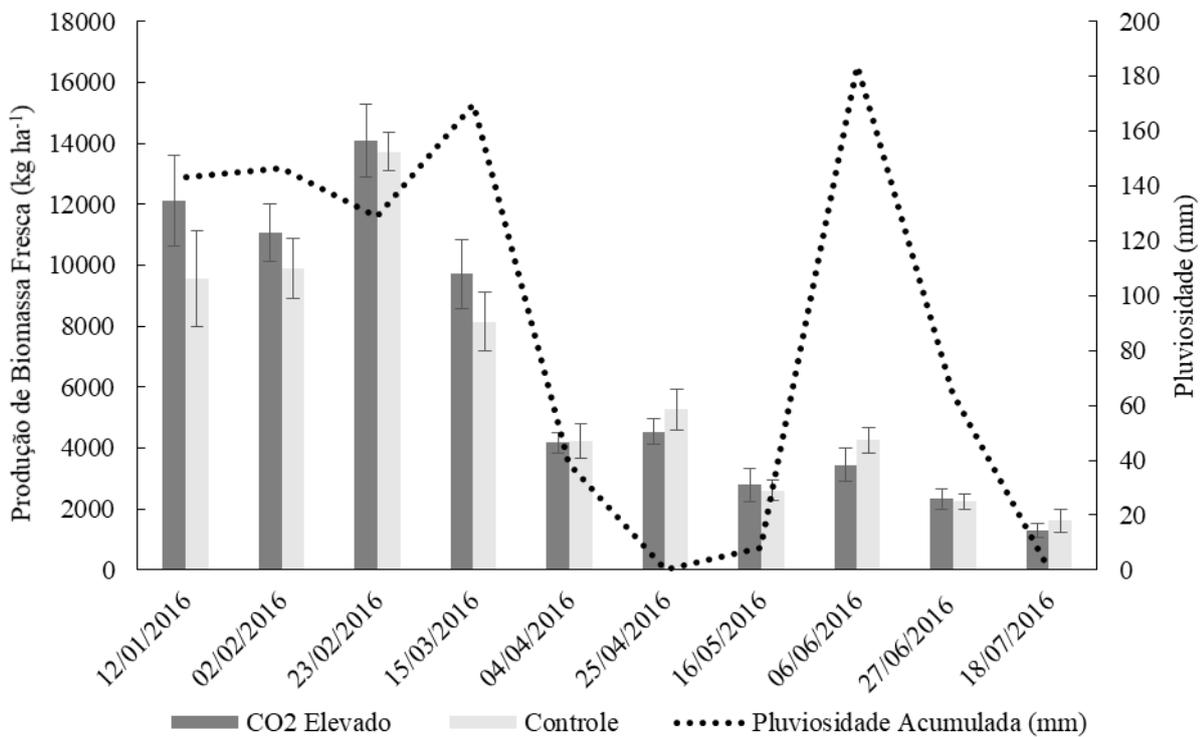
**Tabela 3.2** - Concentrações de C e N total, relação C:N, estoques de C e N e teores isotópicos nas amostras de solo (0,10 m de profundidade) dos diferentes tratamentos, antes da semeadura da forragem

| Parâmetros                       | Tratamentos     |                                | Valor p |
|----------------------------------|-----------------|--------------------------------|---------|
|                                  | Controle (n=12) | CO <sub>2</sub> Elevado (n=12) |         |
| C total (g kg <sup>-1</sup> )    | 2,01 ± 0,25     | 1,85 ± 0,31                    | 0,2980  |
| N total (g kg <sup>-1</sup> )    | 0,15 ± 0,02     | 0,13 ± 0,01                    | 0,2848  |
| C:N                              | 13,74 ± 0,60    | 13,96 ± 0,57                   | 0,5482  |
| Estoque N (Mg ha <sup>-1</sup> ) | 1,69 ± 0,29     | 1,48 ± 0,15                    | 0,0895  |
| Estoque C (Mg ha <sup>-1</sup> ) | 23,17 ± 3,71    | 20,56 ± 2,19                   | 0,1224  |
| δ <sup>13</sup> C (‰)            | -16,62 ± 0,87   | -17,14 ± 0,79                  | 0,2752  |
| δ <sup>15</sup> N (‰)            | 7,30 ± 0,45     | 7,33 ± 0,33                    | 0,8857  |

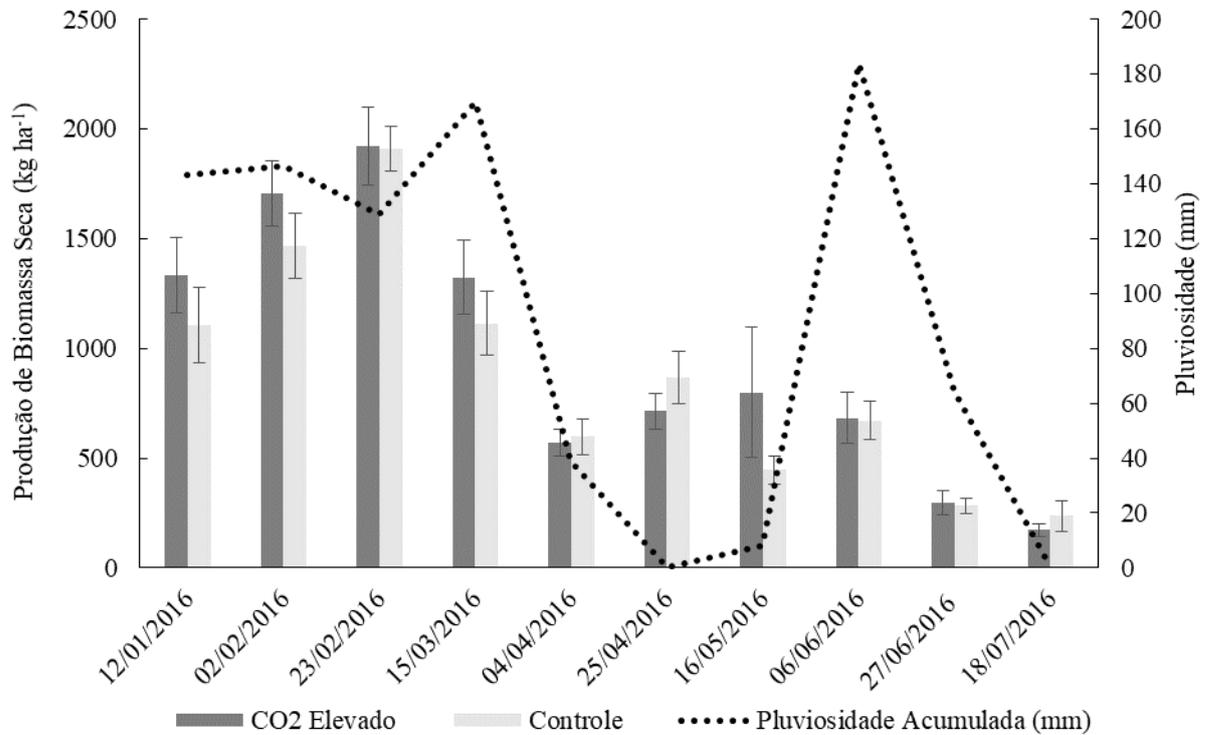
Médias ± erro padrão da média; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> (≈ 550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), Controle – Condições ambientais (≈ 390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>).

As médias de produção de biomassa fresca (Figura 3.6), biomassa seca (Figura 3.7), altura média (Figura 3.8), teores de C total (Figura 3.9) e N total (Figura 3.10), relação C:N (Figura 3.11) e o teor de S total (Figura 3.12) de *B. brizantha* ao longo do período de colheitas não foram afetadas pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico ( $P > 0,05$ ).

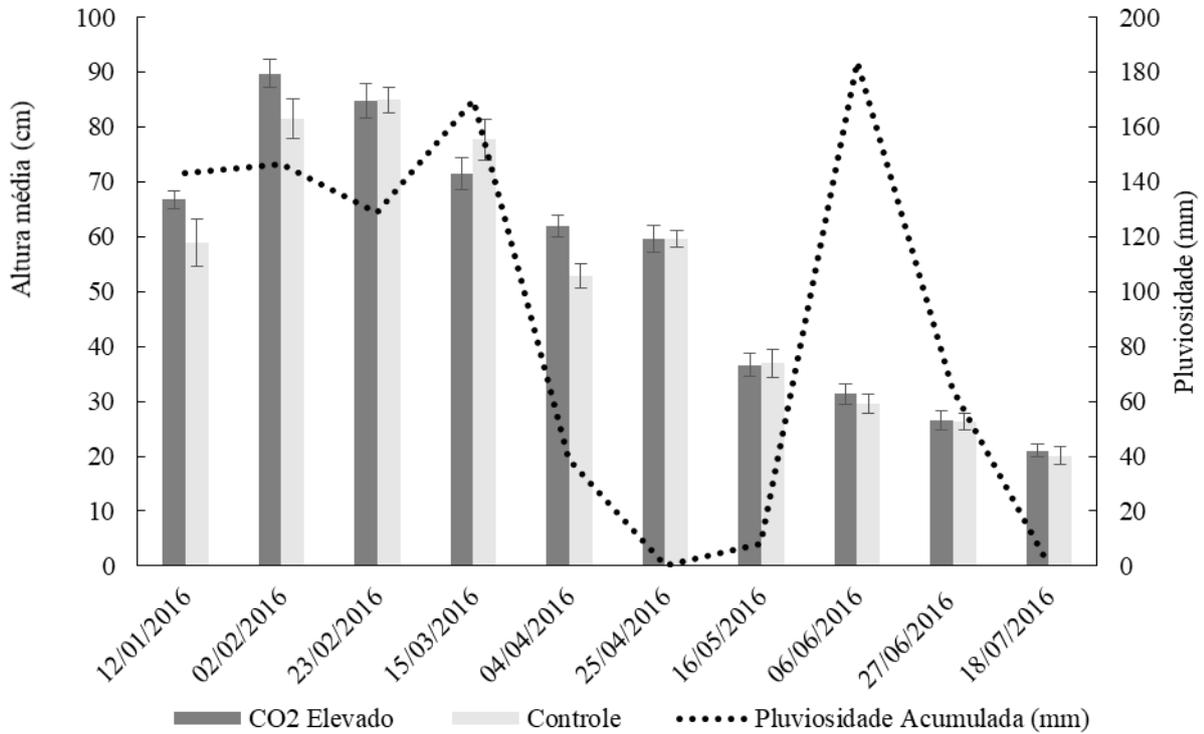
**Figura 3.6** – Produção de biomassa (massa fresca) e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub>), Controle – Condições ambientais ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub>). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



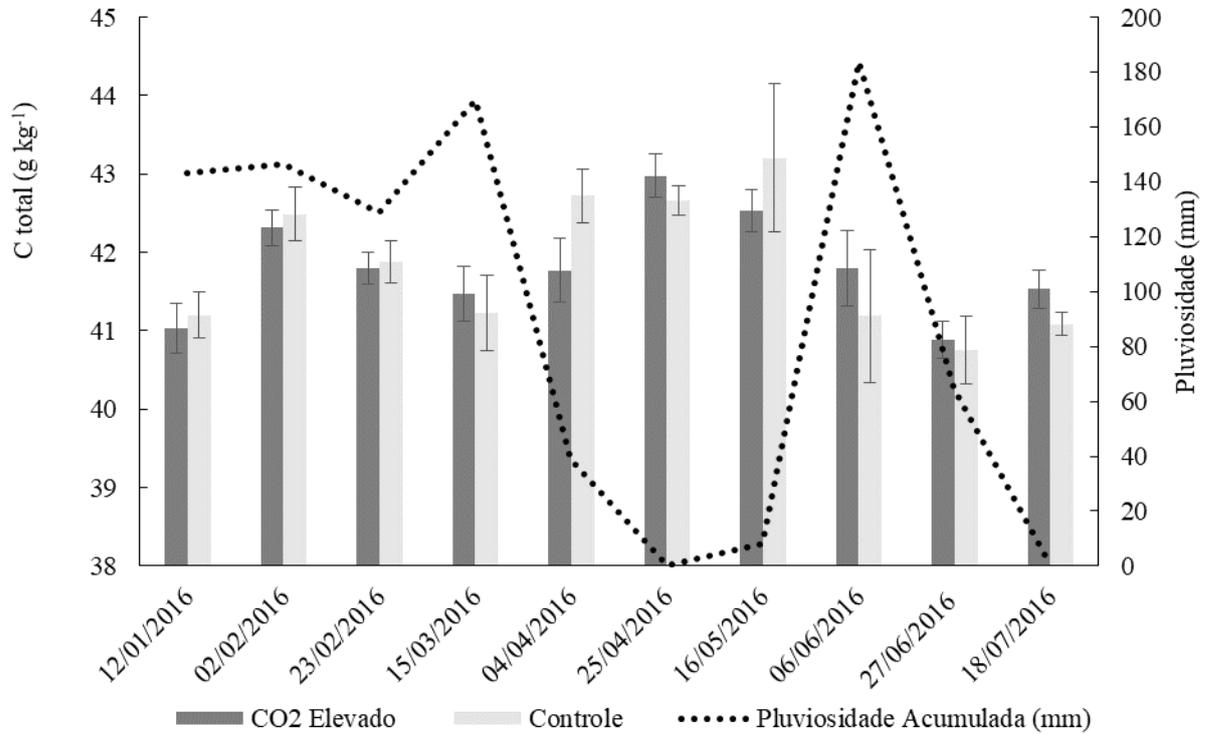
**Figura 3.7** – Produção de biomassa (massa seca) e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ), Controle – Condições ambientais ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



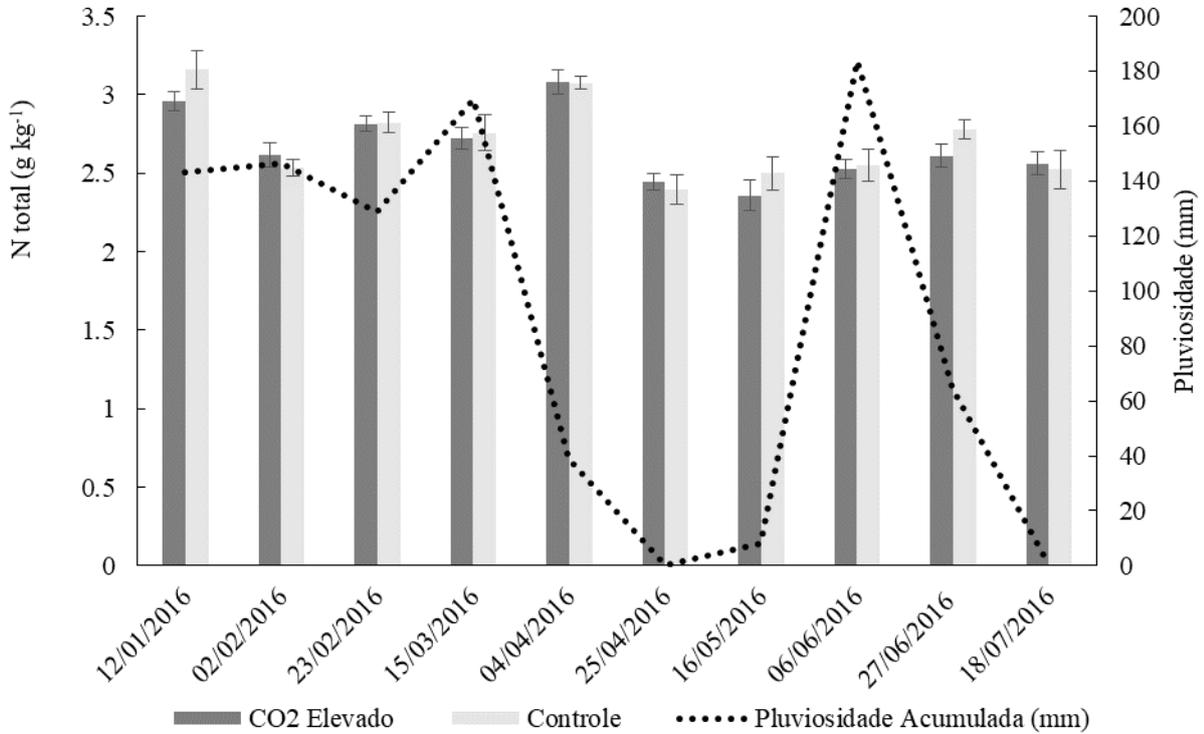
**Figura 3.8** – Altura média e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ), Controle – Condições ambientais ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



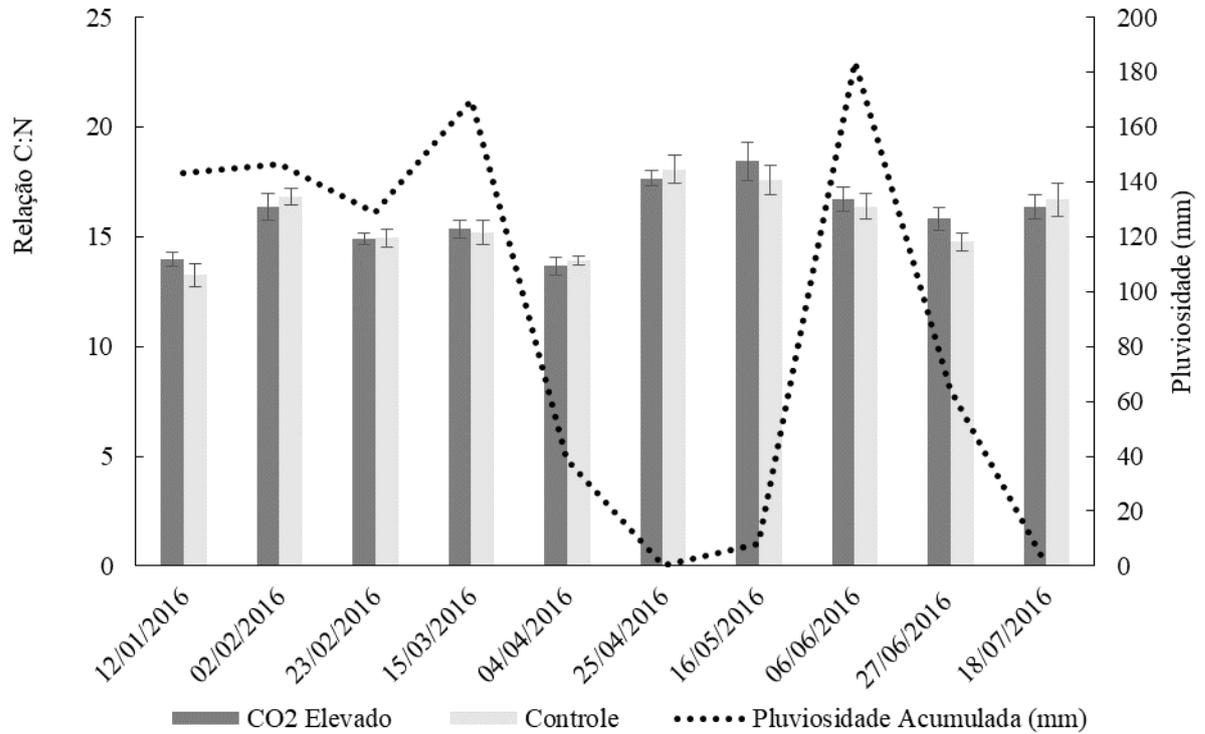
**Figura 3.9** – Teor de C total e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ), Controle – Condições ambientais ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



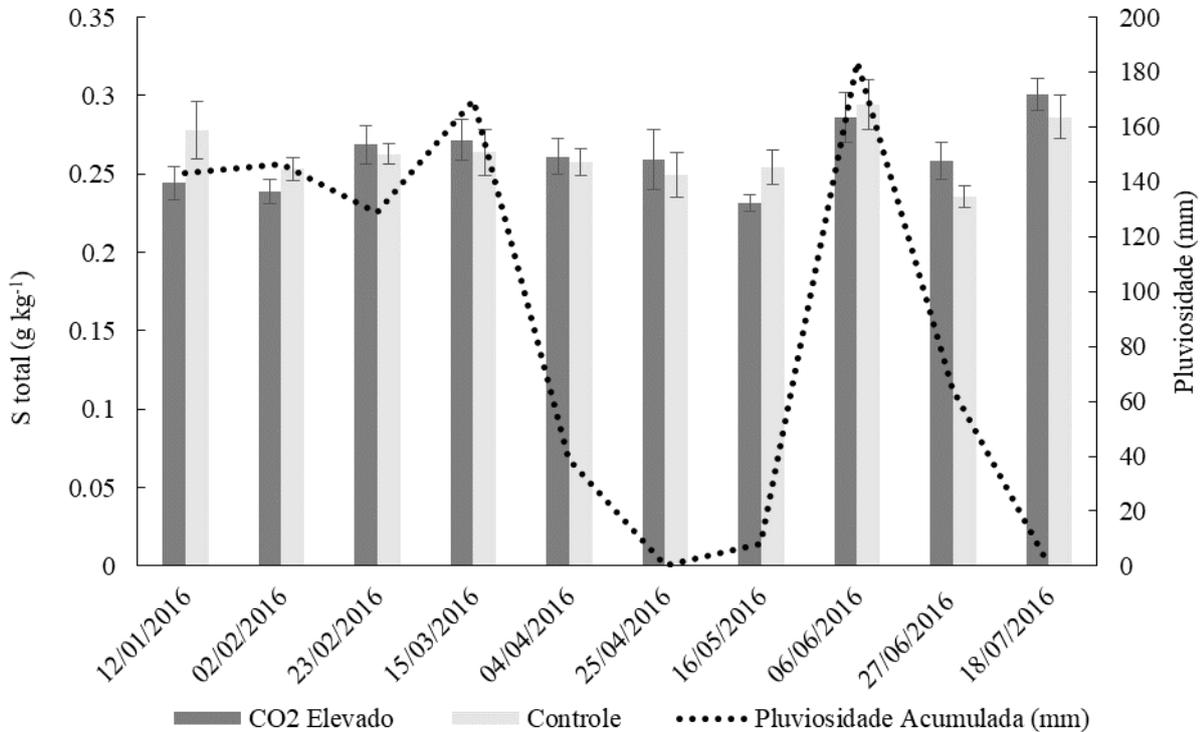
**Figura 3.10** – Teor de N total e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ), Controle – Condições ambientais ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



**Figura 3.11** – Relação C:N e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ), Controle – Condições ambientais ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



**Figura 3.12** – Teor de S total e pluviosidade acumulada durante o período de colheitas; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ), Controle – Condições ambientais ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



Também não foram observados efeitos significativos ( $P > 0,05$ ) das diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico avaliadas nas médias das características morfológicas, composição química, degradabilidade da matéria orgânica e produção de gases *in vitro* de *B. brizantha* durante o período de colheitas (Tabela 3.3), refutando a hipótese de que a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico afetaria a composição química e influenciaria a qualidade nutricional de *Brachiaria* spp.

**Tabela 3.3** - Características morfológicas, composição química, razões isotópicas, degradabilidade e produção de gases *in vitro* de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em concentrações contrastantes de CO<sub>2</sub> atmosférico

| Parâmetros                                | Tratamentos      |                                 | Valor p |
|---|------------------|---------------------------------|---------|
|   | Controle (n=120) | CO <sub>2</sub> Elevado (n=120) |         |
| Folha (%)                                 | 71,5 ± 1,19      | 68,3 ± 1,27                     | 0,0671  |
| Colmo (%)                                 | 28,4 ± 1,19      | 31,6 ± 1,27                     | 0,0671  |
| Folha:Colmo                               | 3,4 ± 0,24       | 2,9 ± 0,26                      | 0,2349  |
| MS (g kg <sup>-1</sup> )                  | 951,4 ± 1,48     | 950,2 ± 1,53                    | 0,5914  |
| MO (g kg <sup>-1</sup> MS)                | 875,5 ± 1,70     | 875,3 ± 1,75                    | 0,9259  |
| PB (g kg <sup>-1</sup> MS)                | 162,9 ± 2,53     | 161,8 ± 2,85                    | 0,8081  |
| FDN (g kg <sup>-1</sup> MS)               | 663,8 ± 5,56     | 664,3 ± 8,41                    | 0,9595  |
| FDA (g kg <sup>-1</sup> MS)               | 369,5 ± 5,00     | 381 ± 5,23                      | 0,1067  |
| LIG (g kg <sup>-1</sup> MS)               | 60,1 ± 2,07      | 64,1 ± 2,08                     | 0,1807  |
| MOVD (g kg <sup>-1</sup> )                | 573,5 ± 16,60    | 585,3 ± 85,81                   | 0,7837  |
| PG (mL g <sup>-1</sup> MOVD)              | 128,3 ± 30,62    | 94,5 ± 1,22                     | 0,1540  |
| CH <sub>4</sub> (mL g <sup>-1</sup> MOVD) | 5,77 ± 1,17      | 4,3 ± 0,13                      | 0,1344  |
| CH <sub>4</sub> (%)                       | 4,59 ± 0,13      | 4,46 ± 0,11                     | 0,5246  |
| δ <sup>13</sup> C-CH <sub>4</sub> (‰)     | -59,3 ± 1,11     | -58,9 ± 1,11                    | 0,7910  |
| δ <sup>13</sup> C-CO <sub>2</sub> (‰)     | -20,1 ± 0,86     | -19,1 ± 0,43                    | 0,3154  |
| FP  | 2,3 ± 0,07       | 2,6 ± 0,42                      | 0,5721  |

Médias ± erro padrão da média; MO – Matéria orgânica; PB – Proteína bruta; aFDNom – Fibra em detergente neutro; FDAom – Fibra em detergente ácido; LIGsa - Lignina; MOVD – Matéria orgânica verdadeiramente degradada; PG – Produção total de gases; CH<sub>4</sub> - metano; δ<sup>13</sup>C -CH<sub>4</sub> – composição isotópica do CH<sub>4</sub>; δ<sup>13</sup>C -CO<sub>2</sub> – Composição isotópica do CO<sub>2</sub>; FP – Fator de partição; Tratamentos: CO<sub>2</sub> Elevado – fertilização de CO<sub>2</sub> (≈ 550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), Controle – Condições ambientais (≈ 390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>).

A análise de correlação entre as variáveis avaliadas (Tabela 3.4) mostrou que a produção de matéria seca apresentou correlação positiva com altura, relação folha:colmo e teor de FDA, enquanto apresentou correlação negativa com teor de LIG ( $P < 0,05$ ). Altura apresentou correlação positiva com a relação folha:colmo e negativa com os teores de LIG e C e produção de  $CH_4$  ( $P < 0,05$ ). A relação folha:colmo apresentou correlação negativa com o teor de LIG e a produção de  $CH_4$  ( $P < 0,05$ ). Teor de FDN apresentou correlação positiva com teor de FDA e produção de  $CH_4$  e negativa com os teores de PB e S ( $P < 0,05$ ). Teor de FDA apresentou correlação positiva com o teor de LIG e negativa com os teores de PB e N ( $P < 0,05$ ). Teor de LIG apresentou correlação positiva à PG e  $CH_4$  e negativa ao teor de N ( $P < 0,05$ ). Teor de PB apresentou correlação positiva com o teor de N e negativa com o de C e produção de  $CH_4$  ( $P < 0,05$ ). Correlação negativa entre produção de  $CH_4$  e o teor de S foi observada ( $P < 0,05$ ). Correlações positivas foram observadas entre a DVMO, FP e teor de S ( $P < 0,05$ ), que também apresentou correlação positiva com o FP e teor de N ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 3.4** – Coeficientes de Correlação de Pearson entre concentrações de CO<sub>2</sub>, produção de biomassa seca (MS), altura, relação folha:colmo, teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), proteína bruta (PB), produção total de gases (PG), metano (CH<sub>4</sub>) e degradabilidade da matéria orgânica *in vitro* (DVMO), fator de partição (FP), teores de carbono (C), nitrogênio (N) e enxofre (S)

| Parâmetros      | CO <sub>2</sub> | MS     | Altura | Folha:Colmo | FDN    | FDA    | LIG    | PB     | PG    | CH <sub>4</sub> | DVMO  | FP    | C     | N     |
|-----------------|-----------------|--------|--------|-------------|--------|--------|--------|--------|-------|-----------------|-------|-------|-------|-------|
| MS              | 0,04            |        |        |             |        |        |        |        |       |                 |       |       |       |       |
| Altura          | 0,03            | 0,84*  |        |             |        |        |        |        |       |                 |       |       |       |       |
| Folha:Colmo     | -0,16           | 0,15*  | 0,25*  |             |        |        |        |        |       |                 |       |       |       |       |
| FDN             | -0,03           | 0,14   | -0,05  | -0,03       |        |        |        |        |       |                 |       |       |       |       |
| FDA             | 0,19            | 0,38*  | 0,08   | -0,23       | 0,33*  |        |        |        |       |                 |       |       |       |       |
| LIG             | 0,10            | -0,24* | -0,46* | -0,36*      | 0,18   | 0,62*  |        |        |       |                 |       |       |       |       |
| PB              | 0,10            | -0,10  | -0,02  | 0,16        | -0,49* | -0,26* | -0,17  |        |       |                 |       |       |       |       |
| PG              | -0,13           | -0,17  | -0,19  | -0,15       | 0,02   | 0,06   | 0,31*  | 0,12   |       |                 |       |       |       |       |
| CH <sub>4</sub> | -0,01           | -0,15  | -0,34* | -0,36*      | 0,29*  | 0,14   | 0,24*  | -0,29* | -0,07 |                 |       |       |       |       |
| DVMO            | 0,11            | -0,09  | -0,14  | -0,15       | 0,08   | 0,13   | 0,17   | -0,05  | -0,01 | 0,01            |       |       |       |       |
| FP              | 0,13            | -0,09  | -0,13  | -0,15       | 0,07   | 0,11   | 0,15   | -0,05  | -0,05 | 0,01            | 0,99* |       |       |       |
| C               | 0,00            | -0,13  | -0,24* | 0,01        | 0,17   | -0,01  | 0,04   | -0,26* | -0,12 | 0,08            | 0,11  | 0,12  |       |       |
| N               | -0,12           | 0,02   | 0,26   | 0,23        | -0,20  | -0,30* | -0,27* | -0,18  | -0,07 | -0,17           | 0,03  | 0,05  | 0,13  |       |
| S               | -0,06           | -0,10  | 0,02   | -0,03       | -0,41* | -0,15  | -0,07  | 0,28*  | 0,33  | -0,27*          | 0,31* | 0,31* | -0,18 | 0,34* |

\* P < 0,05

### 3.5. Discussão

Os resultados das análises realizadas nas amostras de solo (Tabela 3.2) indicaram que a hipótese de que a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico afetaria a ciclagem de nutrientes e estoques de C e N do solo não foi confirmada, diferentemente dos resultados observados por Johnson et al. (2000) avaliando *Pinus ponderosa* que encontraram maior relação C:N no solo em ambientes com maior concentração de CO<sub>2</sub>. Alterações na distribuição de C e N nos solos em ambientes com CO<sub>2</sub> elevado podem ser atribuídas ao aumento da taxa de crescimento das plantas, com maior aporte de biomassa ao solo e sua decomposição, afetando a ciclagem de nutrientes (GILL et al., 2006; JASTROW; AMONETTE; BAILEY, 2007).

A média de produção de biomassa de *B. brizantha* observada neste trabalho foi similar a outros estudos avaliando o mesmo cultivar com aplicação de adubação orgânica (LIMA et al., 2007) e também quando utilizado em sistemas de produção de gado de leite na Austrália (MOURA et al., 2017), indicando que não houve qualquer fator limitante para seu desenvolvimento que pudesse acarretar na diminuição de sua produtividade (por exemplo, fertilidade de solo inadequada e/ou sombreamento pelas plantas de café).

O fato das médias de produção de biomassa no tratamento com elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico não serem diferentes das médias no tratamento controle ao longo dos períodos de colheitas também não confirma a hipótese de aumento na produção com o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Esta constatação está em consonância com Dumont et al. (2015) que enfatizaram que a biomassa das plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> é menos afetada pelo enriquecimento de CO<sub>2</sub> em comparação com as plantas de ciclo fotossintético C<sub>3</sub>. Entretanto, outros estudos observaram aumento na produção de biomassa de plantas de ciclo fotossintético C<sub>4</sub> em condição de elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (RUDMANN et al., 2001; AUGUSTINE et al., 2018).

De forma geral, as plantas respondem diretamente ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentando a taxa fotossintética e regulando o funcionamento estomatal, sendo estes importantes fatores relacionados ao aumento de biomassa (LONG et al., 2006). Entretanto, em plantas de ciclo C<sub>4</sub>, a ribulose-1,5-bisfosfato carboxylase-oxigenase (RuBisCO) fica localizada em regiões da célula vegetal (células da bainha do feixe vascular) onde a concentração de CO<sub>2</sub> é de 2 a 6 vezes maior que a da atmosfera, condição já suficiente

para sua saturação, o que impede qualquer aumento da assimilação de CO<sub>2</sub>, mesmo em condições de elevada concentração de CO<sub>2</sub>.

É necessário considerar que a exposição por “curto período de tempo” à elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode ter sido uma das razões da falta de efeito observado neste estudo, embora a exposição prolongada à elevada concentração de CO<sub>2</sub> muitas vezes resulte em redução da capacidade fotossintética devido ao mecanismo de inibição denominado processo de aclimatação fotossintética (PORRAS et al., 2017).

A hipótese de que a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico reduziria a qualidade nutricional de *B. brizhanta* também não foi confirmada pelos resultados obtidos e contradizem Milchunas et al. (2005) e Augustine et al. (2018). Estes autores observaram redução nos teores de PB (MILCHUNAS et al., 2005) e degradabilidade *in vitro* de MS, além de aumento nos teores de FDA (AUGUSTINE et al., 2018) da gramínea *Bouteloua gracilis*. Já Dumont et al. (2015), em estudo de meta-análise, não observaram efeitos diretos da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico em diversas variáveis de qualidade avaliadas, apesar de uma redução na concentração de N e aumento no teor de carboidratos não estruturais.

A maturação das plantas resulta em redução na relação folha:colmo e aumento nos teores dos carboidratos estruturais como LIG, afetando a digestibilidade do alimento (MOORE; JUNG, 2001; DUMONT et al., 2015). Já a vegetação crescendo logo após um manejo de desfolha, por ser um tecido mais jovem, geralmente apresenta melhor qualidade nutricional (MILCHUNAS et al., 2005). Neste estudo, o período de 21 dias entre as colheitas foi escolhido buscando atingir a melhor qualidade nutricional de *B. brizantha* em condições tropicais.

Ambos os tratamentos apresentaram valores de teor de PB excedendo o mínimo necessário (70-80 g kg<sup>-1</sup> MS) pelos microrganismos ruminais terem otimizada sua capacidade de quebra dos componentes da parede celular, além de em níveis de ingestão de PB abaixo do necessário, o consumo de alimento pelos animais ser afetado (VAN SOEST, 1994). Sendo a FDA (que inclui os teores de LIG e celulose, mas não de hemicelulose) a fração mais indigerível da forragem, relativamente baixos teores de FDA e LIG e maiores teores de FDN são também características desejáveis, que além de favorecerem uma melhor produtividade animal, podem também contribuir para a mitigação da emissão de CH<sub>4</sub>

entérico (BEAUCHEMIN et al., 2008; HRISTOV et al., 2013). Também sem efeito significativo da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, ambos os tratamentos deste estudo apresentaram médias do teor de PB e MOVD maiores e teores de FDN, FDA, LIG, produção de CH<sub>4</sub> (mL g<sup>-1</sup> MOVD) e fator de partição menores que os observados por Lima et al. (2018) avaliando a mesma espécie, *B. brizantha*.

Compreender como as mudanças climáticas influenciarão as gramíneas é de fundamental importância para a sustentabilidade a longo prazo da produção de ruminantes a pasto (AUGUSTINE et al., 2018). Os resultados observados neste estudo mostram-se interessantes pelo fato que o previsível futuro cenário de elevação da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ), ao longo do período de colheitas avaliado, não comprometeu a produção de biomassa e a qualidade nutricional de *B. brizantha*, uma das principais gramíneas utilizadas no sistema de produção pecuária do Brasil, onde o pastejo extensivo é o predominante e os rebanhos são mantidos quase que exclusivamente com baixa utilização de insumos externos para compensar a baixa qualidade das forragens (CERRI et al., 2016; DERNER et al., 2018).

### 3.6 Conclusões

Os resultados deste estudo demonstraram que a produtividade, composição química e qualidade nutricional de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e a ciclagem de nutrientes no solo não são afetadas pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, ao longo do período avaliado (9 meses).

### Referências

ARAUJO, R.C.; PIRES, A.V.; MOURÃO, G.B.; ABDALLA, A.L.; SALLAM, S.M.A. Use of blanks to determine in vitro net gas and methane production when using rumen fermentation modifiers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166-167, p. 155-162, 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 18. ed. Arlington, VA, 2011.

AUGUSTINE, D.J.; BLUMENTHAL, D.M.; SPRINGER, T.L.; LECAIN, D.R.; GUNTER, S.A.; DERNER, J.D. Elevated CO<sub>2</sub> induces substantial and persistent declines in forage quality irrespective of warming in mixedgrass prairie. **Ecological Applications**, Tempe, v. 28, p. 721-735, 2018.

BARNEZE, A.S.; MAZZETTO, A.M.; ZANI, C.F.; MISSELBROOK, T.; CERRI, C.C. Nitrous oxide emissions from soil due to urine deposition by grazing cattle in Brazil. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 92, p. 394-397, 2014.

BEAUCHEMIN, K.A.; KREUZER, M.; O'MARA, F.; MCALLISTER, T.A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 48, p. 21-27, 2008.

BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. In vitro gas production: a technique revisited. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 77, p. 24-34, 1997.

BUENO, I.; CABRAL, S.; GOBBO, S.; LOUVANDINI, H.; VITTI, D.; ABDALLA, A. Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, p. 95-105, 2005.

CERRI, C.C.; MOREIRA, C.S.; ALVES, P.A.; RAUCCI, G.S.; CASTIGIONI, B.A.; MELLO, F.F.C.; CERRI, D.G.P.; CERRI, C.E.P. Assessing the carbon footprint of beef cattle in Brazil: a case study with 22 farms in the State of Mato Grosso. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 112, p. 2593-2600, 2016.

CHANG, J.; CIAIS, P.; VIOVY, N.; SOUSSANA, J.F.; KLUMPP, K.; SULTAN, B. Future productivity and phenology changes in European grasslands for different warming levels: implications for grassland management and carbon balance. **Carbon Balance Management**, London, v. 12, p. 11, 2017. doi: 10.1186/s13021-017-0079-8.

COELHO, J.S.; ARAUJO, S.A.C.; VIANA, M.C.M.; VILLELA, S.D.J.; FREIRE, F.M.; BRAZ, T.G. S. Morphophysiology and nutritive value of signalgrass in silvipastoral system with different tree arrangements. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, p. 1487-1499, 2014.

DERNER, J.; BRISKE, D.; REEVES, M.; BROWN-BRANDL, T.; MEEHAN, M.; BLUMENTHAL, D.; TRAVIS, W.; AUGUSTINI, D.; WILMER, H.; SCASTA, D.; HENDRICKSON, J.; VOLESKY, J.; EDWARDS, L.; PECK, D. Vulnerability of grazing and confined livestock in the Northern Great Plains to projected mid and late-twenty-first century climate. **Climatic Change**, Cham, v. 146, p. 19-32, 2018.

DICK, M.; SILVA, M.; DEWES, H. Mitigation of environmental impacts of beef cattle production in southern Brazil - Evaluation using farm-based life cycle assessment. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 87, p. 58-67, 2015.

DUMONT, B.; ANDUEZA, D.; NIDERKORN, V.; LÜSCHER, A.; PORQUEDDU, C.; PICON-COCHARD, C. A meta-analysis of climate change effects on forage quality in grasslands: specificities of mountain and Mediterranean areas. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 70, p. 239-254, 2015.

FIGUEIREDO, E.B.; JAYASUNDARA, S.; OLIVEIRA BORDONAL, R.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A.; WAGNER-RIDDLE, C.; LA SCALA JUNIOR, N. Greenhouse gas balance and carbon footprint of beef cattle in three contrasting pasture-management systems in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 142, p. 420-431, 2017.

GERBER, P.J.; HRISTOV, A.N.; HENDERSON, B.; MAKKAR, H.; OH, J.; LEE, C.; MEINEN, R.; MONTES, F.; OTT, T.; FIRKINS, J.; ROTZ, A.; DELL, C.; ADESOGAN, A. T.; YANG, W. Z.; TRICARICO, J. M.; KEBREAB, E.; WAGHORN, G.; DIJKSTRA, J.; OOSTING, S. Technical options for the mitigation of direct methane and nitrous oxide emissions from livestock: a review. **Animal**, Cambridge, v. 7, p. 220-234, 2013.

GHINI, R.; TORRE-NETO, A.; DENTZIEN, A.M.; GUERREIRO-FILHO, O.; IOST, R.; PATRÍCIO, F.A.; PRADO, J.M.; THOMAZIELLO, R.; BETTIOL, W.; DAMATTA, F.; Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO<sub>2</sub> enrichment. **Climatic Change**, Cham, v. 132, p. 307-320, 2015.

GILL, R.A.; ANDERSON, L.J.; POLLEY, H.W.; JOHNSON, H.B.; JACKSON, R.B. Potential nitrogen constraints on soil carbon sequestration under low and elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. **Ecology**, Brooklyn, v. 87, p. 41-52, 2006.

GRACINDO, C.V.; LOUVANDINI, H.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA-FERREIRA, M.; CASTRO, M.B. Performance of sheep grazing in pastures of *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Panicum maximum*, and *Andropogon gayanus* with different protodioscin concentrations. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 46, p. 733-737, 2014.

HOFMOCKEL, K.S.; ZAK, D.R.; MORAN, K.K.; JASTROW, J.D. Changes in forest soil organic matter pools after a decade of elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 43, p. 1518-1527, 2011.

HRISTOV, A.N.; OH, J.; FIRKINS, J.L.; DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; WAGHORN, G.; MAKKAR, H.P.; ADESOGAN, A.T.; YANG, W.; LEE, C.; GERBER, P.J.; HENDERSON, B.; TRICARICO, J.M. Special topics-Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 11, p. 5045-5069, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção da pecuária municipal - PPM**. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012>. Acesso em: 10 dez. 2017.

JASTROW, J.; AMONETTE, J.; BAILEY, V. Mechanisms controlling soil carbon turnover and their potential application for enhancing carbon sequestration. **Climatic Change**, Cham, v. 80, p. 5-23, 2007.

JOHNSON, D.W.; CHENG, W.; BALL, J.T. Effects of CO<sub>2</sub> and N fertilization on decomposition and N immobilization in ponderosa pine litter. **Plant and Soil**, The Hague, v. 224, p. 115-122, 2000.

LARA, M.V.; ANDREO, C.S. C<sub>4</sub> Plants adaptation to high levels of CO<sub>2</sub> and to drought environments. In: SHANKER, A.; VENKATESWARLU, B. (Ed.). **Abiotic stress in plants**. Mechanisms and adaptations. Rijeka, Croatia: InTech, 2011.

LEE, M.A.; DAVIS, A.P.; CHAGUNDA, M.G.G.; MANNING, P. Forage quality declines with rising temperatures, with implications for livestock production and methane emissions. **Biogeosciences**, Göttingen, v. 14, p. 1403-1147, 2017.

LIMA, J.J.; MATA, J.D.V.; NETO, R.P.; SCAPIM, C.A. Influência da adubação orgânica nas propriedades químicas de um Latossolo Vermelho distrófico e na produção de matéria seca de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, p. 715-719, 2007.

LIMA, D.M.; ABDALLA FILHO, A.L.; LIMA, P.M.T.; SAKITA, G.Z.; SILVA, T.P.D.; MCMANUS, C.; ABDALLA, A.L.; LOUVANDINI, H. Morphological characteristics, nutritive quality and methane production of tropical grasses in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 53, p. 323-331, 2018.

LONG, S.P.; AINSWORTH, E.A. LEAKEY, A.D.B. NOSBERGER, J.; ORT, D.R. Food for thought: lower than expected crop yield stimulation with rising CO<sub>2</sub> concentrations. **Science**, Washington, DC, v. 312, p. 1918-1921, 2006.

MALUF, H.J.G.M.; GHINI, R.; MELO, L.B.B.; SILVA, C.A. Fertilidade do solo e estado nutricional do cafeeiro cultivado em atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 50, p. 1087-1096, 2015.

MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S.; OWEN, E.; CHANNA, K.S.; THEODOROU, M.K. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 79, p. 321-330, 1999.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 85, p. 1217-1240, 2002.

MILCHUNAS, D.G.; MOSIER, A.R.; MORGAN, J.A.; LECAIN, D.R.; KING, J.Y.; NELSON, J.A. Elevated CO<sub>2</sub> and defoliation effects on a shortgrass steppe: Forage quality versus quantity for ruminants. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 111, p. 166-184, 2005.

MOORE, K.J.; JUNG, H.-J.G. Lignin and fiber digestion. **Journal of Range Management**, Lawrence, v. 54, p. 420-430, 2001.

MOURA, A.M.; TOMICH, T.R.; PEREIRA, L.G.R.; TEIXEIRA, A.M.; PACIULLO, D.S.C.; JAYME, D.G.; MACHADO, F.S.; GOMIDE, C.A.M.; CAMPOS, M.M.; CHAVES, A.V.; GONÇALVES, L.C. Pasture productivity and quality of *Urochloa brizantha* cultivar Marandu evaluated at two grazing intervals and their impact on milk production. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 57, p. 1384-1391, 2017.

MUELLER, K.E.; BLUMENTHAL, D.M.; PENDALL, E.; CARRILLO, Y.; DIJKSTRA, F.A.; WILLIAMS, D.G.; FOLLETT, R.F.; MORGAN, J.A. Impacts of warming and elevated CO<sub>2</sub> on a semi-arid grassland are non-additive, shift with precipitation, and reverse over time. **Ecology Letters**, Oxford, v. 19, p. 956-966, 2016.

MYERS, S.S.; ZANOBETTI, A.; KLOOG, I.; HUYBERS, P.; LEAKEY, A.D.B.; BLOOM, A.J.; CARLISLE, E.; DIETTERICH, L.H.; FITZGERALD, G.; HASEGAWA, T.; HOLBROOK, N.M.; NELSON, R.L.; OTTMAN, M.J.; RABOY, V.; SAKAI, H.; SARTOR, K.A.; SCHWARTZ, J.; SENEWEERA, S.; TAUSZ, M.; USUI, Y. Increasing CO<sub>2</sub> threatens human nutrition. **Nature**, London, v. 510, p. 139-142, 2014.

NIBOYET, A.; BARDOUX, G.; BAROT, S.; BLOOR, J.M.G. Elevated CO<sub>2</sub> mediates the short-term drought recovery of ecosystem function in low diversity grassland systems. **Plant and Soil**, The Hague, v. 420, p. 289-302, 2017.

PORRAS, E.M.; LORENZO, P.; MEDRANO, E.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, M.J.; OTÁLORA-ALCÓN, G.; PIÑERO, M.C.; DEL AMOR, F.M.; SÁNCHEZ-GUERRERO, M.C. Photosynthetic acclimation to elevated CO<sub>2</sub> concentration in sweet pepper (*Capsicum annuum*) crop under Mediterranean greenhouse conditions: influence of the nitrogen source and salinity. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 44, p. 573-586, 2017.

PORTEAUS, F.; HILL, J.; BALL, A.S.; PINTER, P.J.; KIMBALL, B.A.; WALL, G.W.; ADAMSEN, F.J.; HUNSAKER, D.J.; LAMORTE, R.L.; LEAVITT, S.W.; THOMPSON, T.L.; MATTHIAS, A.D.; BROOKS, T.J.; MORRIS, C.F. Effect of free air carbon dioxide enrichment (FACE) on the chemical composition and nutritive value of wheat grain and straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 149, p. 322-332, 2009.

RUDMANN, S.G.; MILHAM, P.J.; CONROY, J.P. Influence of high CO<sub>2</sub> partial pressure on nitrogen use efficiency of the C<sub>4</sub> Grasses *Panicum coloratum* and *Cenchrus ciliaris*. **Annals of Botany**, Oxford, v. 88, p. 571-577, 2001.

SANTOS, R.M.; VOLTOLINI, T.V.; ANGELOTTI, F.; AIDAR, S.T.; CHAVES, A.R.M. Productive and morphogenetic responses of buffel grass at different air temperatures and CO<sub>2</sub> concentrations. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 43, p. 404-409, 2014.

SOLTAN, Y.A.; MORSY, A.S.; SALLAM, S.M.A.; LOUVANDINI, H.; ABDALLA, A.L. Comparative in vitro evaluation of forage legumes (prosopis, acacia, atriplex, and leucaena) on ruminal fermentation and methanogenesis. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Jablonna, v. 21, p. 759-772, 2012.

STEINFELD, H.; WASSENAAR, T. The role of livestock production in carbon and nitrogen cycles. **Annual Review of Environment and Resources**, Palo Alto, v. 32, p. 271-294, 2007.

TILMAN, D.; BALZER, C.; HILL, J.; BEFORT, B.L. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, DC, v. 108, p. 20260-20264, 2011.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1994.

#### 4 FRAÇÕES DE FIBRA, COMPOSIÇÃO MULTIELEMENTAR E ISOTÓPICA DE UMA GRAMÍNEA TROPICAL EM CONDIÇÃO DE ELEVADA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> ATMOSFÉRICO

##### Resumo

O Brasil possui o maior rebanho comercial de ruminantes e é responsável por 15 % da produção mundial de carne bovina, com aproximadamente 211 milhões de cabeças, ocupando uma área de 170 milhões de hectares de pastagens, em sua maioria estabelecidas com *Brachiaria* spp. Embora a redução de nutrientes já tenha sido verificada em importantes culturas, estudos avaliando os efeitos do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico nas frações de fibra, composição multielementar e isotópica de *Brachiaria* spp. ainda são escassos. Uma melhor compreensão dos impactos da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na qualidade de forragens é importante nos estudos de sustentabilidade envolvendo a interação forragem, produção animal e possíveis adaptações às mudanças climáticas. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de atmosferas contrastantes quanto à concentração de CO<sub>2</sub> na produção de biomassa, frações de fibra, composição elementar e isotópica de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk. A forragem foi semeada (2 parcelas de 0,25 m<sup>2</sup>) dentro de cada um dos 12 anéis octogonais (10 m de diâmetro) da instalação do tipo FACE (Free-Air Carbon-dioxide Enrichment; Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brasil). Seis anéis foram mantidos em condições naturais ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ; Controle) e outros seis receberam fluxo de CO<sub>2</sub> puro para atingir uma concentração mais elevada ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ; CO<sub>2</sub> Elevado). Após 30 meses sob atmosferas contrastantes quanto a concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, as amostras de forragem foram colhidas, pesadas e então divididas em duas partes: uma mantida intacta (fração total) e outra utilizada para a separação manual das proporções (%) de folha, colmo, inflorescência e material senescente. As amostras então foram analisadas para se determinar as frações de fibras (fibra em detergente neutro (FDN), hemicelulose (HEMI), fibra em detergente ácido (FDA), celulose (CEL) e lignina (LIG)), teores de carbono (C), nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S), fósforo (P), ferro (Fe) e manganês (Mn) e a composição isotópica do C e N. Não foram observados efeitos da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico na produção de biomassa, altura média, proporções de folha, caule, inflorescência e material senescente e frações da fibra ( $P > 0,05$ ). Menor concentração de Ca foi observada nas porções de folha e material senescente de *B. decumbens* mantida sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico ( $P < 0,05$ ). Apesar dos teores de C e N não terem sido afetados ( $P > 0,05$ ), menor relação C:N foi observada na fração total de *B. decumbens* do tratamento CO<sub>2</sub> Elevado ( $P < 0,05$ ). A composição isotópica da forragem também foi afetada pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, apresentando menores valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e maiores valores de  $\delta^{15}\text{N}$  quando comparados aos do tratamento Controle ( $P < 0,05$ ). Conclui-se que a produção e as frações de fibra de *B. decumbens* não foram afetadas pelo cenário de mudança climática de elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Entretanto, sob atmosfera de concentração elevada de CO<sub>2</sub>, *B. decumbens* apresentou menor teor de Ca o que pode afetar a produção pecuária num previsível cenário de mudanças climáticas.

**Palavras-chave:** *Brachiaria decumbens*. Cálcio. Mudanças climáticas. FACE. Pecuária.

#### 4.1 Introdução

A queima de combustíveis fósseis, mudanças de uso do solo, expansão industrial e aumento populacional contribuíram significativamente para o aumento da concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) na atmosfera, passando de 280  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ , antes da revolução industrial, para a concentração atual de 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  (IPCC, 2015; BROGERG et al., 2017).

De acordo com os possíveis cenários de concentrações de gases de efeito estufa na atmosfera (“Representative Concentration Pathways”, RCPs) do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, 2015), projeta-se que nas próximas décadas as concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico atinjam de 420  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  (RCP2.6) a 1300  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  (RCP8.5). Esse aumento na concentração de CO<sub>2</sub> pode acarretar efeitos em vários aspectos de produtividade vegetal, principalmente por esta estar fundamentalmente relacionada ao CO<sub>2</sub> atmosférico utilizado na fotossíntese (DIETTERICH et al., 2015).

Os ecossistemas de pastagens ocupam aproximadamente 30 % da área terrestre, sendo utilizados para grande parte da produção mundial de ruminantes (AUGUSTINE et al., 2018). Determinar os efeitos das mudanças climáticas nas pastagens pode ser complexo devido às interações com diferentes práticas de manejo e disponibilidade de água (CHANG et al., 2017), entretanto diversos autores já observaram que a elevação de CO<sub>2</sub> atmosférico tem o potencial de alterar a qualidade nutricional de diversas culturas e forragens (PORTEAUS et al., 2009; ABDELGAWAD et al., 2014; MYERS et al., 2014; DUMONT et al., 2015). Em alguns estudos a produtividade de forragens aumentou à custa de uma diminuição de sua qualidade nutricional (MILCHUNAS et al., 2005; MUELLER et al., 2016; AUGUSTINE et al., 2018) e isso pode acarretar em redução nos índices de produção e reprodutivos da pecuária baseada em pastejo extensivo, uma vez que muitas vezes estes animais dependem exclusivamente das forragens para suprir suas exigências nutricionais (EZZAT et al., 2018).

Alterações na produção e composição química das plantas podem gerar impactos significativos nos processos econômicos e ecológicos (DAMATTA et al., 2010; SANZ-SAÉZ et al., 2012; ABDELGAWAD et al., 2014) e os efeitos do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico já vem sendo intensamente investigados em plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>3</sub>, mas são poucos os estudos que abordem os efeitos em gramíneas tropicais (C<sub>4</sub>) (LARA; ANDREO, 2011).

As gramíneas tropicais são a principal fonte de alimento para a produção pecuária brasileira, responsável pelo maior rebanho de ruminantes e por 15 % da produção mundial de carne de gado, com aproximadamente 211 milhões de cabeças ocupando 170 milhões de hectares de pastagens (IBGE, 2012; BARNEZE et al., 2014; DICK et al., 2015; CERRI et al., 2016). A maior parte destas áreas de pastagens são cultivadas com espécies de gramíneas do gênero de origem africana *Brachiaria* ssp. (GRACINDO et al., 2014). Embora o setor de produção animal no Brasil seja um dos maiores do mundo, pouca informação está disponível em relação a possíveis alterações na produção e qualidade nutricional das forragens devido ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

Em estudo conduzido em instalação do tipo FACE, a produtividade, características morfológicas e valor nutritivo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu não foram afetadas pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico em curto período de tempo, conforme descrito no capítulo anterior desta tese e estudos com maior tempo de exposição são necessários para contribuir com o conhecimento acerca destas questões.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da exposição a longo prazo (30 meses) de atmosferas contrastantes quanto a concentração de CO<sub>2</sub> na produção de biomassa, frações de fibra, composição elementar e isotópica de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk. A hipótese é que haverá um aumento na produção de *B. decumbens*, as características morfológicas serão afetadas e ocorrerá uma redução em sua qualidade nutricional quando exposta a longo período de tempo sob atmosfera de elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Local e tratamentos experimentais**

O experimento foi conduzido na área experimental pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Unidade Embrapa Meio Ambiente, localizada no município de Jaguariúna, SP, Brasil (22°43'S, 47°01'W, 570 m acima do nível do mar). De acordo com a classificação de Köppen o clima da região é do tipo Cfa, subtropical úmido, com verões chuvosos e invernos secos. O solo do local é caracterizado como Latossolo Vermelho distroférico típico de acordo com a classificação brasileira de solos (MALUF et al., 2015).

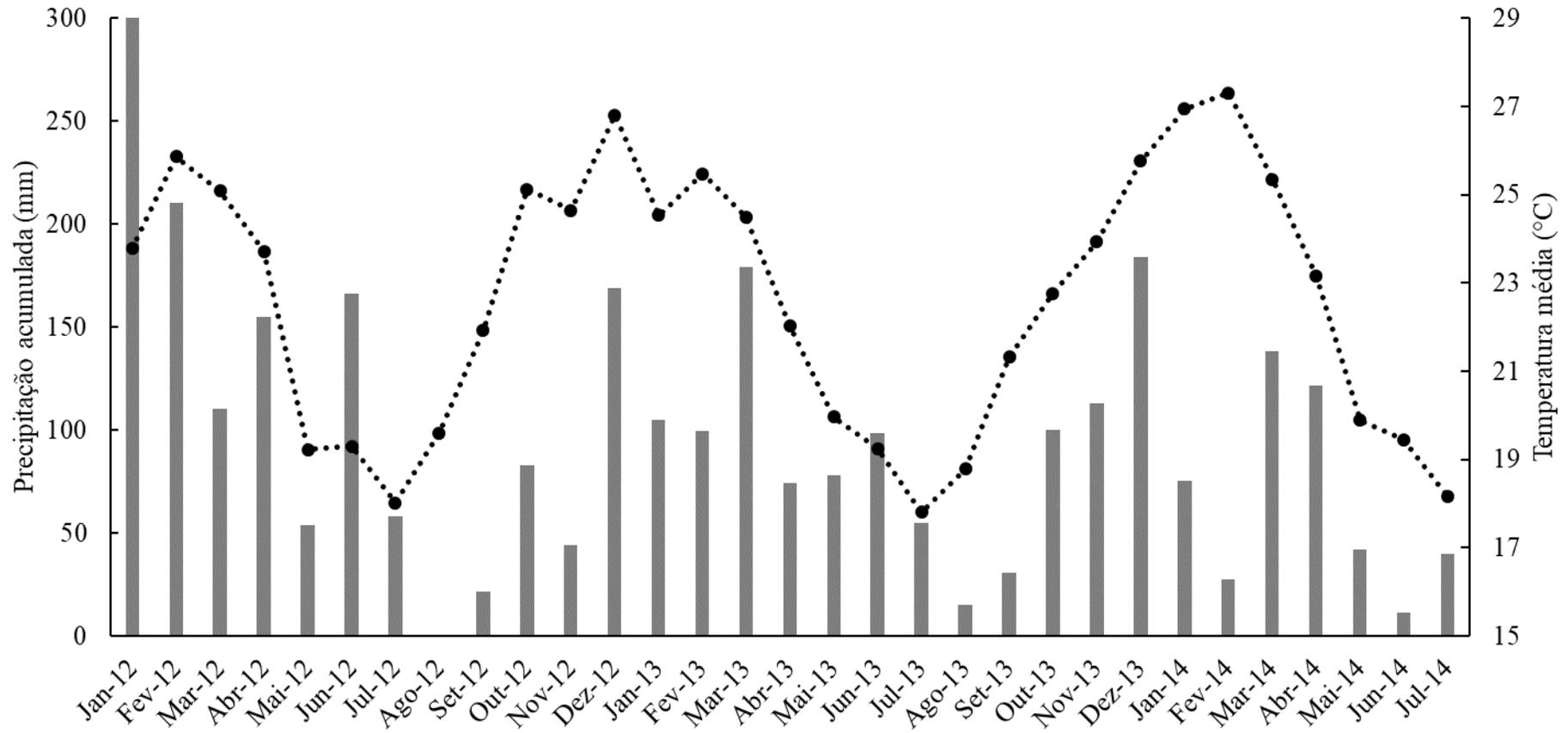
A instalação do tipo FACE (“Free Air Carbon-dioxide Enrichment” - enriquecimento de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ao ar livre) possui doze anéis octagonais (10 m de diâmetro) distribuídos em uma área de 7 ha cultivada com café (*Coffea arabica* cv. Catuaí vermelho IAC 144) (GHINI et al., 2015). Seis anéis (Controle) foram mantidos em condições ambiente (atmosfera  $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -8 \text{‰}$ ) e os outros seis anéis recebiam injeção com CO<sub>2</sub> puro ( $\delta^{13}\text{C} = -30.7 \text{‰}$ ). A injeção de CO<sub>2</sub> iniciou-se em agosto de 2011 e a concentração alvo foi  $550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  ( $\delta^{13}\text{C} = -10.6 \text{‰}$ ).

#### 4.2.2 Amostragem da forragem e análises químicas

No interior de cada anel octagonal, na entrelinha das plantas de café, duas parcelas experimentais (0,25 m<sup>2</sup>) foram estabelecidas com *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, semeada na última semana de outubro de 2011 e após um corte de uniformização em janeiro de 2012, a disponibilidade de forragem foi estimada a cada 21 dias (priorizando a qualidade nutricional da gramínea) entre fevereiro de 2012 e janeiro de 2014 (ABDALLA et al., 2016). Em outubro de 2012 e 2013 as parcelas foram fertilizadas com uma dose de 40 kg ha<sup>-1</sup> de N, 82 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 41 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O.

De janeiro a julho de 2014 a forragem teve continuidade no seu crescimento normal, sendo que ao final deste período, todas as plantas dentro das parcelas de 0,25 m<sup>2</sup> foram colhidas após 30 meses de exposição a contrastantes concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico (ver Figura 4.1 para dados de precipitação mensal acumulada e temperatura média de janeiro de 2012 a julho de 2014). A altura média das plantas foi medida utilizando-se uma régua graduada em cm e as plantas foram colhidas realizando-se o corte com tesoura, 20 cm acima do nível do solo (altura de resíduo).

**Figura 4.1** – Precipitação mensal acumulada (mm; barras) e temperatura média mensal (°C; círculos) de janeiro de 2012 a julho de 2014



O material colhido foi pesado no campo, para se estimar a produção de biomassa fresca (MF), e levado ao Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (LANA/CENA). Cada amostra foi dividida em duas porções iguais: uma foi mantida intacta (fração total) e a outra porção foi separada em folhas, colmo, inflorescência e material senescente para determinação de suas proporções (%). As amostras foram então secas em estufa (60 °C com ventilação de ar por 72 h), pesadas novamente para determinação do peso seco, moídas (1 mm) e armazenadas até serem quimicamente analisadas.

Nas análises de composição química, o teor de matéria orgânica (MO) foi determinado de acordo com AOAC (2011). O teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi determinado de acordo com Mertens (2002) e os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) foram determinados sequencialmente seguindo metodologia de Van Soest et al. (1991) utilizando-se analisador de fibras (Tecnal TE-149, Piracicaba, Brazil) e sacos de fibra Ankom® F57 (Macedon, NY, USA). Os teores de hemicelulose (HEMI) e celulose (CEL) foram calculados pelas diferenças entre FDN, FDA e LIG.

Para determinação dos teores totais de C e N (%), relação C:N e composição isotópica do C e N, as amostras foram moídas a 0,15 mm, armazenadas em cápsulas de estanho e inseridas em analisador elementar (Carlo Erba, CH-1110; Milão, Itália) para combustão sob fluxo contínuo de hélio (He). Os gases gerados pela combustão (CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>) foram diretamente injetados no espectrômetro de massas (Thermo Scientific, Delta Plus; Bremen, Germany) no Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (LEI/CENA) e as razões isotópicas foram calculadas seguindo a equação:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ou } \delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = [(R \text{ amostra}/R \text{ padrão}) - 1] \times 10^3 \quad \text{Equação 3}$$

onde: R amostra e R padrão são as relações <sup>13</sup>C:<sup>12</sup>C ou <sup>15</sup>N:<sup>14</sup>N da amostra e do padrão. Vienna PeeDee Belemnite (VPDB) e N atmosférico foram utilizados como padrões para  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , respectivamente.

Um espectrômetro de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF; Shimadzu EDX 720, Duisburg, Alemanha), equipado com um tubo de raios X de ródio de 50 W, foi utilizado para determinação elementar de potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S), fósforo (P), ferro (Fe) e manganês (Mn) no Laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (LIN/CENA). As amostras moídas foram analisadas sob vácuo utilizando uma tensão de 50 kV e corrente auto-regulável, ajustada para um

detector com tempo morto inferior a 30% e um colimador de 3 mm. O espectro de raios X da amostra foi adquirido utilizando um detector de Si (Li) por 300 s e a quantificação foi realizada utilizando o método de parâmetros fundamentais.

#### 4.2.3 Análise Estatística

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (distribuição espacial dos anéis na área experimental; Figura 3.1) com dois tratamentos (Controle e CO<sub>2</sub> Elevado) e a análise estatística foi realizada utilizando-se o software SAS versão 9.4 (SAS Institute Inc.). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento PROC GLM, considerando bloco e tratamento como efeitos fixos e as médias foram comparadas adotando-se o nível de significância de 5 %.

#### 4.3 Resultados

O aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico não afetou a produção de biomassa, altura média e proporções de folha, colmo, material senescente e inflorescência de *B. decumbens* ( $P > 0,05$ ) (Tabela 4.1).

**Tabela 4.1** – Produção de biomassa, altura média, proporção de folha, colmo, material senescente e inflorescência de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk cultivada sob contrastantes concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico

| Parâmetros                                     | Tratamentos       |                                | Valor p |
|--|-------------------|--------------------------------|---------|
|  | Controle (n=12)   | CO <sub>2</sub> Elevado (n=12) |         |
| Produção de biomassa (kg MF ha <sup>-1</sup> ) | 28657,6 ± 4008,26 | 26765,4 ± 3554,44              | 0,7619  |
| Produção de biomassa (kg MS ha <sup>-1</sup> ) | 5654,5 ± 592,63   | 4609,5 ± 610,67                | 0,2288  |
| Altura média (cm)                              | 60,2 ± 2,41       | 53,7 ± 3,84                    | 0,1960  |
| Folha (%)                                      | 38,5 ± 2,31       | 39,6 ± 2,21                    | 0,7471  |
| Colmo (%)                                      | 48,5 ± 3,36       | 44,7 ± 1,65                    | 0,3249  |
| Material senescente (%)                        | 20,2 ± 1,89       | 21,1 ± 2,19                    | 0,7620  |
| Inflorescência (%)                             | 3,0 ± 0,58        | 3,8 ± 1,06                     | 0,4915  |

Médias ± erro padrão da média, MF – matéria fresca; MS – matéria seca; Tratamentos: Controle – condição ambiente ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ), CO<sub>2</sub> Elevado – atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ).

Os teores de matéria orgânica e frações de fibra das diferentes proporções também não foram afetados pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico ( $P > 0,05$ ) (Tabela 4.2).

**Tabela 4.2** – Teores de matéria orgânica e frações de fibra de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk cultivada sob contrastantes concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico

| Parâmetros<br>(g kg <sup>-1</sup> MS)          | Tratamentos     |                                | Valor p |
|--|-----------------|--------------------------------|---------|
|  | Controle (n=12) | CO <sub>2</sub> Elevado (n=12) |         |
| <i>Fração total (sem separação de frações)</i> |                 |                                |         |
| MO   | 945,1 ± 1,70    | 944,4 ± 1,74                   | 0,7835  |
| FDN  | 682,6 ± 8,02    | 671,9 ± 8,57                   | 0,3836  |
| FDA  | 398,5 ± 10,32   | 382,9 ± 8,80                   | 0,2983  |
| LIG  | 81,5 ± 3,20     | 77,4 ± 3,08                    | 0,3413  |
| HEMI   | 284,1 ± 6,07    | 289,0 ± 3,36                   | 0,5083  |
| CEL  | 317,0 ± 8,78    | 305,5 ± 6,77                   | 0,3139  |
| <i>Folha</i>                                   |                 |                                |         |
| MO   | 939,5 ± 1,41    | 942,3 ± 1,07                   | 0,1090  |
| FDN  | 555,1 ± 7,00    | 564,1 ± 6,55                   | 0,2619  |
| FDA  | 274,9 ± 3,92    | 279,8 ± 5,13                   | 0,4389  |
| LIG  | 64,0 ± 4,99     | 67,6 ± 5,18                    | 0,5407  |
| HEMI   | 280,2 ± 4,28    | 284,3 ± 5,43                   | 0,5230  |
| CEL  | 210,9 ± 5,05    | 212,2 ± 6,26                   | 0,8689  |
| <i>Colmo</i>                                   |                 |                                |         |
| MO   | 957,4 ± 1,71    | 957,9 ± 1,50                   | 0,7964  |
| FDN  | 778,0 ± 5,70    | 773,6 ± 7,40                   | 0,6075  |
| FDA  | 495,7 ± 6,16    | 491,7 ± 8,68                   | 0,7190  |
| LIG  | 107,4 ± 5,64    | 118,7 ± 17,41                  | 0,5567  |
| HEMI   | 282,3 ± 4,07    | 281,9 ± 3,13                   | 0,9444  |
| CEL  | 388,3 ± 5,91    | 373,0 ± 15,56                  | 0,3486  |
| <i>Material senescente</i>                     |                 |                                |         |
| MO   | 931,1 ± 2,05    | 926,6 ± 4,07                   | 0,7896  |
| FDN  | 739,8 ± 4,31    | 730,1 ± 5,26                   | 0,4612  |
| FDA  | 458,9 ± 9,16    | 445,4 ± 6,47                   | 0,5094  |
| LIG  | 91,0 ± 4,35     | 94,9 ± 3,54                    | 0,5502  |
| HEMI   | 280,9 ± 5,71    | 284,6 ± 4,93                   | 0,8487  |
| CEL  | 367,8 ± 5,89    | 350,5 ± 4,98                   | 0,2629  |

Médias ± erro padrão das médias; MS – Matéria seca; MO – Matéria orgânica; FDN – Fibra em detergente neutro; FDA – Fibra em detergente ácido; LIG - Lignina; HEMI - Hemicelulose; CEL - Celulose; Tratamentos: Controle – Condição ambiente (≈390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> Elevated – atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (≈550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>).

Apesar das concentrações de C e N não diferirem entre os tratamentos (P > 0,05), menor razão C:N foi observada na fração total de *B. decumbens* cultivada sob atmosfera enriquecida em CO<sub>2</sub> (P < 0,05) (Tabela 4.3). As composições isotópicas também foram afetadas pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (P < 0,05) onde menores valores de δ<sup>13</sup>C foram observados nas plantas do tratamento CO<sub>2</sub> Elevado (Tabela 4.3). Além disto, maiores valores de δ<sup>15</sup>N foram observados nas porções de folha e colmo de *B. decumbens* cultivada sob atmosfera de elevada concentração de CO<sub>2</sub> (P < 0,05), entretanto esse aumento foi muito próximo ao valor do erro analítico (0,5%).

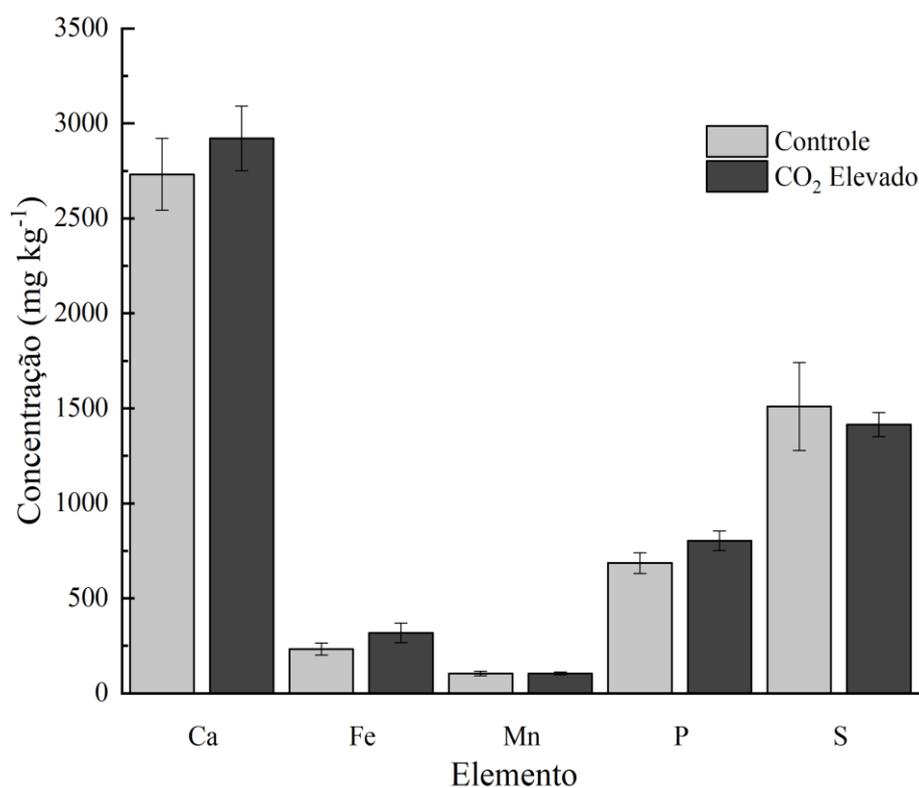
**Tabela 4.3** – Análise multielementar e composição isotópica de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk cultivada sob contrastantes concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico

| Parâmetros                                     | Tratamentos                |                                | Valor p  |
|--|----------------------------|--------------------------------|----------|
|  | Controle (n=12)            | CO <sub>2</sub> Elevado (n=12) |          |
| <i>Fração total (sem separação de frações)</i> |                            |                                |          |
| C (g kg <sup>-1</sup> )                        | 42,95 ± 0,228              | 42,22 ± 0,447                  | 0,1624   |
| N (g kg <sup>-1</sup> )                        | 1,9 ± 0,072                | 2,12 ± 0,094                   | 0,0885   |
| C:N  | 22,97 ± 0,8 <sup>a</sup>   | 20,36 ± 0,896 <sup>b</sup>     | 0,0462   |
| δ <sup>13</sup> C (‰)                          | -13,8 ± 0,131 <sup>a</sup> | -15,0 ± 0,160 <sup>b</sup>     | < 0,0001 |
| δ <sup>15</sup> N (‰)                          | 4,4 ± 0,107                | 4,4 ± 0,152                    | 0,9680   |
| K (g kg <sup>-1</sup> )                        | 1,43 ± 0,11                | 1,57 ± 0,066                   | 0,3308   |
| <i>Folha</i>                                   |                            |                                |          |
| C (g kg <sup>-1</sup> )                        | 43,49 ± 0,221              | 43,76 ± 0,149                  | 0,3397   |
| N (g kg <sup>-1</sup> )                        | 2,78 ± 0,074               | 2,84 ± 0,059                   | 0,5278   |
| C:N  | 15,82 ± 0,49               | 15,46 ± 0,318                  | 0,5776   |
| δ <sup>13</sup> C (‰)                          | -14,1 ± 0,073 <sup>a</sup> | -15,4 ± 0,06 <sup>b</sup>      | <0,0001  |
| δ <sup>15</sup> N (‰)                          | 4,2 ± 0,104 <sup>b</sup>   | 4,6 ± 0,118 <sup>a</sup>       | 0,0188   |
| K (g kg <sup>-1</sup> )                        | 1,88 ± 0,071               | 1,83 ± 0,054                   | 0,5363   |
| <i>Colmo</i>                                   |                            |                                |          |
| C (g kg <sup>-1</sup> )                        | 41,35 ± 0,181              | 41,57 ± 0,142                  | 0,2782   |
| N (g kg <sup>-1</sup> )                        | 1,43 ± 0,051               | 1,43 ± 0,063                   | 0,9898   |
| C:N  | 29,32 ± 1,097              | 29,76 ± 1,359                  | 0,7998   |
| δ <sup>13</sup> C (‰)                          | -13,6 ± 0,115 <sup>a</sup> | -14,7 ± 0,104 <sup>b</sup>     | <0,0001  |
| δ <sup>15</sup> N (‰)                          | 4,2 ± 0,16 <sup>b</sup>    | 4,9 ± 0,138 <sup>a</sup>       | 0,0162   |
| K (g kg <sup>-1</sup> )                        | 1,66 ± 0,086               | 1,72 ± 0,080                   | 0,6161   |
| <i>Material senescente</i>                     |                            |                                |          |
| C (g kg <sup>-1</sup> )                        | 40,8 ± 0,175               | 40,5 ± 0,36                    | 0,5006   |
| N (g kg <sup>-1</sup> )                        | 1,24 ± 0,048               | 1,32 ± 0,048                   | 0,2386   |
| C:N  | 33,15 ± 1,279              | 31,07 ± 1,23                   | 0,1755   |
| δ <sup>13</sup> C (‰)                          | -14,1 ± 0,224 <sup>a</sup> | -16,3 ± 0,294 <sup>b</sup>     | <0,0001  |
| δ <sup>15</sup> N (‰)                          | 4,6 ± 0,151                | 5,1 ± 0,163                    | 0,1053   |
| K (g kg <sup>-1</sup> )                        | 1,2 ± 0,056                | 1,29 ± 0,069                   | 0,3626   |

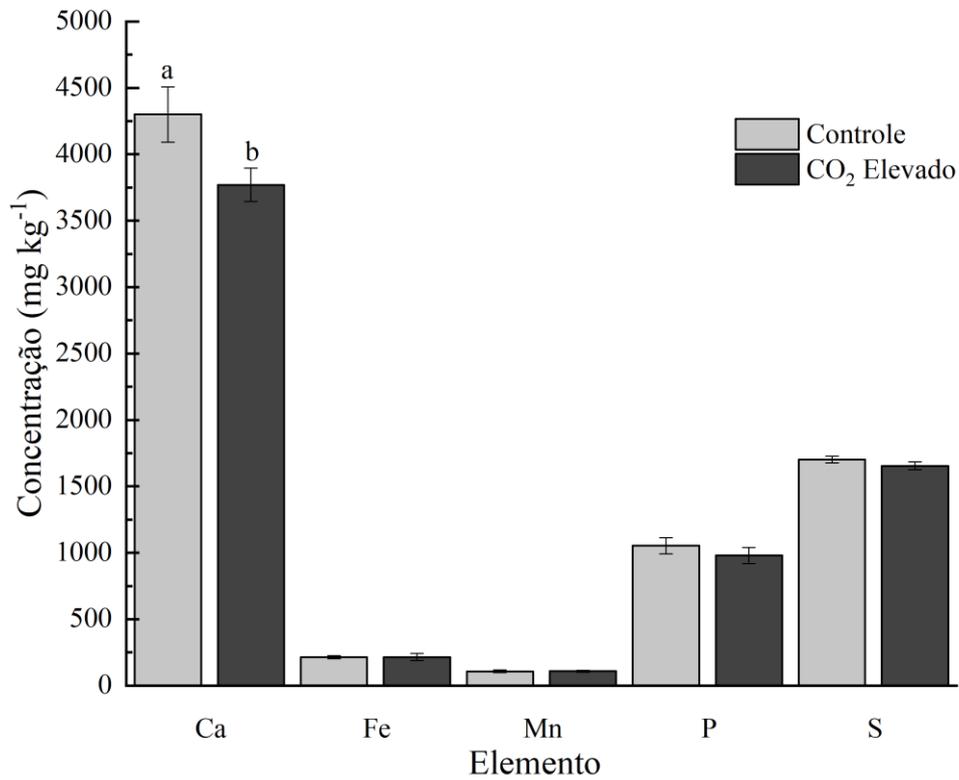
Médias ± erro padrão das médias; <sup>a,b</sup> Médias com letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (P < 0,05); Tratamentos: Controle – condição ambiente (≈390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> Elevado – atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (≈550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>).

Não foram observados efeitos da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico nas concentrações de Ca, K, Fe, Mn, P e S nas frações total (Figura 4.2) e colmo (Figura 4.4) (P > 0,05). Entretanto, menores valores de Ca foram observados na folha (Figura 4.3) e material senescente (Figura 4.5) de *B. decumbens* cultivada sob contrastantes atmosferas de CO<sub>2</sub> (P < 0,05).

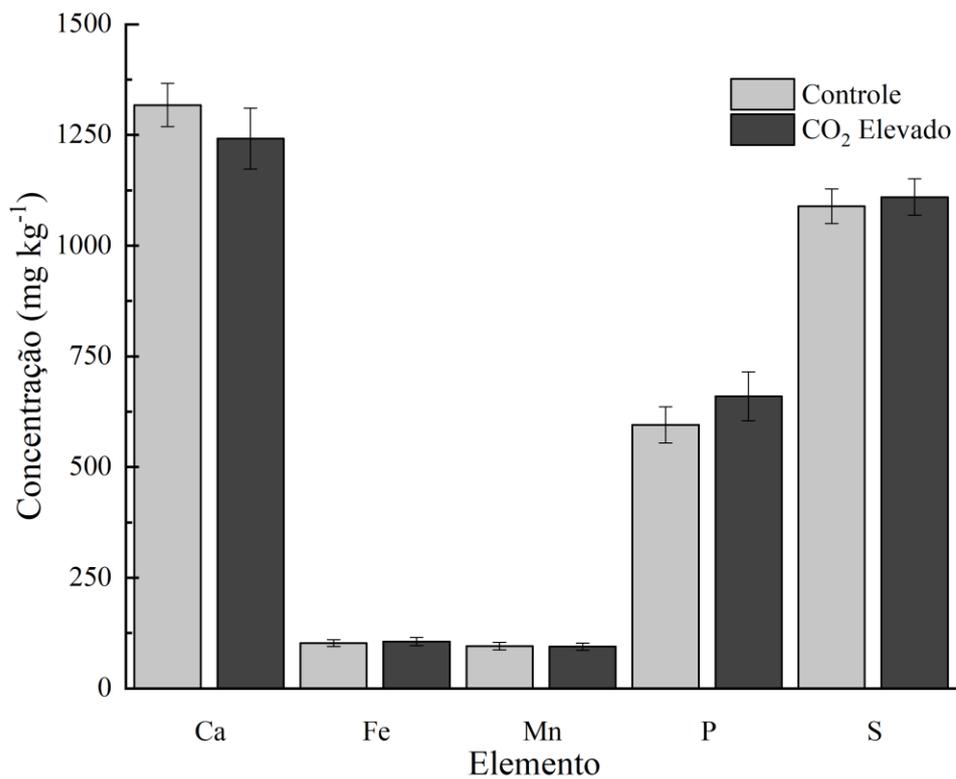
**Figura 4.2** – Concentração (mg kg<sup>-1</sup>) de Ca, Fe, Mn, P e S na fração total de *Brachiaria decumbens* cv, Basilisk cultivada sob contrastantes atmosferas de CO<sub>2</sub>. Controle – condição ambiente (≈390 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> Elevado – atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (≈550 μmol mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>). Barras são erro padrão das médias (n=12)



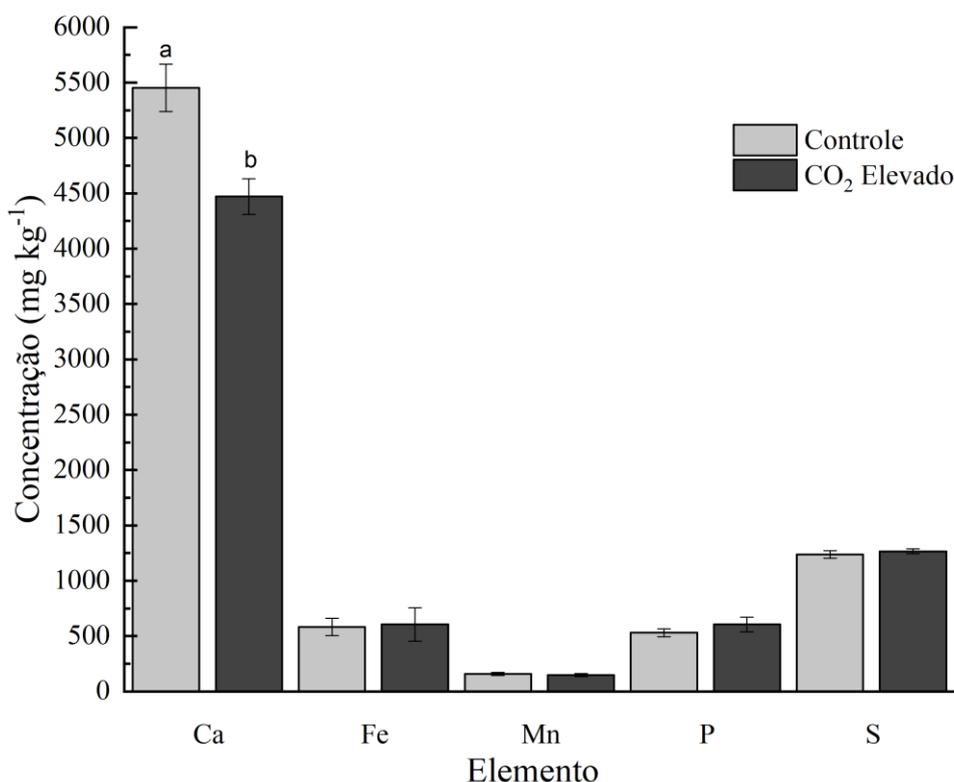
**Figure 4.3** – Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de Ca, Fe, Mn, P e S na porção folha de *Brachiaria decumbens* cv, Basilisk cultivada sob contrastantes atmosferas de  $\text{CO}_2$ . Controle – condição ambiente ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ),  $\text{CO}_2$  Elevado – atmosfera enriquecida com  $\text{CO}_2$  ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



**Figure 4.4** – Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de Ca, Fe, Mn, P e S na porção colmo de *Brachiaria decumbens* cv, Basilisk cultivada sob contrastantes atmosferas de  $\text{CO}_2$ . Controle – condição ambiente ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ),  $\text{CO}_2$  Elevado – atmosfera enriquecida com  $\text{CO}_2$  ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



**Figure 4.5** – Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de Ca, Fe, Mn, P e S na porção material senescente de *Brachiaria decumbens* cv, Basilisk cultivada sob contrastantes atmosferas de  $\text{CO}_2$ . Controle – condição ambiente ( $\approx 390 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ),  $\text{CO}_2$  Elevado – atmosfera enriquecida com  $\text{CO}_2$  ( $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$ ). Barras são erro padrão das médias ( $n=12$ )



#### 4.4 Discussão

Mesmo após dois anos e seis meses de exposição a uma maior concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico, a produtividade e características morfológicas de *B. decumbens* não foram afetadas e são resultados similares aos relatados no capítulo anterior desta tese avaliando *Brachiaria brizantha* cv. Marandu nas mesmas concentrações de  $\text{CO}_2$ , mas em curto período experimental (nove meses). Estes resultados rejeitam a hipótese de que maior produção e efeitos nas características morfológicas seriam encontrados sob elevada concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico e estão alinhados com Dumont et al. (2015) que observaram através de uma meta-análise que apenas os teores de N e carboidratos não estruturais foram afetados pela elevação da concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico.

Como abordado no capítulo anterior, as bases para uma maior produção de biomassa com a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico se dá através da resposta direta das plantas nas suas taxas fotossintéticas e condutância estomatal (LONG et al., 2006). Entretanto, em plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub>, a ribulose-1,5-bisfosfato carboxylase-oxigenase (RuBisCO) localiza-se nas células da bainha do feixe vascular, onde a concentração de CO<sub>2</sub> é de 2 a 6 vezes maior que a da atmosfera, condição já suficiente para sua saturação, o que impede qualquer aumento da assimilação de CO<sub>2</sub>, mesmo em condições de elevada concentração de CO<sub>2</sub>. Além disto, longo período de tempo de exposição a uma maior concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico usualmente resulta em redução da capacidade fotossintética devido a um mecanismo inibitório chamado processo de aclimatação fotossintética (PORRAS et al., 2017), o que também pode ser uma justificativa aos resultados encontrados para *B. decumbens* neste estudo.

Os carboidratos estruturais de *B. decumbens* também não foram afetados pelo aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, rejeitando, em partes, a hipótese de que a qualidade nutricional seria comprometida. Estes resultados também estão de acordo com Dumont et al. (2015) mas contradizem os de Abdalla et al. (2016) avaliando a mesma cultivar sob os mesmos tratamentos (Controle e CO<sub>2</sub> Elevado) durante as estações chuvosas. É importante notar que no presente estudo, com a intenção de avaliar os efeitos a longo prazo da exposição a elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, a forragem foi mantida sem qualquer manejo (por exemplo, considerar o conceito de índice de área foliar para determinar o momento de corte) por aproximadamente seis meses (janeiro a julho de 2014), o que resultou em maiores proporções de colmo e material senescente, assim como as frações de fibra, quando comparadas a outros estudos avaliando o mesmo cultivar (PEDREIRA et al., 2017; LIMA et al., 2018).

A composição isotópica das plantas depende da composição isotópica da fonte de C e a razão entre a pressão parcial interna e externa de CO<sub>2</sub> no interior da câmara estomatal (FARQUHAR et al., 1989). Os menores valores de  $\delta^{13}\text{C}$  observados em *B. decumbens* sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico podem ser explicados pela alteração do valor da fonte de carbono. O CO<sub>2</sub> injetado neste experimento foi gerado por processos industriais e apresentou  $\delta^{13}\text{C}$  igual a -30,7 ‰, valor muito menor que o do CO<sub>2</sub> atmosférico, de aproximadamente -8‰. Dentro dos anéis de CO<sub>2</sub> Elevado, o CO<sub>2</sub> disponível para as plantas era uma mistura de CO<sub>2</sub> industrial e atmosférico, resultando em  $\delta^{13}\text{C}$  igual a -10,6 ‰.

Alterando os processos microbianos e das plantas envolvidos com o ciclo do N, a elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode alterar o  $\delta^{15}\text{N}$  das espécies vegetais. (POLLEY et al., 2015). Neste estudo, o tratamento CO<sub>2</sub> Elevado apresentou uma pequena redução na razão C:N da fração total de *B. decumbens* e um pequeno aumento nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  foram observados nas porções folha e colmo da planta (Tabela 4.3). Outros autores também encontraram maiores valores de  $\delta^{15}\text{N}$  foliar em condição de elevada concentração de CO<sub>2</sub> (JOHNSON et al., 2000). Entretanto, neste estudo não foram avaliadas outras variáveis relacionadas ao ciclo do N e a diferença encontrada entre os tratamentos foi muito pequena (próxima ao erro analítico = 0,5‰) para ser atribuída como efeito da elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

A principal diferença observada neste estudo foi a redução da concentração de Ca na folha e material senescente de *B. decumbens* cultivada sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (Figuras 4.3 e 4.5), corroborando, em partes, a hipótese de que a qualidade nutricional seria comprometida. Cálcio é um nutriente para plantas, com papel estrutural em membranas e parede celular, além de atuar como mensageiro intracelular no citosol (WHITE; BROADLEY, 2003). Reduzidos teores de Ca podem ter implicações na nutrição animal, uma vez que, entre outras questões, sua baixa disponibilidade para os microrganismos ruminais compromete a digestão da fibra dietética (FIELDING; MILLER, 1986). Outros estudos encontraram menores concentrações de Ca nas culturas de sorgo e soja cultivadas em condição de elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e atribuíram estes resultados a um efeito de diluição causado pelo aumento da biomassa (ROGERS; RUNION; KRUPA, 1994; ROGERS et al., 1999), usualmente chamado de “hipótese da diluição” (“dilution hypothesis”; LOLADZE et al., 2014). Entretanto, assumindo que a diluição é o principal processo relacionado à redução da concentração de Ca, um efeito negativo na concentração mineral ocorreria apenas em associação ao aumento da produção de biomassa, o que não foi observado neste estudo.

A concentração de Ca em forragens é resultado dos processos de absorção e translocação entre as raízes e a parte aérea (processos modulados por vários fatores ambientais que afetam o crescimento e metabolismo vegetal) (GRUNES; WELSH, 1989), estando relacionada ao fluxo dos nutrientes entre solo e planta (WHITE; BROADLEY, 2003).

Também relacionados ao fluxo de nutrientes, os processos envolvendo a utilização da água disponível no solo podem ser afetados pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, uma vez que nesta situação as plantas podem apresentar taxas de transpiração reduzidas e maior eficiência no uso da água nos processos fotossintéticos (FAY et al., 2012).

Neste trabalho, exceto pela concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, as parcelas dos diferentes tratamentos (Controle e CO<sub>2</sub> Elevado) estavam sob as mesmas condições de fertilidade de solo, temperatura do ar e pluviosidade, sendo assim, a redução na concentração de Ca observada parece estar mais relacionada ao aumento da eficiência no uso da água (parâmetro não avaliado) que a questões relacionadas a hipótese de diluição.

#### 4.5 Conclusões

Os resultados deste estudo demonstraram que a produção, características morfológicas e frações de fibra de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk não foram afetadas pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Entretanto, sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, a forragem apresentou redução no conteúdo de Ca, o que torna necessário a realização de novas pesquisas a fim de avaliar como esse resultado pode afetar a produção pecuária em um cenário de mudanças climáticas.

#### Referências

ABDALLA, A.L.; GHINI, R.; NATEL, A.S.; ABDALLA FILHO, A.L.; LOUVANDINI, H.; PICCOLO, M.C.; TORRE NETO, A.; NECHET, K.L. Forage quality and methane production of the grazing portion of grass produced under elevated [CO<sub>2</sub>]. In: GREENHOUSE GAS AND ANIMAL AGRICULTURE CONFERENCE, 6., 2016, Melbourne, Australia. **Abstracts...** Melbourne: GGAA, 2016.

ABDELGAWAD, H.; PESHEV, D.; ZINTA, G.; VAN DEN ENDE, W.; JANSSENS, I.A. Climate extreme effects on the chemical composition of temperate grassland species under ambient and elevated CO<sub>2</sub>: a comparison of fructan and non-fructan accumulators. **PlosONE**, San Francisco, v. 9, n. 3, e. 92044, 2014.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 18. ed. Arlington, VA, 2011.

AUGUSTINE, D.J.; BLUMENTHAL, D.M.; SPRINGER, T.L.; LECAIN, D.R.; GUNTER, S.A.; DERNER, J.D. Elevated CO<sub>2</sub> induces substantial and persistent declines in forage quality irrespective of warming in mixedgrass prairie. **Ecological Applications**, Tempe, v. 28, p. 721-735, 2018.

BARNEZE, A.S.; MAZZETTO, A.M.; ZANI, C.F.; MISSELBROOK, T.; CERRI, C.C. Nitrous oxide emissions from soil due to urine deposition by grazing cattle in Brazil. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 92, p. 394-397, 2014.

BROBERG, C.M.; HÖGY, P.; PLEIJEL, H. CO<sub>2</sub>-induced changes in wheat grain composition: meta-analysis and response functions. **Agronomy**, v. 7, p. 32, 2017. doi: 10.3390/agronomy7020032.

CAEMMERER, S.V.; FURBANK, R.T. The C<sub>4</sub> pathway: an efficient CO<sub>2</sub> pump. **Photosynthesis Research**, The Hague, v. 77, p. 191-207, 2003.

CERRI, C.C.; MOREIRA, C.S.; ALVES, P.A.; RAUCCI, G.S.; CASTIGIONI, B.A.; MELLO, F.F.C.; CERRI, D.G.P.; CERRI, C.E.P. Assessing the carbon footprint of beef cattle in Brazil: a case study with 22 farms in the State of Mato Grosso. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 112, p. 2593-2600, 2016.

CHANG, J.; CIAIS, P.; VIOVY, N.; SOUSSANA, J.F.; KLUMPP, K.; SULTAN, B. Future productivity and phenology changes in European grasslands for different warming levels: implications for grassland management and carbon balance. **Carbon Balance and Management**, London, v. 12, p. 11, 2017.

DAMATTA, F.M.; GRANDIS, A.; ARENQUE, B.C.; BUCKERIDGE, M.S. Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. **Food Research International**, Ottawa, v. 43, p. 1814–1823, 2010.

DICK, M.; SILVA, M.; DEWES, H. Mitigation of environmental impacts of beef cattle production in southern Brazil - Evaluation using farm-based life cycle assessment. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 87, p. 58-67, 2015.

DIETTERICH, L.H.; ZANOBETTI, A.; KLOOG, I.; HUYBERS, P.; LEAKEY, A.D.B.; BLOOM, A.J.; CARLISLE, E.; FERNANDO, N.; FITZGERALD, G.; HASEGAWA, T.N.; HOLBROOK, M.; NELSON, R.L.; NORTON, R.; OTTMAN, M.J.; RABOY, V.; SAKAI, H.; SARTOR, K.A.; SCHWARTZ, J.; SENEWEERA, S.; USUI, Y.; YOSHINAGA, S.; MYERS, S.S. Impacts of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on nutrient content of important food crops. **Scientific Data**, London, v. 2, art. 150036, 2015. doi: 10.1038/sdata.2015.36.

DUMONT, B.; ANDUEZA, D.; NIDERKORN, V.; LÜSCHER, A.; PORQUEDDU, C.; PICON-COCHARD, C. A meta-analysis of climate change effects on forage quality in grasslands: specificities of mountain and Mediterranean areas. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 70, p. 239–254, 2015.

EZZAT, S.; FADLALLA, B.; AHMED, H. Effect of growth stage on the macro mineral concentrations of forbs and grasses in a semi-arid region of Sudan. **Journal of Rangeland Science**, Lorestan, v. 8, p. 23-29, 2018.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 503-37, 1989.

FAY, P.A.; JIN, V.L.; WAY, D.A.; POTTER, K.N.; GILL, R.A.; JACKSON, R.B.; POLLEY, H.W. Soil-mediated effects of subambient to increased carbon dioxide on grassland productivity. **Nature Climate Change**, London, v. 2, p. 742-746, 2012.

FIELDING, A.S.; MILLER, W.J. Calcium and fat interactions in ruminant nutrition. **The Professional Animal Scientist**, Oxford, v. 2, p. 28-32, 1986.

GHINI, R.; TORRE-NETO, A.; DENTZIEN, A.M.; GUERREIRO-FILHO, O.; IOST, R.; PATRÍCIO, F.A.; PRADO, J.M.; THOMAZIELLO, R.; BETTIOL, W.; DAMATTA, F.; Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO<sub>2</sub> enrichment. **Climatic Change**, Cham, v. 132, p. 307-320, 2015.

GRACINDO, C.V.; LOUVANDINI, H.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA-FERREIRA, M.; CASTRO, M.B. Performance of sheep grazing in pastures of *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Panicum maximum*, and *Andropogon gayanus* with different protodioscin concentrations. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 46, p. 733-737, 2014.

GRUNES, D.L.; WELCH, R.M. Plant contents of magnesium, calcium and potassium in relation to ruminant nutrition. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, p. 3485-349, 1989.

INTERNATIONAL PANEL ON CLIMATE CHANGE – IPCC. **Climate Change 2014: Mitigation of climate change. Summary for Policymakers, Technical Summary.** Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, held at Geneva, Switzerland. Cambridge: Cambridge University Press, 2015. 161 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção da pecuária municipal - PPM.** Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012>.

JOHNSON, D.W.; CHENG, W.; BALL, J.T. Effects of CO<sub>2</sub> and N fertilization on decomposition and N immobilization in ponderosa pine litter. **Plant and Soil**, The Hague, v. 224, p. 115-122, 2000.

LARA, M.V.; ANDREO, C.S. C<sub>4</sub> Plants adaptation to high levels of CO<sub>2</sub> and to drought environments. In: SHANKER, A.; VENKATESWARLU, B. (Ed.). **Abiotic stress in plants. Mechanisms and adaptations.** Rijeka, Croatia: InTech, 2011.

LIMA, D.M.; ABDALLA FILHO, A.L.; LIMA, P.M.T.; SAKITA, G.Z.; SILVA, T.P.; MCMANUS, C.; ABDALLA, A.L.; LOUVANDINI, H. Morphological characteristics, nutritive quality, and methane production of tropical grasses in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 53, p. 323-331, 2018.

LOLADZE, I. Hidden shift of the ionome of plants exposed to elevated CO<sub>2</sub> depletes minerals at the base of human nutrition. **e-Life**, Cambridge, v. 3, e. 02245, 2014.

LONG, S.P.; AINSWORTH, E.A.; LEAKEY, A.D.B.; NOSBERGER, J.; ORT, D.R. Food for thought: lower than expected crop yield stimulation with rising CO<sub>2</sub> concentrations. **Science**, Washington, DC, v. 312, p. 1918-1921, 2006.

MALUF, H.J.G.M.; GHINI, R.; MELO, L.B.B.; SILVA, C.A. Fertilidade do solo e estado nutricional do cafeeiro cultivado em atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 50, p. 1087-1096, 2015.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study, **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 85, p. 1217-1240, 2002.

MILCHUNAS, D.G.; MOSIER, A.R.; MORGAN, J.A.; LECAIN, D.R.; KING, J.Y.; NELSON, J.A. Elevated CO<sub>2</sub> and defoliation effects on a shortgrass steppe: forage quality versus quantity for ruminants. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 111, p. 166-184, 2005.

MYERS, S.S.; ZANOBETTI, A.; KLOOG, I.; HUYBERS, P.; LEAKEY, A.D.; BLOOM, A.J.; CARLISLE, E.; DIETTERICH, L.H.; FITZGERALD, G.; HASEGAWA, T.; HOLBROOK, N.M.; NELSON, R.L.; OTTMAN, M.J.; RABOY, V.; SAKAI, H.; SARTOR, K.A.; SCHWARTZ, J.; SENEWEERA, S.; TAUSZ, M.; USUI, Y. Increasing CO<sub>2</sub> threatens human nutrition. **Nature**, London, v. 510, p. 139-142, 2014.

MUELLER, K.E.; BLUMENTHAL, D.M.; PENDALL, E.; CARRILLO, Y.; DIJKSTRA, F.A.; WILLIAMS, D.G.; FOLLETT, R.F.; MORGAN, J.A. Impacts of warming and elevated CO<sub>2</sub> on a semi-arid grassland are non-additive, shift with precipitation, and reverse over time. **Ecology Letters**, Oxford, v. 19, p. 956-966, 2016.

PEDREIRA, C.G.S.; BRAGA, G.J.; PORTELA, J.N. Herbage accumulation, plant-part composition and nutritive value on grazed signal grass (*Brachiaria decumbens*) pastures in response to stubble height and rest period based on canopy light interception. **Crop & Pasture Science**, Collingwood, v. 68, p. 62-73, 2017.

POLLEY, H.W.; DERNER, J.; JACKSON, R.; GILL, R.; PROCTER, A.; FAY, P. Plant community change mediates the response of foliar  $\delta^{15}\text{N}$  to CO<sub>2</sub> enrichment in mesic grasslands. **Oecologia**, Berlin, v. 178, p. 591-601, 2015.

PORTEAUS, F.; HILL, J.; BALL, A.S.; PINTER, P.J.; KIMBALL, B.A.; WALL, G.W.; ADAMSEN, F.J.; HUNSAKER, D.J.; LAMORTE, R.L.; LEAVITT, S.W.; THOMPSON, T.L.; MATTHIAS, A.D.; BROOKS, T.J.; MORRIS, C.F. Effect of free air carbon dioxide enrichment (FACE) on the chemical composition and nutritive value of wheat grain and straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 149, p. 322-332, 2009.

PORRAS, E.M.; LORENZO, P.; MEDRANO, E.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, M.J.; OTÁLORA-ALCÓN, G.; PIÑERO, M.C.; DEL AMOR, F.M.; SÁNCHEZ-GUERRERO, M.C. Photosynthetic acclimation to elevated CO<sub>2</sub> concentration in sweet pepper (*Capsicum annuum*) crop under Mediterranean greenhouse conditions: influence of the nitrogen source and salinity. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 44, p. 573-586, 2017.

ROGERS, H.H.; RUNION, G.B.; KRUPA, S.V. Plant responses to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment with emphasis on roots and the rhizosphere. **Environmental Pollution**, Barking, v. 83, p. 155-189, 1994.

ROGERS, H.H.; RUNION, G.B.; PRIOR, S.A.; TORBERT, H.A. Response of plants to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>: Root growth, mineral nutrition, and soil carbon, In: LUO, Y.; MOONEY, H.A. (Ed.). **Carbon dioxide and environmental stress**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 215-244.

SANZ-SÁEZ, A.; ERICE, G.; AGUIRREOLEA, J.; MUÑOZ, F.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; IRIGOYEN, J.J. Alfalfa forage digestibility, quality and yield under future climate change scenarios vary with *Sinorhizobium meliloti* strain. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 169, p. 782-788, 2012.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, Oxford, v. 92, p. 487-511, 2003.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o aumento da população mundial, demanda por combustíveis fósseis e mudanças no uso da terra, a elevação da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> e os consequentes cenários de mudanças climáticas parecem ser inevitáveis. Recentemente, os impactos globais do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera vêm sendo tema de vários estudos, entretanto observa-se que são escassos os que avaliem os efeitos em plantas de ciclo fotossintético do tipo C<sub>4</sub>, como as gramíneas tropicais, principal fonte de alimento para os animais nos sistemas de produção de ruminantes baseados em pastagens.

Considerando o aumento da demanda por produtos animais, a grande extensão das áreas de pastagens, assim como os potenciais impactos das mudanças climáticas nestes sistemas, os resultados deste trabalho apresentam relevância no contexto nacional de sustentabilidade na produção de alimentos.

Nas condições em que foram realizados os estudos deste trabalho (tempo de exposição, pluviosidade acumulada, temperatura média, etc.), o cenário de mudança climática de elevação da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> para  $\approx 550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub> não afetou a produção de biomassa, características morfológicas e frações de fibra de duas das mais importantes espécies de gramíneas utilizadas no Brasil: *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*. A composição química e qualidade nutricional de *B. brizantha* também não foram afetadas pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Entretanto, neste cenário de mudança climática, *B. decumbens* apresentou redução no conteúdo de Ca, o que pode ter implicações para a atividade pecuária onde o pastejo extensivo é predominante e os rebanhos dependem quase que exclusivamente destas forragens para terem supridas suas exigências nutricionais.