



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ELDER ANDREAZI

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS,
NUTRICIONAIS E DE CRESCIMENTO RELACIONADOS
COM A TOLERÂNCIA À SECA EM GENÓTIPOS DE CAFÉ**

Londrina
2017

ELDER ANDREAZI

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS,
NUTRICIONAIS E DE CRESCIMENTO RELACIONADOS
COM A TOLERÂNCIA À SECA EM GENÓTIPOS DE CAFÉ**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Agronomia da Universidade Estadual de Londrina,
como requisito parcial para a obtenção do título de
doutor em Agronomia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Inês Cristina de Batista
Fonseca

Co-orientador: Dr. Gustavo Hiroshi Sera

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Andreazi, Elder.

Parâmetros fisiológicos, bioquímicos, nutricionais e de crescimento relacionados com a tolerância à seca em genótipos de café / Elder Andreazi. - Londrina, 2017.
83 f. : il.

Orientador: Inês Cristina de Batista Fonseca.

Coorientador: Gustavo Hiroshi Sera.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Coffea - Tese. 2. Déficit hídrico - Tese. 3. Melhoramento genético - Tese. 4. Resistência - Tese. I. Fonseca, Inês Cristina de Batista. II. Sera, Gustavo Hiroshi. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

ELDER ANDREAZI

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS, NUTRICIONAIS E
DE CRESCIMENTO RELACIONADOS COM A TOLERÂNCIA À SECA
EM GENÓTIPOS DE CAFÉ**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Agronomia da Universidade Estadual de Londrina,
como requisito parcial para a obtenção do título de
doutor em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Inês Cristina de Batista
Fonseca

Universidade Estadual de Londrina – UEL

Co-orientador: Pesquisador Dr. Gustavo Hiroshi
Sera

Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. Getúlio Takashi Nagashima
Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR

Dr. Klever Márcio Antunes Arruda
Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR

Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr^a. Juliana Sawada Buratto
Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR

Londrina, 24 de Fevereiro de 2017.

*Dedico este trabalho à minha esposa
Cristiana, meus filhos Tomás e Chiara pelo
carinho e presença e aos meus pais José e Maria
Aparecida, pelo apoio em todas as decisões para
concluir mais essa etapa em minha vida.*

AGRADECIMENTOS

À DEUS em primeiro lugar, por permitir que tudo acontecesse.

À Universidade Estadual de Londrina e ao programa de Pós Graduação em Agronomia pela oportunidade da realização deste trabalho.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná por ceder a infraestrutura para realização dos experimentos.

Ao Consórcio Pesquisa Café por disponibilizar recursos para o projeto nacional de “Caracterização e desenvolvimento de cultivares de café com tolerância ao calor e à seca”, coordenado pelo Dr. Gustavo Hiroshi Sera, em parceria com EMBRAPA e IAC.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Dr^a Inês Cristina de Batista Fonseca pela orientação e ensinamentos em estatística experimental.

Ao Dr. Gustavo Hiroshi Sera pela co-orientação, apoio e ensinamentos em melhoramento genético, resistência a fatores bióticos e abióticos, redação de artigos científicos e sobre a cultura do café em geral.

Ao Dr. Tumoru Sera pelo grande ensinamento na cultura do café e exemplo.

Ao professor Dr Halley Caixeta de Oliveira pelas sugestões e ensinamentos em fisiologia vegetal.

Aos técnicos do Laboratório de genética de Café do IAPAR pelo apoio técnico.

A todos os funcionários, bolsistas e amigos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

ANDREAZI, Elder. **Parâmetros fisiológicos, bioquímicos, nutricionais e de crescimento relacionados com a tolerância à seca em genótipos de café.** 2017. 83f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O estresse por déficit hídrico prejudica todas as fases de crescimento e desenvolvimento do cafeeiro, no entanto, a quantificação dos danos é difícil de ser mensurada devido à complexa rede de mecanismos e interações que atuam na resposta ao estresse hídrico. As alterações climáticas têm deslocado a cafeicultura para zonas periféricas de instabilidade climática, com ocorrência de períodos secos prolongados o que tem provocado diminuição na produtividade, pois as cultivares de café não estão adaptadas à essas condições. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a resposta de tolerância à seca em linhagens de café arábica portadoras de genes de *Coffea racemosa*, por meio de parâmetros fisiológicos, bioquímicos, nutricionais e de crescimento e estudar quais as variáveis, dentre esses parâmetros, estão mais relacionadas com a tolerância à seca. O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação com mudas de aproximadamente seis pares de folhas que foram submetidas a dois déficits hídricos sucessivos, sendo uma réplica usada como ambiente controle. Foram testados três genótipos de *Coffea arabica* portadores de genes de *C. racemosa* e as cultivares Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente. As variáveis utilizadas permitiram, de maneira geral, boa diferenciação entre os genótipos tolerantes e sensíveis à seca, porém a observação dos parâmetros em conjunto foi mais eficiente nessa separação. Fotossíntese líquida, eficiência no uso da água, eficiência intrínseca no uso da água, eficiência de carboxilação, conteúdo relativo de água, intensidade de murcha, açúcares solúveis e teor de macro e micronutrientes foram mais importantes na identificação de tolerância à seca. Ao contrário, o teor de prolina e o peso seco não foram bons indicadores para diferenciar genótipos tolerantes de sensíveis. No geral, os resultados demonstraram boa tolerância à seca para os genótipos com introgressão de genes de *C. racemosa*, com destaque para H0113-40-26-10, que teve o melhor comportamento na maioria das variáveis estudadas, apresentando maior taxa fotossintética líquida, maior conteúdo relativo de água, maior eficiência no uso da água, maior eficiência intrínseca no uso da água, maior eficiência instantânea de carboxilação, menor intensidade de murcha, maiores teores de açúcares solúveis e maior aumento relativo nos teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, zinco e boro. A utilização de parâmetros fisiológicos, bioquímicos, de crescimento e nutricionais em conjunto permitiu melhor identificação da tolerância à seca em café. O genótipo H0113-40-26-10, levando em conta todas as variáveis estudadas, pode ser considerado mais tolerante que a testemunha tolerante IAPAR 59. Os genótipos H0113-40-26-1 e H0113-40-26-9, obtiveram comportamento similar à cultivar IAPAR 59 e foram mais tolerantes à seca que Tupi IAC 1669-33.

Palavras-chave: *Coffea*. Déficit hídrico. Melhoramento genético. Resistência.

ANDREAZI, Elder. **Physiological, biochemical, nutritional and growth parameters related to drought tolerance in coffee genotypes**. 2017. 83p. Thesis (Doctorate in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

Stress due to water deficit impairs all stages of coffee growth and development, however, the quantification of the damage is difficult to measure due to the complex network of mechanisms and interactions that act in the response to water stress. Climate change has displaced coffee cultivation to peripheral areas of climatic instability, with prolonged dry periods which have led to a decrease in productivity, as coffee cultivars are not adapted to these conditions. The objective of this work was to evaluate drought tolerance responses in young seedlings of *C. arabica* genotypes with introgression of *C. racemosa* genes, based on physiological, biochemical, nutritional and growth parameters, and to identifying which variables, among these parameters, are more related to drought tolerance. The work was carried out in greenhouse with seedlings of approximately six pairs of leaves that were submitted to two successive water deficits, being a replica used as a control environment. Three genotypes of *Coffea arabica* bearing *C. racemosa* genes and the sensitive and drought tolerant Tupi IAC 1669-33 and IAPAR 59 cultivars were tested. The variables used allowed, in a general way, a good differentiation between the tolerant and drought sensitive genotypes, but the observation of the parameters together was more efficient in this separation. Liquid photosynthesis, water use efficiency, intrinsic water use efficiency, carboxylation efficiency, relative water content, wilt intensity, soluble sugars, and macro and micronutrient content were more important in the identification of drought tolerance. In contrast, proline content and dry weight were not good indicators to differentiate from tolerant to sensitive genotypes. In general, the results showed good tolerance to drought for genotypes with introgression of *C. racemosa* genes, especially H0113-40-26-10, which had the best behavior in most of the studied variables, presenting a higher net photosynthetic rate, Higher relative water content, higher water efficiency, higher intrinsic water use efficiency, higher instantaneous carboxylation efficiency, lower wilt intensity, higher soluble sugar content and higher relative increase in nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, copper, zinc and boron. The use of physiological, biochemical, growth and nutritional parameters together allowed better identification of the drought tolerance in coffee. The genotype H0113-40-26-10, taking into account all variables studied, can be considered more tolerant than the tolerant control IAPAR 59. Genotypes H0113-40-26-1 and H0113-40-26-9, obtained behavior similar to the IAPAR 59 cultivar and were more drought tolerant than Tupi IAC 1669-33.

Key words: Breeding. *Coffea*. Resistance. Water deficit.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

- Figura 4.1** – Temperaturas médias, máximas e mínimas diárias dentro da casa de vegetação durante o período do experimento 39
- Figura 4.2** – Escala de notas de intensidade de murcha (IM) variando de 1 a 5 42

LISTA DE TABELAS

- Tabela 4.1** – Genealogia e identificação de genótipos de café utilizados para teste de tolerância à seca. 40
- Tabela 5.1** – Tabela de análise de variâncias conjunta de experimentos (dois ambientes (A)) com parcelas subdivididas (5x2), sendo cinco genótipos (G) e dois estresses (E), para as variáveis relacionadas aos parâmetros fisiológicos 47
- Tabela 5.2** – Parâmetros fisiológicos avaliados em casa de vegetação em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes (controle irrigado = CI; sem irrigação = SI) e dois períodos de restrição de irrigação (1º estresse = E1; 2º estresse = E2)..... 48
- Tabela 5.3** – Intensidade de murcha avaliada em casa de vegetação em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois períodos de restrição de irrigação (1º estresse = E1; 2º estresse = E2)...49
- Tabela 5.4** – Tabela de análise de variâncias conjunta de experimentos (dois ambientes (A)) com parcelas subdivididas (5x2) sendo cinco genótipos (G) e dois estresses (E), para as variáveis relacionadas aos parâmetros bioquímicos 50
- Tabela 5.5** – Parâmetros bioquímicos avaliados em casa de vegetação em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes (controle irrigado = CI; sem irrigação = SI) e dois períodos de restrição de irrigação (1º estresse = E1; 2º estresse = E2)..... 51

Tabela 5.6 – Tabela de análise de variâncias conjunta (CI e SI) para avaliação de genótipos (G) quanto as variáveis relacionadas aos parâmetros nutricionais.....	54
Tabela 5.7 – Teor de macronutrientes em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de <i>Coffea arabica</i> com introgressão de genes de <i>C. racemosa</i> e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes: controle irrigado (CI) e sem irrigação (SI) e dois períodos de restrição de irrigação conduzidas em casa de vegetação.....	54
Tabela 5.8 – Teor de micronutrientes em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de <i>Coffea arabica</i> com introgressão de genes de <i>C. racemosa</i> e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes: controle irrigado (CI) e sem irrigação (SI) e dois períodos de restrição de irrigação conduzidas em casa de vegetação.....	55
Tabela 5.9 – Variação relativa nutricional (VR) em plântulas com aproximadamente seis pares de folhas completas, de três genótipos de <i>Coffea arabica</i> com introgressão de genes de <i>C. racemosa</i> e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes: controle irrigado (CI) e sem irrigação (SI) e dois períodos de restrição de irrigação conduzidas em casa de vegetação	55
Tabela 5.10 – Tabela de análise de variância conjunta (CI e SI), para avaliação de genótipos (G) quanto as variáveis relacionadas aos parâmetros de crescimento	57
Tabela 5.11 - Parâmetros de crescimento avaliados em casa de vegetação em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de <i>Coffea arabica</i> com introgressão de genes de <i>C. racemosa</i> e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes (controle irrigado = CI; sem irrigação = SI)	57

Tabela 5.12 –	Peso seco de plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de <i>Coffea arabica</i> com introgressão de genes de <i>C. racemosa</i> e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes (controle irrigado = CI; sem irrigação = SI).....	58
----------------------	---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	CAFÉ.....	16
2.2	LIMITES CLIMÁTICOS PARA A CULTURA DO CAFÉ.....	16
2.3	ESTRESSE ABIÓTICO EM PLANTAS.....	17
2.4	DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS.....	18
2.5	PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS RELACIONADOS AO DÉFICIT HÍDRICO	21
2.5.1	Fotossíntese Líquida, Condutância Estomática e Transpiração	21
2.5.2	Açúcares Solúveis e Amido	22
2.5.3	Prolina	25
2.5.4	Relações Hídricas	26
2.5.5	Murcha Foliar	27
2.6	PARÂMETROS NUTRICIONAIS.	28
2.7	PARÂMETROS DE CRESCIMENTO.....	32
2.8	TOLERÂNCIA À SECA EM <i>COFFEA</i> SPP	35
3	HIPÓTESES	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	OBTENÇÃO DAS MUDAS.	39
4.2	GENÓTIPOS.....	39
4.3	VARIÁVEIS ANÁLISDAS	40
4.4	PERÍODO DE ACLIMATAÇÃO E ESTRESSE	40
4.5	AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS	41
4.6	AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS.....	42
4.7 -	AVALIAÇÕES NUTRICIONAIS	43
4.8 -	AVALIAÇÕES DE CRESCIMENTO	44
4.9 -	DELINEAMENTO E ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	44

5	RESULTADOS	46
5.1 -	PARÂMETROS FISIOLÓGICOS	46
5.2 -	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	50
5.3 -	PARÂMETROS NUTRICIONAIS	52
5.4 -	PARÂMETROS DE CRESCIMENTO.....	56
6 -	DISCUSSÃO	60
6.1 -	CONSIDERAÇÕES SOBRE A ORIGEM GENÉTICA.....	71
7	CONCLUSÕES	73
	REFERÊNCIAS	74

1 INTRODUÇÃO

A cultura do café encontra-se limitada à faixa intertropical que vai de 20-25 °N no Havaí até a 24 °S no Brasil. Os principais impedimentos ao seu crescimento e desenvolvimento estão relacionados à temperatura e umidade relativa do ar (SMITH, 1989). No entanto, a espécie *Coffea arabica* encontra no Brasil extensas áreas adequadas a seu cultivo, com condições semelhantes às encontradas em seu centro de origem, a Etiópia, que é caracterizada por distribuição abundante de chuvas e umidade atmosférica elevada (PINHEIRO et al., 2005; CHESEREK; GICHIMU, 2012). Porém, o que se tem visto em nosso país, é uma forte tendência de expansão das lavouras cafeeiras para regiões com limitações hídricas, com má distribuição das chuvas ao longo do ano e temperaturas mais elevadas. Essas condições comprometem o crescimento e desenvolvimento das plantas, afetando negativamente a produtividade dos cafezais, principalmente quando coincidem com o período de frutificação (SILVA; MAZZAFERA, 2008).

O déficit hídrico permanente ou temporário prejudica severamente o crescimento e o desenvolvimento das plantas, mais do que qualquer outro fator ambiental (ANJUM et al., 2011), comprometendo relações hídricas, absorção de nutrientes, fotossíntese, abertura estomática, partição de assimilados, respiração, entre outros, além de causar danos oxidativos (FAROOQ, et al., 2009). A seca pode ser considerada o principal fator ambiental responsável pela diminuição da produtividade do cafeeiro, não só no Brasil, mas também, em outros países produtores (DaMATTA; RAMALHO, 2006).

O déficit hídrico reduz a taxa fotossintética e a respiração, tanto na presença de luz quanto no escuro (AYUB et al., 2011). A síntese de moléculas protetoras hidrófilas de baixo peso molecular, como açúcares solúveis e prolina, também é uma reação comum de resposta ao estresse (SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2002). O teor de açúcares aumenta em plantas em decorrência do déficit hídrico (BASU et al., 2007; ISKANDAR et al., 2011; BRUM et al., 2013; LIN et al., 2014; DURAND et al., 2016). Parte desse aumento se dá pela hidrólise de moléculas de amido para gerar açúcares de baixo peso molecular como glicose e maltose (BASU et al., 2007).

A seca reduz a área foliar, o volume radicial e a biomassa em geral (ANJUM et al., 2011; DURAND et al., 2016), afeta os pigmentos fotossintéticos e reduz a trocas gasosas, comprometendo as relações hídricas e leva a redução no desenvolvimento e produtividade da planta (ANJUM et al., 2011). Afeta também, de forma significativa, plântulas, reduzindo o crescimento, diâmetro do colo de raiz, peso seco da raiz e de ramos,

número de ramos, porcentagem de raízes e as relações raiz/parte aérea e diâmetro/altura (DELIGOZ; GUR, 2015).

Em condições de limitação hídrica, a absorção de nutrientes pelas plantas fica comprometida. Aparentemente, ocorre diminuição na taxa de absorção dos elementos minerais (SILVA et al., 2011). O fornecimento de nutrientes para a planta está diretamente relacionado ao movimento da água nas raízes, quando esse movimento cessa, devido à menor disponibilidade de umidade no solo, o suprimento se torna limitante rapidamente, provocando redução no crescimento (BISHT, 1993).

Por outro lado, os nutrientes minerais desempenham um papel vital na determinação da tolerância à seca em plantas (HU; SCHMIDHALTER, 2005). Concentrações adequadas de macro e micronutrientes, podem amenizar os efeitos causados pelo déficit hídrico sob o crescimento e desenvolvimento das plantas (ASLAM et al., 2013). A redução do potencial osmótico, pela acumulação de K e Na em folhas, por exemplo, permitiu um melhor ajuste osmótico e manutenção do turgor foliar, em *Acacia saligna*, mesmo com baixa disponibilidade hídrica no solo (EL-GENDY et al., 2012).

Os danos provocados pelo déficit hídrico nas plantas podem ser amenizados por meio do uso de cultivares tolerantes à seca. Entretanto, a identificação de genótipos tolerantes é difícil, uma vez que a distribuição das chuvas é irregular e a tolerância à seca é uma característica poligênica, muito influenciada pelo ambiente (MULLET; WHITSITT, 1997). Daí a importância de se identificar parâmetros que melhor caracterizem o impacto do estresse hídrico nas plantas e, a partir daí, utilizar aqueles que mais contribuam para a tolerância à seca. A eficiência no uso da água, a condutância hidráulica, os ajustes osmótico e elástico, e a modulação da área foliar, por exemplo, têm sido importantes na diferenciação de genótipos tolerantes, no entanto, os mecanismos envolvidos nesses e outros processos ainda não estão totalmente compreendidos (DaMATTA, 2004).

A integração de parâmetros é a melhor forma de se avaliar a tolerância à seca em plantas. Abertura estomática, fotossíntese, crescimento, retenção de água dos tecidos, potencial osmótico e resistência da membrana, por exemplo, tem se mostrado muito mais eficientes quando analisados em conjunto, mas a relação entre cada um deles e com a tolerância à seca pode ser complexa e depende da intensidade e da duração do período seco (FRANÇA et al., 2000).

Algumas espécies de *Coffea* apresentam maior tolerância à seca do que *C. arabica*, e podem ser utilizados em programas de melhoramento. *Coffea racemosa*, originária de regiões de Moçambique sujeitas a consideráveis períodos de estiagem, apresenta boa

adaptação à seca. Da mesma forma, cafeeiros arábicos da série BA, portadores de genes do *C. liberica*, se mostraram mais tolerantes à seca do que outros cafeeiros arábicos (MAZZAFERA; CARVALHO, 1987). Entretanto, em outro estudo foi observado que *C. arabica*, em relação à *C. liberica*, possui maior proteção antioxidante induzida pelo déficit hídrico e maior pool total de pigmentos usados na fotoproteção, que auxiliam na redução dos danos provocados por fotoinibição durante a dessecação e a recuperação da fotossíntese, quando as condições favoráveis são reestabelecidas (CAI et al., 2005).

Por outro lado, quando comparado com *C. canephora* cv. Kouillou, a cultivar Catuaí Vermelho de *C. arabica* foi menos eficiente em se recuperar do estresse por seca (DaMATTA; MAESTRI; BARROS, 1997). Clones de café da espécie *C. canephora*, tolerantes à seca, quando submetidos ao estresse hídrico, demonstraram aumento na biomassa total, além de maior aprofundamento do sistema radicular, quando comparados aos clones sensíveis (PINHEIRO et al., 2005). Ao que se sabe, já foram identificados mais de 40 genes que apresentam expressão diferencial durante a aclimação à seca em clones de *C. canephora*, alguns deles apresentando diferentes perfis de expressão entre clones tolerantes e suscetíveis à seca (MARRACCINI et al., 2012).

Em outro exemplo, mudas da cultivar Siriema de *C. arabica* com aproximadamente seis pares de folhas, sobreviveram durante 30 dias ao estresse hídrico. Porém, essas plantas só foram capazes de recuperar seu potencial de água quando a reidratação foi realizada até o 24º dia após o início do estresse (BRUM et al. 2013). Além dos já referenciados, tolerância à seca também é citada em *C. kapakata*, porém sem muitos detalhes (MÔNACO; MEDINA, 1965).

Compreender os mecanismos de respostas fisiológicas e bioquímicas à seca em *Coffea* spp. pode contribuir para a seleção de genótipos tolerantes (DaMATTA, 2004). Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram avaliar as respostas de tolerância à seca em plântulas jovens de genótipos de *C. arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa*, baseados em parâmetros fisiológicos, bioquímicos, de crescimento e nutricionais e identificar quais variáveis, dentre esses parâmetros, estão mais relacionadas com a tolerância à seca.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CAFÉ

O café é uma das principais commodities mundiais, sendo o Brasil o maior produtor e exportador. A área plantada com as espécies arábica e conilon (*Coffea canephora*) no país em 2016 totalizou, aproximadamente, 2,22 milhões de hectares, correspondendo a um decréscimo de 1,1% em relação à área colhida na safra anterior. Em 2016, a última estimativa de produção, realizada em dezembro, indica que o país deverá colher 51,37 milhões de sacas beneficiadas de 60 quilos, sendo cerca de 84% correspondentes a *C. arabica* e 16% a *C. canephora*. Acréscimo de 18,8% em relação a “modesta” produção de 2015, com 43,38 milhões de sacas, que sofreu com as alterações climáticas, sobretudo secas, que ocorreram em anos anteriores (CONAB, 2016).

A espécie *Coffea arabica* é a mais importante comercialmente, sendo responsável por mais de 60% do café produzido em todo mundo (ICO, 2017). A produtividade por área vem aumentando gradativamente, graças às tecnologias que vêm sendo utilizadas no processo produtivo e principalmente na obtenção de novas cultivares, mais produtivas, e que apresentam resistência a pragas, doenças e fatores abióticos, que são grandes responsáveis pelo decréscimo na produtividade (SERA, 2001).

2.2 LIMITES CLIMÁTICOS PARA A CULTURA DO CAFÉ

A cultura do café está limitada à zona inter-tropical 20-25 °N no Havaí até a 24 °S no Brasil, principalmente devido a fatores ecológicos relacionados com a temperatura e umidade (SMITH, 1989). A espécie *C. arabica* encontra no Brasil extensas áreas adequadas a seu cultivo, com condições semelhantes às encontradas em seu centro de origem, a Etiópia, que é caracterizada por distribuição abundante de chuvas e umidade atmosférica elevada (PINHEIRO et al., 2005; CHESEREK; GICHIMU, 2012). No entanto, verifica-se tendência de expansão da cafeicultura para locais com limitações hídricas, má distribuição das chuvas ao longo do ano e temperaturas mais elevadas, que afetam negativamente a produtividade dos cafezais, pois coincidem com o período de frutificação (SILVA; MAZZAFERA, 2008).

A deficiência hídrica é um dos fatores ambientais responsáveis pela diminuição da produtividade do cafeeiro, tanto no Brasil quanto em outros países produtores (DAMATTA; RAMALHO, 2006). A água é o principal constituinte das plantas, podendo

representar de 50 a 95% da massa fresca total dos diferentes órgãos e tecidos vegetais e está relacionada a diversas funções, como estrutura, crescimento, transporte, regulação da temperatura nas superfícies foliares, além de ser um solvente ideal para as reações químicas nas células (PÉREZ, 2006). Deste modo, as plantas necessitam manter um balanço entre a absorção e a perda de água, o que lhes constitui um sério desafio. As taxas relativas dos movimentos de abertura e fechamento dos estômatos podem refletir a ênfase de cada espécie na fixação do carbono, ou na conservação da água em determinadas condições ambientais (PEARCY, 1990). O fechamento estomático devido à deficiência hídrica afeta a entrada de CO₂ na folha e por consequência a fotossíntese, que pode decrescer acentuadamente. Limitações estomáticas e do mesófilo, por exemplo, podem restringir totalmente a taxa fotossintética em espécies C3 (GALMÉS; MEDRANO; FLEXAS, 2007).

2.3 ESTRESSE ABIÓTICO EM PLANTAS

Em sistemas biológicos o estresse pode ser considerado como uma carga de muitos fatores ambientais individuais, onde processos metabólicos são alterados ou deformados. Em condições de resfriamento, por exemplo, a força do estresse pode ser estimada como o produto do estresse causado pelo frio acima do ponto de congelamento, multiplicada pela duração da exposição, que é proporcional a extensão do dano (SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2002). De maneira geral, podemos definir o estresse como algum fator externo que causa desvantagem à planta (TAIZ; ZEIGER, 2009).

As plantas podem se adaptar a condições de estresse pela chamada modulação elástica. Tais adaptações ocorrem em reações de estresse que não fazem parte das alterações metabólicas normais, como por exemplo, a indução de plantas MAC (Metabolismo Ácido das Crassuláceas) por estresse hídrico ou salínico. A adaptação pode ocorrer pelo impedimento do estresse, como acontece com as MAC, que fecham seus estômatos em horários mais quentes e secos do dia, ou pelo desenvolvimento de tolerância intrínseca, como aumento do potencial de água da planta. As plantas podem também apresentar mecanismos de reparação de danos, se estes não forem tão severos (SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2002).

Em condições de estresse abiótico, as funções metabólicas das plantas são alteradas, prejudicando seu desenvolvimento. Para manter o metabolismo essencial, a rede metabólica deve ser reconfigurada, aclimatando-se as condições de estresse atuais (OBATA; FERNIE, 2012). As modificações que ocorrem nas plantas para melhorar a tolerância se

baseiam principalmente na modulação da expressão de genes que protegem e mantêm a função e a estrutura de componentes celulares (WANG; VINOGRAD; ALTMAN, 2003). Vias alternativas de transferência de elétrons no “pool” de ubiquinona, por exemplo, podem estar envolvidas na sobrevivência da planta após estresse severo, através da manutenção das taxas respiratórias e redução da perda de água e teor de clorofila, além do incremento no uso de aminoácidos, o que permite um melhor desempenho metabólico sob episódios de restrição hídrica (PIRES et al., 2016).

Existe uma estreita relação entre estresse e a capacidade da planta em responder ao ambiente desfavorável gerado por esse estresse, o qual é denominado tolerância (TAIZ; ZEIGER, 2009). Normalmente as plantas reagem aos estresses por meio de alterações metabólicas, que são desencadeadas por sinais. Se o organismo resistir as tensões impostas ele é tolerante, se, no entanto, houver injúrias, o organismo pode ser considerado sensível. Se o mesmo não for capaz de reparar os danos, ele pode não sobreviver (SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2002). A combinação de diferentes estresses pode levar a um resultado inferior de danos, devido a um efeito benéfico originado de uma pré-aclimatação, induzida por uma das tensões (ARAÚJO et al., 2016).

Devido à dificuldade em se mensurar a fisiologia molecular de uma tensão, a quantificação do estresse, em muitos casos, é realizada por meio de medidas de sobrevivência, como por exemplo, o grau de dano causado. Estresses múltiplos podem desencadear respostas múltiplas. O estresse pode desencadear não somente alterações no metabolismo das plantas, mas também reações que não são observadas em organismos não estressados, como a síntese de proteínas de resposta ao estresse (SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2002).

2.4 DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS

A agricultura responde por cerca de 70% do uso da água doce do mundo. Quantidade considerável dessa água é administrada na forma de irrigação e vem de reservas subterrâneas. Com o aumento da temperatura global e a escassez desse recurso natural a ocorrência de secas poderá se tornar cada vez mais frequentes (BOURZAC, 2013).

Segundo Taiz e Zeiger (2009 p. 614), “[...] O déficit hídrico pode ser definido como todo conteúdo de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado de maior hidratação”. O déficit hídrico permanente ou temporário prejudica severamente o crescimento e o desenvolvimento das plantas (ANJUM et

al., 2011). Em condições de estresse hídrico ocorre desidratação parcial das células, que causa problemas na estabilidade das biomembranas, redução do volume celular e da flexibilidade da membrana, encolhimento dos protoplastos, concentração da solução celular, estresse oxidativo, decréscimo ou perda de turgor, alterações no gradiente de potencial de água através da membrana, murchamento e, em casos severos, desintegração das biomembranas e desnaturação de proteínas (SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2002).

As plantas respondem ao déficit hídrico por meio de diversos mecanismos. Entre eles, estão o retardo da desidratação, que corresponde à capacidade de manutenção da hidratação do tecido durante o período seco, como por exemplo, a inibição da expansão ou mesmo abscisão foliar, fechamento estomático, estímulo do crescimento radicular, entre outros. A tolerância à desidratação, que é a capacidade de manter as funções celulares enquanto desidrata. E o escape, no qual as plantas completam seu ciclo durante o período úmido, antecipando a estação seca. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A planta de café, por exemplo, parece manter um alto conteúdo relativo de água no interior das células do mesofilo em condições de desidratação, preservando água, ao invés de apresentar mecanismos para tolerar a desidratação. Esse comportamento estaria relacionado à eficiência no fechamento estomático, com concomitante diminuição da transpiração e aumento da eficiência no uso da água (DaMATTA, et al., 1993; MELKE; FETENE, 2014). Nesse caso, a tolerância à seca pode ser conseguida por meio da redução da condutância estomática e do crescimento, que acarreta atraso no início do estresse (LAWLOR, 2013).

Uma planta exposta a um ambiente estressante desencadeia mecanismos de defesa que, em caso de um novo estresse, podem atuar diminuindo danos, processo chamado de aclimação, o qual se distingue da adaptação, que está relacionada a mecanismos genéticos determinados (TAIZ; ZEIGER, 2009). Plantas de *Moringa oleifera*, por exemplo, expostas a tensões combinadas de déficit hídrico e radiação UV, foram mais tolerantes que quando expostas a esses mesmos estresses, isoladamente, sugerindo que esta espécie é capaz de lidar com as múltiplas pressões, e que a aclimação anterior a uma das tensões pode desempenhar um papel importante nesta tolerância (ARAÚJO et al., 2016).

Um mecanismo adaptativo observado em genótipos de *Arabidopsis thaliana* foi a redução da taxa de respiração, juntamente com a parada do crescimento durante o déficit hídrico (PIRES et al., 2016). Em *Pinus pinea*, o aumento do teor de prolina nas acículas, um mecanismo de ajuste osmótico, foi positivamente relacionado com o aumento da tolerância à

seca. A redução do crescimento observado no mesmo estudo também foi relacionada aos mecanismos de resposta a tolerância à seca (DELIGOZ; GUR, 2015).

O estresse hídrico muitas vezes leva à acumulação de espécies reativas de oxigênio (ROS) sendo que, a produção excessiva dessas moléculas altera as atividades de enzimas envolvidas na sua remoção. Plantas transgênicas de tomate, por exemplo, tolerantes ao déficit hídrico, apresentaram aumento significativo e consistente na atividade das enzimas responsáveis pela remoção de ROS como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) e guaiacol peroxidase (POD), além de aumento do nível de prolina. Em paralelo, houve forte supressão dos níveis de ânions superóxido quando comparadas com o genótipo sensível (RAI; SINGH; SHAH, 2012).

O estresse por seca também reduz a fotossíntese e a respiração, tanto na presença de luz quanto no escuro, como visto em *Eucalyptus saligna*, porém, o efeito inibitório é menor na respiração noturna, indicando que, na presença de luz a respiração é mais inibida. O processo de redução/assimilação de nitrogênio na folha é dependente da luz, sugerindo que a diminuição na demanda por produtos respiratórios seja mais evidente na presença de luz, subsequentemente, o efeito inibitório da seca é maior sobre a respiração diurna do que na noturna (AYUB et al., 2011).

Em *Acacia saligna* foram verificados diferentes mecanismos relacionados à tolerância à seca. Foi detectada maior eficiência na regulação estomática quando os níveis de água no solo eram limitantes, evitando assim a perda de grandes quantidades de água através da transpiração. Por conseguinte, a redução na transpiração levou à consequente redução do crescimento, evitando custos energéticos elevados para a planta. Por fim, a redução do potencial osmótico, pela acumulação de K^+ , Na^+ e prolina nas folhas, e K^+ e prolina nas raízes, permitiu um melhor ajuste osmótico e manutenção do turgor foliar, mesmo com baixa disponibilidade hídrica no solo (EL-GENDY et al., 2012).

Dessa forma, a aplicação de parâmetros integrados é importante ao avaliar a tolerância à seca das plantas. Abertura estomática, fotossíntese, crescimento, retenção de água dos tecidos, potencial osmótico e resistência da membrana são parâmetros úteis, mas a relação entre cada uma delas e a tolerância ao estresse hídrico em plantas pode ser complexa, e depende da intensidade e da duração do período seco (FRANÇA et al., 2000).

Uma forma de contornar as dificuldades de adaptação das espécies cultivadas ao estresse por seca, seria selecionar genótipos com melhor desempenho nesses ambientes. No entanto, isso não é tão simples, uma vez que a distribuição das chuvas é irregular e a tolerância à seca é uma característica poligênica, muito influenciada pelo

ambiente (MULLET; WHITSITT, 1997). Daí a importância de se identificar parâmetros que melhor caracterizem o impacto do estresse hídrico nas plantas e, a partir daí, selecionar aqueles que mais contribuam para a tolerância à seca. A eficiência no uso da água, a condutância hidráulica, os ajustes, osmótico e elástico, e a modulação da área foliar, por exemplo, têm sido importantes na diferenciação de genótipos tolerantes de sensíveis, no entanto, os mecanismos envolvidos nesses e outros processos ainda não estão totalmente compreendidos (DaMATTA, 2004).

2.5 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS RELACIONADOS AO DÉFICIT HÍDRICO

O estresse hídrico afeta todo processo de crescimento e desenvolvimento das plantas, comprometendo relações hídricas, absorção de nutrientes, fotossíntese, abertura estomática, partição de assimilados, respiração, entre outros, além de causar danos oxidativos (FAROOQ, et al., 2009).

2.5.1 Fotossíntese Líquida, Condutância Estomática e Transpiração

Um primeiro efeito da seca em plantas é a diminuição na taxa de fotossíntese líquida, que está intimamente ligada à redução na taxa de carboxilação pela Rubisco, devido a menor concentração de carbono interno, que por sua vez, é resultado da menor abertura estomática (AYUB et al., 2011). O estresse por seca diminui progressivamente as taxas de assimilação de CO₂ devido à redução na condutância estomática (ANJUM et al., 2011). Além disso, o excesso de energia livre prejudica o aparato fotossintético provocando danos na Rubisco e nos fotossistemas, consequentemente, reduzindo a taxa fotossintética. A transpiração reduzida sob condições quentes e ensolaradas diminui a capacidade de resfriamento das folhas, aumentando a temperatura da folha e, consequentemente, a incidência de estresse por calor. A fotossíntese é extremamente sensível, sendo inibida mesmo em condições de calor moderado, devido ao aumento da fotorrespiração (CARMO-SILVA et al., 2012).

Em genótipos tolerantes à seca, valores de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e a eficiência no uso da água (A/E) são menos afetados que em genótipos suscetíveis. Isso ocorre, provavelmente, porque genótipos suscetíveis apresentam valores muito baixos de A sob déficit hídrico, devido à limitação na

condutância do mesofilo, o que associado com um alto valor de E , resulta na menor A/E (MAGALHÃES et al., 2015).

Plantas de algodão submetidas a estresse por seca tiveram suas taxas fotossintéticas e de transpiração significativamente diminuídas, sendo que a transpiração foi mais inibida que a fotossíntese, proporcionando aumento na eficiência do uso da água (WANG et al., 2016). Da mesma forma, plantas de feijão, apresentaram redução da taxa fotossintética, a qual foi atribuída, entre outras causas, ao fechamento estomático e conseqüentemente a restrição da entrada de CO_2 no mesofilo. Efetivamente, o genótipo sensível, que fechou seus estômatos rapidamente, também apresentou a maior redução da taxa de crescimento relativo. Os genótipos tolerantes, que fecharam seus estômatos mais lentamente, mantiveram a assimilação de CO_2 por mais tempo e apresentaram menor redução de taxa de crescimento relativo. Além disso, apesar do genótipo sensível fechar seus estômatos precocemente, ele não foi capaz de evitar a perda de água, evento que estaria relacionado à maior transpiração cuticular e a incapacidade de retenção de água, diminuindo assim o potencial hídrico da folha (FRANÇA et al., 2000).

2.5.2 Açúcares Solúveis e Amido

A síntese de moléculas protetoras hidrófilas de baixo peso molecular, como açúcares solúveis, é uma reação comum de resposta ao estresse (SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2002). O teor de açúcares solúveis aumenta em plantas em decorrência do déficit hídrico (BASU et al., 2007; ISKANDAR et al., 2011; BRUM et al., 2013; LIN et al., 2014; DURAND et al., 2016). Parte desse aumento se dá pela hidrólise de moléculas de amido para gerar açúcares de baixo peso molecular (como glicose e maltose). Com a diminuição da taxa fotossintética a um nível limiar, o amido é quebrado principalmente na forma de açúcares redutores (maltose) (ANDRADE et al., 2016; BASU et al., 2007), que são mobilizados para outros tecidos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2009). O aumento no teor de açúcares solúveis pode ser uma resposta a desidratação, atuando na regulação osmótica celular em resposta ao estresse (ARAÚJO et al., 2016). Os carboidratos que não são incorporados na parede celular diminuem o potencial osmótico celular, mantendo assim a água na célula e a pressão de turgescência adequada, resultando em bom funcionamento do aparato fotossintético (HURA et al., 2012).

Por outro lado, plantas em condições de estresse hídrico, podem apresentar redução na concentração de amido sem, no entanto, apresentar aumento de açúcares redutores.

Nesse caso, a hidrólise do amido poderia atenuar parcialmente flutuações nas concentrações de açúcar, quando a fotossíntese é limitante (PRAXEDES et al., 2006). No entanto, a distinção entre fonte e dreno nas folhas é importante para interpretação das concentrações de açúcares (REBOLLEDO et al., 2012). Em *Pinus* (*Pinus pinea* L.), por exemplo, houve decréscimo de açúcares totais em condições de seca, quando comparado com o controle irrigado (DELIGOZ; GUR, 2015).

A disponibilidade hídrica acelera o processo de assimilação e transporte de carbono dentro das plantas, alterando o tempo de resposta entre fotossíntese e respiração nas raízes (KUZYAKOV; GAVRICHKOVA, 2010). Além de ser responsável pela assimilação de carbono, a fotossíntese também determina a partição do mesmo dentro da planta. Em condições normais, o carbono assimilado na fotossíntese é rapidamente respirado e convertido a amido ou biomassa estrutural, sendo que boa parte forma sacarose para ser translocado para tecidos dreno (BARTHEL et al., 2011).

Na maioria das plantas, uma grande fração do carbono assimilado durante o dia é armazenado transitoriamente no cloroplasto como amido, para posterior utilização durante a noite. Plantas de dia curto compartimentalizam, relativamente, mais fotoassimilados na forma de amido do que as de dia longo. Assim, quanto menor o fotoperíodo, maior a proporção de fotoassimilados armazenados como amido (ZEEMAN; SMITH; SMITH, 2007). Respostas ao estresse hídrico associadas ao metabolismo do amido e da sacarose em tecidos do ovário de milho demonstraram aumento na expressão de genes relacionados à síntese de proteínas ligadas à degradação do amido (KAKUMANU et al., 2012).

A concentração de açúcares totais aumentou em condições de déficit hídrico em genótipos de soja tolerantes à seca, sugerindo o importante papel dos mesmos como moléculas sinalizadoras sob condições de estresse (MUTAVA et al. 2015). Da mesma forma, as concentrações de açúcares solúveis totais aumentaram em folhas de mudas de *C. arabica* cv. Siriema, como resposta ao aumento do estresse hídrico, sendo os valores máximos obtidos por volta dos 24 e 27 dias após o início do estresse, coincidentemente, o mesmo período no qual foi verificado o menor potencial de água. O teor de açúcares redutores também aumentou em condições de seca, tanto nas folhas, como nas raízes. Em contrapartida, ocorreu degradação de amido em resposta ao déficit hídrico (BRUM et al. 2013).

Em *Arabidopsis thaliana*, ocorreu um aumento da ordem de 268% no teor de açúcares solúveis totais na parte aérea, com a restrição da irrigação. Em paralelo, o amido diminuiu em 25% nas folhas. Nas raízes também houve aumento de açúcares solúveis totais, porém, não nas mesmas proporções verificadas na parte aérea. Já, os teores de amido não

sofreram alterações significativas entre o tratamento controle e com déficit hídrico (DURAND et al., 2016). Por outro lado, resultados obtidos em arroz, não mostraram correlações significativas entre a resposta à seca e variáveis relacionadas à açúcares solúveis totais (REBOLLEDO et al., 2012).

Em *Eucalyptus saligna* as concentrações de amido foram aumentadas em condições de seca enquanto que as concentrações de açúcares solúveis se mantiveram similares ao tratamento controle. Esse aumento foi creditado a reduzidas taxas de exportação de carboidratos, que por sua vez está relacionado a diminuição na demanda por ATP, a qual estaria associada à baixa taxa de transporte de açúcares pelo floema e também pelo decréscimo na concentração de nitrogênio (N), resultante da redução da demanda por ATP respiratório. Nesse caso, a seca causou danos maiores nos mecanismos de transporte e uso do carbono que no aparato fotossintético (AYUB et al., 2011).

O ajuste osmótico desempenha um papel importante na manutenção da turgescência celular e na capacidade de crescimento com menor potencial de água na folha (WANG et al., 2016). A diminuição do potencial osmótico ao amanhecer (momento em que a planta está em turgor total), em resposta à seca, é evidência do ajuste osmótico (FRANCO, 2009). Em estudos realizados em plantas de pinus (*Pinus pinea* L.), o potencial osmótico no turgor total e o potencial osmótico no ponto de perda de turgescência, diminuíram em plântulas estressadas pela seca. Indicando que elas têm maior capacidade de manter o turgor em potenciais de água mais baixos (DELIGOZ; GUR, 2015).

O estresse osmótico provocado pela seca, reduz o transporte de sacarose no interior da planta. O grau de ajuste osmótico depende da intensidade e da duração do estresse. A acumulação de aminoácidos como prolina e açúcares tem importante papel no ajuste osmótico, principalmente em condições severas e prolongadas de seca, quando o acúmulo de potássio nas folhas fica prejudicado (WANG et al., 2016).

O aumento do conteúdo de proteínas solúveis, prolina e açúcares solúveis foi intimamente relacionado a melhoria do ajuste osmótico em cultivares de trigo (WU et al., 2014). A contribuição marginal de açúcares solúveis totais no ajuste osmótico de folhas, também foi relatado em *Arabidopsis thaliana* (DURAND et al., 2016). Estes resultados podem estar relacionados ao decréscimo na perda de água e consequente aumento do conteúdo relativo de água e melhora da capacidade de utilização da mesma, evitando danos às membranas celulares, reforçando, portanto, a tolerância à seca (WU et al., 2014).

2.5.3 Prolina

Além dos açúcares solúveis, osmólitos de baixo peso molecular, incluindo glicina betaína, prolina e outros aminoácidos, ácidos orgânicos e polióis, são cruciais para sustentar as funções celulares em condições de seca (FAROOQ et al., 2009). A prolina é um importante parâmetro para avaliações de tolerância a estresses em plantas (DELAUNEY; VERMA, 1993). O aumento do conteúdo de prolina em plantas tem sido frequentemente relacionado a respostas por estresse abiótico (DAWOOD et al., 2014; FAHRAMAND et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014; SAMPATHKUMAR et al., 2014; TESFAYE et al., 2014). Diversos estudos têm demonstrado correlações positivas entre o aumento nos níveis deste aminoácido e a tolerância aos danos causados por seca (SANKAR et al., 2007; VERSLUES; SHARMA, 2010; MAN et al., 2011; HAYAT et al., 2012; KHAN et al., 2013; RANGANAYAKULU, CHINTA; SIVAKUMAR, 2015). Esse aumento se dá tanto em genótipos tolerantes quanto suscetíveis ao estresse hídrico, porém o acúmulo em plantas tolerantes é relativamente maior (RANGANAYAKULU, CHINTA; SIVAKUMAR, 2015). Estudos em cana de açúcar demonstraram que o teor de prolina aumentou significativamente em plantas sob estresse hídrico, quando comparadas com plantas controle irrigadas (ISKANDAR, et al., 2011). Da mesma forma, cultivares de triticales tiveram seus conteúdos de prolina aumentados em decorrência de um período seco, porém, as maiores concentrações foram verificadas na cultivar mais tolerante (HURA et al., 2016).

Nas plantas, a prolina é sintetizada principalmente através da via do glutamato e, alternativamente, pela via da ornitina, sendo a via do glutamato responsável por grande acúmulo de prolina durante o estresse osmótico (HAYAT et al., 2012). Sugere-se que o acúmulo desse aminoácido em células de plantas submetidas ao déficit hídrico funcione como um mecanismo de ajuste osmótico (DELAUNEY; VERMA, 1993). O acúmulo de prolina diminui o potencial osmótico da célula, melhorando a absorção de água. Isso afeta positivamente a abertura estomática e a maquinaria fotossintética, elevando a eficiência do fotossistema II e da atividade de carboxilação da Rubisco. Como resultado, ocorre aumento da fotossíntese mesmo sob condição de estresse (KHAN et al., 2013).

Sob pressões ambientais, as moléculas de prolina são também capazes de remoção de espécies reativas de oxigênio (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008). Além do seu papel osmorregulador e antioxidante, especula-se que este aminoácido ainda desempenhe funções sinalizadora e como quelante de metais (HAYAT et al., 2012), também na estabilização de membranas e proteínas.

2.5.4 Relações Hídricas

As relações hídricas na planta são fortemente influenciadas por características como conteúdo relativo de água (CRA), potencial hídrico foliar, resistência estomática, taxa de transpiração, temperatura da folha e temperatura do dossel. A seca causa distúrbios nessas relações e reduz a eficiência do uso da água (EUA) (ANJUM et al., 2011). Apesar disso, genótipos tolerantes são menos afetados (SINGH; SHAMIM; SINGH, 2013).

Nesse contexto, o fechamento estomático está entre as primeiras respostas das plantas ao déficit hídrico, protegendo-as da perda de água e consequentemente da desidratação celular. No entanto, a regulação dos estômatos também limita a disponibilidade de CO₂ nos espaços intercelulares das células do mesofilo que, consequentemente, afeta a fotossíntese (ARAÚJO et al., 2016). Com a sequência dos eventos de seca, os estômatos fecham progressivamente, com um declínio paralelo na fotossíntese líquida e na EUA. Porém, a g_s não é controlada somente pela disponibilidade de água no solo, existe uma complexa interação de fatores intrínsecos e extrínsecos que comandam esse processo (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Apesar dos mecanismos estomáticos serem os mais frequentemente referidos, existem mecanismos não estomáticos que atuam em eventos de estresse por seca e estão diretamente relacionados com a fotossíntese, entre eles estão as alterações na síntese de clorofila, mudanças funcionais e estruturais nos cloroplastos e distúrbios nos processos de acumulação, transporte e distribuição de assimilados (ANJUM et al., 2011).

Em *Moringa oleifera*, por exemplo, apesar das taxas de E e g_s terem sofrido pequenas oscilações, o estresse por déficit hídrico não aumentou a resistência estomática, excluindo assim a possibilidade de que a diminuição na taxa de assimilação de CO₂ líquido, encontrada nessa espécie, esteja relacionada a efeitos estomáticos. Nesse caso, ocorreu aumento no teor de açúcares solúveis, provavelmente pela hidrólise do amido, que teve sua concentração diminuída, sugerindo que o acúmulo intercelular de CO₂ se deu por um decréscimo na atividade da RuBisCo (ARAÚJO et al., 2016). Além de ser responsável pelo transporte de carbono, a fotossíntese também determina a rotação do mesmo dentro da planta (BARTHEL et al., 2011).

A diminuição na g_s e na E podem contribuir para melhorar a EUA. A tolerância à seca pode ser melhorada, com aumento na EUA e no CRA, e diminuição da E e g_s (WU et al., 2014). A maior capacidade de retenção de água do tecido, por conseguinte, leva a um melhor crescimento sob estresse hídrico (FRANÇA et al., 2000), que é devido à

melhoria da capacidade de utilização da água e melhoria da fotossíntese. Dessa forma, as capacidades de utilização da água, de ajustamento osmótico e de defesa antioxidante, podem agir sinergicamente aumentando a tolerância à seca (WU et al., 2014).

A relação entre A/g_s dá uma estimativa da eficiência intrínseca do uso da água. Este parâmetro permitiu a discriminação de plantas de feijão que mantiveram assimilação de CO_2 em condição de baixa abertura estomática, quando submetidas ao déficit hídrico. Supõe-se que o declínio na absorção de CO_2 é dependente não somente do fechamento dos estômatos, mas, também, de componentes não-estomáticos (FRANÇA et al., 2000). Quando uma planta de determinada espécie é submetida ao déficit hídrico severo e seu potencial de água cai abaixo do limiar de tolerância, a capacidade fotossintética diminuí. Isso pode ser percebido pelo aumento do carbono interno (BRODRIBB, 1996). Em caso de curtos períodos de déficit hídrico, fechamento dos estômatos é uma resposta adaptativa eficiente, mas durante a seca prolongada, mecanismos bioquímicos específicos a nível celular se fazem necessário para sobrevivência das plantas (FRANÇA et al., 2000).

2.5.5 Murcha Foliar

Em *Arabidopsis thaliana*, foi verificado, por meio de fotografias regulares, que o desenvolvimento foliar foi reduzido em plantas submetida ao estresse, embora não houvesse sinal de murcha visível (DURAND et al., 2016). Isso indica que quando as folhas apresentam sintomas de murcha, a planta já está em estágio avançado de desidratação.

Sintomas típicos de falta de água como a murcha foliar, não são visualizados facilmente nos cafeeiros, no entanto, pequenas diminuições na oferta de água podem reduzir substancialmente seu crescimento (SILVA; MAZZAFERA, 2008), causar alterações em processos biológicos e fisiológicos, provocar injúrias, e conseqüentemente levar à queda na produção e na qualidade do café (CHESEREK; GICHIMU, 2012).

Uma das características necessárias para que o cafeeiro produza em locais onde ocorre déficit hídrico, é a capacidade de manter suas folhas túrgidas (MAZZAFERA; CARVALHO, 1987). Intensidade de murcha pode ser utilizada como bom parâmetro na identificação preliminar de cafeeiros tolerantes à seca. Avaliações visuais quanto à intensidade de murcha em mudas permitiram discriminar satisfatoriamente genótipos de café com maior tolerância à seca. Nesse caso, um genótipo de *C. arabica* portador de genes de *C. racemosa* foi o que murchou menos, seguido de *C. arabica* da Etiópia E368, 'IPR 100' (portador de genes de *C. liberica*) e 'IPR 103' (portador de genes de *C. canephora*), enquanto

que em várias cultivares de *C. arabica* a intensidade de murcha foi maior, similar à cultivar Catuaí Vermelho IAC 99 (CARVALHO et al., 2017).

2.6 PARÂMETROS NUTRICIONAIS

Em condições de seca, a absorção de nutrientes pelas plantas fica comprometida. Aparentemente, ocorre diminuição na taxa de absorção (SILVA et al., 2011). O fornecimento de nutrientes para a planta está diretamente relacionado ao movimento da água nas raízes, quando esse movimento cessa, devido à menor disponibilidade de umidade no solo, o suprimento se torna limitante rapidamente, provocando redução no crescimento (BISHT, 1993).

Os nutrientes minerais desempenham um papel vital na determinação da tolerância à seca em plantas (HU; SCHMIDHALTER, 2005). Da mesma forma, concentrações adequadas de macro e micronutrientes podem amenizar os efeitos causados pelo déficit hídrico sob o crescimento e desenvolvimento das plantas (ASLAM et al., 2013).

Com exceção de potássio e cálcio, todos os macronutrientes são integrados em compostos orgânicos importantes, como aminoácidos e proteínas (nitrogênio e enxofre), ácidos nucleicos (nitrogênio e fósforo), fosfolípidios (fósforo) e clorofila (magnésio), por exemplo (AMTMANN; BLATT, 2009).

O nitrogênio é um dos mais importantes nutrientes minerais, componente de moléculas orgânicas essenciais como proteínas e aminoácidos, e requerido em grande quantidade pelas plantas (BARKER; BRYSON, 2006). O suprimento adequado de nitrogênio pode amenizar os efeitos da seca em algumas espécies de plantas (SILVA et al., 2011). Foi verificado que as concentrações foliares de nitrogênio e fósforo foram consistentemente mais baixas nas folhas submetidas à seca, independentemente do crescimento (AYUB et al., 2011).

Maior nutrição nitrogenada contribuiu para a tolerância à seca em trigo, mantendo maiores atividades fotossintéticas e melhorando o sistema de defesa antioxidante durante os períodos de crescimento vegetativo (ABID et al., 2016). O suprimento de nitrogênio melhorou a capacidade de plantas em aliviar efeitos de seca em *Coffea canephora* (DaMATTA et al., 2002). Dados de metanálises mostraram que a seca provoca diminuição na absorção de N e P e, conseqüentemente, no crescimento das plantas, de modo que as concentrações na matéria seca diminuam com o déficit hídrico (HE; DIJKSTRA, 2014). Porém, esses mesmos autores encontraram considerável variabilidade nessas concentrações, sendo que plantas quando submetidas a seca e posterior irrigação, não tiveram as

concentrações de N e P afetadas em períodos de seca prolongados (> 90 dias), o que não ocorreu, no entanto a curto prazo. Este fato poderia estar relacionado ao aumento da disponibilidade desses nutrientes no solo com o retorno da irrigação, compensando parcialmente ou completamente a mineralização reduzida durante o período seco (BORKEN; MATZNER, 2009).

Deve-se enfatizar que um suprimento adequado de nitrogênio pode melhorar indiretamente a tolerância à seca, pois permitiria o desencadeamento de mecanismos de fotoproteção do cloroplasto e alterações qualitativas da membrana sob excesso de energia de excitação, que ocorre com o fechamento estomático devido ao déficit hídrico, além de ser importante na recuperação pós estresse (MELKE; FETENE, 2014; RAMALHO et al., 1998, 1999, 2000).

Parte do fósforo inorgânico absorvido pelas plantas é rapidamente combinado em moléculas orgânicas. Ele é um elemento importante para os processos de armazenamento e transferência de energia em atividades bioquímicas, como a fotofosforilação e a fosforilação oxidativa, além de ser um componente estrutural de fosfolipídios, ácidos nucleicos, nucleotídeos, coenzimas e fosfoproteínas (SANCHES, 2006). Estudos com diferentes espécies tem demonstrado que a adição de fósforo atenua o efeito negativo causado pela seca (SILVA et al., 2011). Redução nas pirofosfatases inorgânicas solúveis de plastídios, levou à menor tolerância à seca em *Nicotiana benthamiana*, que foi relacionada à incapacidade em sintetizar quantidade suficiente de ácido abscísico (ABA), o que leva a uma ineficiência no fechamento estomático (GEORGE et al., 2010).

O potássio atua em diversos processos bioquímicos dentro das células, como a ativação de enzimas, síntese proteica, abertura e fechamento dos estômatos, entre tantos outros (MENGEL, 2007). Além disso, o potássio tem grande importância no que diz respeito à tolerância à seca, contribuindo principalmente no ajuste osmótico e na manutenção da fotossíntese (ASLAM et al., 2013; FAROOQ et al., 2009). É bem conhecido que plantas com fornecimento insuficiente de potássio logo perdem seu turgor, quando expostas ao estresse hídrico (MENGEL, 2007). Estudos recentes reportaram que o acúmulo de potássio foi um dos responsáveis, junto com a prolina, pela redução do potencial osmótico em raízes e folhas de *Acacia saligna* Labill (EL-GENDY et al., 2012). Em plantas de arroz transgênicas, a superexpressão de genes codificadores de moléculas transportadores de potássio de alta afinidade (ApKUPs), originalmente isolados de *Alternanthera philoxeroides*, espécie que possui alta capacidade de acumulação de potássio, aumentou o teor de potássio e a tolerância à seca em plantas transgênicas (SONG et al., 2014).

Outra importante função de potássio estaria relacionada ao controle da abertura estomática. A abertura e fechamento dos canais de potássio estão intimamente ligados à atividade das células guarda, que por sua vez estão relacionadas à interceptação da luz azul, que governa a abertura estomática (MENGEL, 2007). Uma possível relação do potássio com o funcionamento do aparato fotossintético foi verificada em plantas transgênicas de arroz. A introdução de um gene de *Arabidopsis thaliana*, que codifica para uma proteína do citocromo P450, aumentou a tolerância à seca em arroz. Nessas plantas, resultados de análise química dos grãos, após o estresse hídrico, demonstraram que houve aumento nos teores de potássio e cobre, enquanto que o tipo selvagem apresentou diminuição no conteúdo desses minerais (NAM et al., 2014).

O cálcio tem destaque importante na manutenção das atividades da parede celular, atuando em processos metabólicos relacionados ao crescimento e desenvolvimento de plantas, como a divisão, diferenciação, fotomorfogênese, polaridade e alongamento celular. Além disso, está relacionado a resposta de defesa da planta a estresses bióticos e abióticos (WHITE; BROADLEY, 2003). O aumento na concentração de íons de cálcio no citosol servem de sinal para a superexpressão de genes sensíveis ao estresse, incluindo os que codificam proteínas de função protetora (KNIGHT; TREWAVAS; KNIGHT, 1996; KNIGHT; TREWAVAS; KNIGHT, 1997). A pulverização de cálcio em girassol, por exemplo, melhorou as respostas à seca em nível molecular, provavelmente por manter a expressão de genes relacionados a defesas antioxidantes (HASSAN et al., 2011). A baixa relação cálcio/magnésio em condições de seca afeta parâmetros de crescimento e desenvolvimento em plantas, nesse caso, as menores taxas de cálcio no solo comprometeram o crescimento das folhas e o diâmetro dos ramos (MURREN et al., 2006). O cálcio também poderia estar relacionado a processos de aclimação a diferentes estresses (KNIGHT; BRANDT; KNIGHT, 1998). O teor de cálcio diminuiu significativamente em folhas, mas aumentou nas raízes de *Acacia saligna* à medida que o nível de irrigação diminuiu (EL-GENDY et al., 2012). Por outro lado, o teor de cálcio aumentou em *Cynodon dactylon*, durante a seca em condições de campo no Mediterrâneo (UTRILLAS; ALEGRE; SIMON, 1995). Mudanças de *Dalbergia sissoo* crescidas sob déficit hídrico severo, aumentaram o conteúdo de cálcio em torno de 270 e 200% nas folhas e raízes, respectivamente (SINGH; SINGH, 2004).

A principal função do magnésio é o seu papel como o átomo central das moléculas de clorofila, porém ele também está envolvido na conservação e conversão de energia (AMTMANN; BLATT, 2009). A deficiência de magnésio afeta a estrutura dos grana

dos tilacóides, comprometendo assim a eficiência das reações luminosas e, por consequência, a fotossíntese (CEPPI et al., 2012). O aumento das concentrações de magnésio foliar devido ao estresse hídrico pode ter provocado efeitos positivos diretos, melhorando a capacidade fotossintética, e indiretos, aumentando a EUA, em *Quercus ilex* e *Arbutus unedo* (SARDANS; PEÑUELAS; OGAYA, 2008). Outra forma de ação do magnésio seria como cofator de enzimas que regulam a abertura estomática (TSUZUKI et al., 2013).

Em relação aos micronutrientes, o cobre está envolvido em diversos processos das plantas, como elemento estrutural de proteínas, na cadeia de transporte de elétrons, na respiração mitocondrial, nas respostas ao estresse oxidativo, no metabolismo da parede celular e na sinalização hormonal, além de estar envolvido em diversos outros processos fisiológico das plantas, pela sua característica de ativador redox (YRUELA, 2005). A introdução de um gene de *Arabidopsis thaliana* que codifica para uma proteína do citocromo P450, aumentou a tolerância à seca em arroz. Resultados de análise química dos grãos, demonstraram que as plantas transgênicas submetidas ao déficit hídrico aumentaram em cerca de 100% o conteúdo de cobre, enquanto que as plantas do tipo selvagem tiveram o teor de cobre reduzido em 39,5% (NAM et al., 2014).

Eventos de seca aumentaram os teores de cobre em *Punica granatum* L., o qual foi relacionado a diminuição na matéria seca devido ao estresse hídrico (HASANPOUR; KARIMI; MIRDEHGHAN, 2015). Plantas de trigo mais tolerantes à seca submetidas a doses subsintomáticas de cobre apresentaram emissão de etileno precoce com indução foliar das enzimas antioxidantes ascorbato peroxidase (APOD), guaiacol peroxidase (GPOD) e siringaldazina peroxidase (SPOD). Além disso, foi verificado maior teor de cobre nas folhas da cultivar tolerante, indicando maior eficiência na translocação da raiz para as folhas nessa cultivar (SGHERRI et al., 2001).

O Zinco é componente de enzimas como a álcool desidrogenase, Cu-Zn superóxido-dismutase, anidrase carbônica, RNA polimerase, entre outras, e como cofator de um grande número de enzimas. Também desempenha um papel importante no metabolismo dos carboidratos, na síntese de proteínas e no metabolismo das auxinas (BROADLEY et al., 2007). Aumento do teor fenólico com diminuição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), da peroxidação lipídica e atividades diferenciais de enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX), polifenol peroxidase (PPO), glutatona redutase (GR) e a ascorbato peroxidase (APX), com concomitante aumento da absorção de Zn na folha, sugerem que o Zn possa ser um modulador de danos bioquímicos mediados pela seca em plantas (UPADHYAYA; DUTTA; PANDA, 2013). A adição de Zinco aumentou o

rendimento de grãos de milho e seus componentes em diferentes níveis de estresse hídrico, podendo aliviar parcialmente os efeitos desfavoráveis do estresse causado pela seca no crescimento e desenvolvimento das plantas (SAJEDI et al., 2010).

O boro (B) desempenha papel importante na formação das paredes celulares, juntamente com o cálcio (GOLDBACH; WIMMER, 2007). Em condições de seca, isoenzimas de peroxidase foram aumentadas, sendo a grande maioria delas expressas quando da aplicação de B, indicando que esse elemento tem um papel fundamental na regulação positiva da peroxidase em condições de seca. Além disso, o B também teria relação positiva com aumento do teor de proteínas sob estresse hídrico. Esse estaria relacionado a síntese de novas proteínas e/ou inibição de atividades proteolíticas (HASSAN et al., 2011). Por outro lado, a deficiência de B provocou forte limitação na eficiência fotossintética, provavelmente devido aos sérios danos causados no fotossistema II, em condições de seca. O baixo suprimento de B também reduziu fortemente o potencial de água da folha (HAJIBOLAND; FARHANGHI, 2011). Além disso, a deficiência de B em condições de estresse hídrico provocou redução na concentração de P, Ca e Mg em mudas de *Picea abies* (MÖTTÖNEN et al., 2005).

2.7 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

Parâmetros de crescimento são comumente utilizados para avaliar o efeito causado pelo estresse hídrico em plantas. O déficit hídrico reduz a área foliar, o volume radicial e a biomassa em geral (ANJUM et al., 2011; DURAND et al., 2016), afeta os pigmentos fotossintéticos e reduz a trocas gasosas, levando a uma redução no crescimento e produtividade da planta (ANJUM et al., 2011). No caso da área foliar, pode ocorrer diminuição na expansão das folhas e/ou abscisão precoce das mesmas. Apesar de afetar a planta como um todo, o impacto do déficit hídrico em folhas parece ser maior que nas raízes (DURAND et al., 2016).

O estresse hídrico reduz o acúmulo de biomassa em todos os tecidos da planta, sendo mais evidente nos tecidos das raízes e do caule. No entanto, de acordo com os dados de ^{13}C e ^{14}C , relativamente mais C é particionado para as raízes em relação ao caule sob condições de seca (BARTHEL et al., 2011; DURAND et al., 2016).

Geralmente, quando a disponibilidade de água é limitada, a razão raiz/parte aérea das plantas aumenta, porque as raízes são menos sensíveis do que a parte aérea à inibição do crescimento em baixo potencial hídrico (WU; COSGROVE, 2000). Parâmetros

como expansão da área foliar, taxa de alongamento do caule e conteúdo relativo de água, foram negativamente influenciados pelo estresse hídrico, podendo ser utilizados como bons indicadores de tolerância à seca em feijão (*Phaseolus vulgaris*). Da mesma forma, características do sistema radicular como comprimento da raiz, área superficial e peso seco, são afetadas pelo déficit hídrico e apresentam comportamento diferenciado para genótipos tolerantes e sensíveis (ABENAVOLI et al., 2016).

Um fato interessante é que a assimilação de C e a porcentagem e quantidade de C exportadas para as raízes de *Arabidopsis thaliana* não foram correlacionadas com o peso seco da parte aérea em plantas controle. Assim, independentemente do tamanho da parte aérea, a assimilação e alocação de C para as raízes não sofre alteração em plantas bem irrigadas. Enquanto que esses mesmos parâmetros foram positivamente correlacionados com o peso seco de parte aérea sob déficit hídrico. Isso indica que, quanto maior a redução da parte aérea, mais C é alocado para às raízes (DURAND et al., 2016).

A seca pode afetar significativamente plântulas, reduzindo o crescimento, diâmetro do colo de raiz, peso seco da raiz e de ramos, número de ramos, porcentagem de raízes, relação raiz/parte aérea e relação diâmetro/altura (DELIGOZ; GUR, 2015).

Os mecanismos de tolerância podem estar relacionados ao acúmulo de biomassa. O tamanho da folha e sua manutenção sob condições de seca é característica fundamental para manter o vigor inicial. Entre as características morfológicas avaliadas em arroz, o tamanho da folha teve a maior variância genotípica e foi significativamente reduzida pela seca em comparação com as condições do controle irrigado, para toda a população. Dessa forma, a tolerância à seca foi positivamente correlacionada com o tamanho da folha em arroz. Isso estaria relacionado com a manutenção do turgor, uma vez que, pequenas variações do turgor diminuem acentuadamente a expansão celular (REBOLLEDO et al., 2012). No entanto, plantas submetidas ao estresse hídrico podem apresentar padrões de crescimento superior ao normal, após recuperadas, como verificado em *M. oleifera*, que apresentou taxa de crescimento superior ao controle com 10 dias de recuperação após o estresse (ARAÚJO et al., 2016).

Em *Arabidopsis thaliana* houve aumento da relação raiz/parte aérea no tratamento submetido à seca (0,35) em relação ao controle irrigado (0,20), demonstrando que o estresse hídrico foi mais danoso para a parte aérea do que para as raízes (DURAND et al., 2016). Da mesma forma, em algodão, o decréscimo no conteúdo relativo de água do solo retardou o crescimento em bases de biomassa e área foliar e a relação raiz/parte aérea foi

aumentada, demonstrando que houve maior alocação de biomassa para as raízes em relação a parte aérea (WANG et al., 2016).

O impacto do déficit hídrico avaliado através de um conjunto de parâmetros relacionados ao crescimento e ao estado hídrico, medidos em raízes e folhas de *A. thaliana*, a 30 dias após o estresse, demonstrou redução da área foliar final. A diminuição na expansão foliar veio acompanhada da queda de 30% no número de folhas. O peso fresco e peso seco das rosetas também diminuiu em 80% em plantas estressadas em relação as não estressadas e o peso fresco e peso seco das raízes diminuíram 80 e 65%, respectivamente (DURAND et al., 2016).

Sob estresse hídrico, uma variedade de feijão tolerante à seca, exibiu várias características interessantes relacionadas ao sistema radicular, tais como, maior comprimento de raiz, maior área de superfície e, menor diâmetro do sistema radicular como um todo (ABENAVOLI et al., 2016).

A propriedade de produzir menos brotos ou diminuir outros parâmetros de crescimento em *Pinus pinea* L. foi relacionada à capacidade de aclimação às condições de seca desta espécie (DELIGOZ; GUR, 2015). Uma possível explicação para isso é que, durante o déficit hídrico, as plantas respondem à limitação do crescimento alocando relativamente mais C para as raízes, aumentando a eficiência do sistema radicular. Da mesma forma, plantas submetidas à seca tem a expansão radicular reduzida na parte superior do solo evitando a exposição à ambientes com menor disponibilidade de água, indicando uma remodelação da arquitetura radicular (DURAND et al., 2016). O crescimento restrito pode ser considerado como uma adaptação morfológica da planta ao estresse hídrico para reduzir a transpiração e induzir um menor consumo de água (EL-GENDY et al., 2012).

Índices de crescimento criados com base em caracteres como área foliar e peso da matéria seca, foram importantes na identificação de genótipos tolerantes à seca. Esses índices auxiliaram na visualização das relações entre os componentes de crescimento e desenvolvimento das plantas (ABENAVOLI et al., 2016; CRANSTON et al.; 2016). Além de índices de crescimento, outros índices também têm sido utilizados com o objetivo de auxiliar na identificação de tolerância à seca. A eficiência de uso de radiação (e), por exemplo, foi calculada dividindo-se a produção total de matéria seca ou rendimento de açúcar (chamado de W), pela radiação interceptada acumulada na parcela (SINCLAIR; MUCHOW, 1999). Também são verificados na literatura índices que dão a resposta direta relacionada à seca como índice de tolerância calculado pela fórmula: $DTI = (Y_D/Y_I)/(\bar{Y}_D/\bar{Y}_I)$, onde DTI é o índice de tolerância à seca, Y_D é a produtividade sob condições de seca e Y_I a produtividade

sob irrigação. O denominador é o índice de intensidade da seca com base nos rendimentos médios, em condição de seca e no irrigado, em todos os genótipos do ensaio (OBER et al., 2004).

2.8 TOLERÂNCIA À SECA EM *COFFEA* SPP.

Características morfológicas e fisiológicas como condutância estomática, arquitetura da copa, morte das raízes e uso eficiente da água, podem ser consideradas como bons parâmetros para seleção de cafeeiros superiores em condições de seca (DaMATTA, 2004).

Algumas espécies de *Coffea* apresentam maior tolerância à seca do que *C. arabica*, e podem ser utilizados em programas de melhoramento. *C. racemosa*, originária de regiões de Moçambique sujeitas a consideráveis períodos de estiagem, apresenta boa adaptação à seca. Essa espécie apresenta folhas decíduas em anos de prolongada estiagem, uma forma de evitar a perda de água por transpiração. Sugere-se que a tolerância à seca encontrada nessa espécie é condicionada por genes dominantes (MEDINA-FILHO; CARVALHO; MEDINA, 1977). *C. canephora* apresenta maior sistema radicular em relação aos cafeeiros arábicos, sendo uma vantagem em condições de estresse hídrico (PINHEIRO et al., 2005). Cafeeiros arábicos da série BA, portadores de genes do *C. liberica*, se mostram mais tolerantes à seca do que outros cafeeiros arábicos (MAZZAFERA; CARVALHO, 1987), no entanto, estudos realizados evidenciaram maior sensibilidade à seca nessa espécie que em *C. arabica*. Em comparação com *C. liberica*, *C. arabica* possui maior proteção antioxidante induzida pelo déficit hídrico e maior pool total de pigmentos usados na fotoproteção, que auxiliam na redução dos danos provocados por fotoinibição durante a dessecação e a recuperação da fotossíntese, quando as condições favoráveis são reestabelecidas (CAI et al., 2005), por outro lado, *C. canephora* cv. Kouillou foi mais eficiente em se recuperar do estresse por seca que a cultivar Catuaí Vermelho de *C. arabica* (DaMATTA; MAESTRI; BARROS, 1997). Tolerância à seca também é citada em *C. kapakata* (MÔNACO; MEDINA, 1965).

Acessos de café do Quênia apresentaram aumento de biomassa em regimes intermediários de irrigação, quando comparados com regime de irrigação frequente e de estresse hídrico. Isso indica que a diminuição gradual no regime hídrico promoveu um processo de aclimatação nas plantas (KING'ORO, et al. 2014).

Mudas da cultivar Siriema de *C. arabica* com aproximadamente seis pares de folhas, sobreviveram durante 30 dias ao estresse hídrico. Porém, essas plantas só foram capazes de recuperar seu potencial de água quando a reidratação foi realizada até o 24º dia após o início do estresse (BRUM et al. 2013).

Clones de café da espécie *C. canephora*, tolerantes à seca, quando submetidos ao estresse hídrico, demonstraram aumento na biomassa total, além de maior aprofundamento do sistema radicular, quando comparados aos clones sensíveis (PINHEIRO et al., 2005). Da mesma forma, a expressão do gene *CcGolsI*, supostamente relacionado à tolerância à seca em *C. canephora*, foi aumentada em plantas de Clone 14 (resistente à seca) e diminuída no Clone 109A (sensível à seca) (SANTOS et al., 2015).

Em um estudo feito em mudas de café submetidas ao déficit hídrico foi verificado que o genótipo mais tolerante à seca, no segundo déficit hídrico, com base na menor intensidade de murcha das folhas foi IAPAR 11260 (*C. arabica* portador de genes de *C. racemosa*). *C. arabica* da Etiópia E368, IPR 100, IPR 101, IPR 98, IAPAR 59 e IPR 103 apresentaram menor murcha do que Catuai Vermelho IAC 99, Tupi IAC 1669-33, IPR 97, IPR 99, IPR 102, IPR 104, IPR 105, IPR 106, IPR 107, IPR 108 e *C. canephora* cv. Apoatã IAC 2258, sendo esse último o mais sensível à seca (CARVALHO et al, 2017).

Em uma variedade de *C. arabica* submetida ao déficit hídrico, com o objetivo de verificar se o sombreamento poderia amenizar os efeitos da seca, foi constatado que diferenças nas taxas de crescimento relativo, estavam associadas principalmente a ajustes fisiológicos e não morfológicos. A pleno sol, a seca limitou a taxa fotossintética através de limitações estomáticas, sem sinal de fotoinibição aparente. Em condições de pouca luz, tais restrições estavam aparentemente ligadas a fatores bioquímicos (CAVATTE et al., 2012).

Estudos moleculares em *C. arabica* envolvendo o gene *RBCSI*, responsável pela codificação da subunidade menor da Rubisco, revelaram a existência de dois homólogos desse gene, um originado de *C. canephora* (*CaCc*) e outro de *C. eugenioides* (*CaCe*). Os estudos de expressão revelaram que *CaCe* foi expresso em *C. eugenioides* e *C. arabica* mas não foi detectado em *C. canephora*. Por outro lado, *CaCc* foi expresso em *C. canephora* e quase que completamente silenciado em genótipos "puros" de *C. arabica*. Porém, a maioria das cultivares de *C. arabica* com introgressão recente de genoma de *C. canephora*, mostrou expressão de *CaCc* aumentada. Outra importante observação foi que, as cultivares de *C. arabica* com introgressão recente de *C. canephora*, tiveram maior expressão de *RBCSI* que as cultivares puras. Os autores também verificaram que, em condições de seca, apesar de haver diminuição na expressão de *RBCSI*, houve acumulação de proteínas RBCS1 em folhas de *C.*

canephora expostas ao déficit hídrico, sugerindo que o conteúdo dessa proteína não teve relação com a perda da capacidade fotossintética e que seu aumento possa contribuir para funções antioxidantes da fotorrespiração em condições de seca (MARRACCINI et al., 2011).

Já foram identificados mais de 40 genes que apresentam expressão diferencial durante a aclimatação à seca em clones de *C. canephora*, alguns deles apresentando diferentes perfis de expressão entre clones tolerantes e suscetíveis à seca (MARRACCINI et al., 2012). Da mesma forma, em *C. arabica*, a comparação das respostas moleculares entre duas cultivares comerciais, IAPAR 59 e Rubi, consideradas resistente e sensível a seca, respectivamente, revelou novos genes candidatos apresentando expressão diferencial entre essas cultivares e/ou tolerância à seca. Em condições de déficit hídrico, IAPAR 59 apresentou superexpressão de genes relacionados ao desenvolvimento da planta, à quinase, à metiltransferase e à biossíntese de ABA, além de genes que codificam para proteínas de transferência de lipídeos, o que não ocorreu na cultivar Rubi (MOFATTO et al., 2016).

Compreender os mecanismos de respostas fisiológicas e bioquímicas à seca em *Coffea* spp. pode contribuir para a seleção de genótipos tolerantes (DaMATTA, 2004). Ao que parece, maior proteção antioxidante induzida pela seca e maior porção do pool total de pigmentos usado na fotoproteção ajudou a amenizar os danos causados pela fotoinibição durante a dessecação em *C. arabica*, quando comparado com *C. liberica*. Além disso, esses fatores também contribuíram para a recuperação da fotossíntese quando as condições favoráveis foram restauradas (CAI et al., 2005). Ao contrário do que se parece, apesar do café arábica ser uma espécie originária de sub-bosque, o sombreamento não diminuiu os impactos negativos causados pela seca nessa espécie. Foi verificado que, independentemente da disponibilidade hídrica, maiores concentrações de lipídios, fenóis totais, açúcares solúveis totais e lignina foram encontradas em condições de alta luminosidade em comparação com as condições de sombra. As plantas cultivadas a pleno sol exibiram também, a longo prazo, melhorias no ajuste osmótico, elasticidades teciduais reduzidas e eficiências no uso da água, especialmente em condições de seca (CAVATTE et al., 2012).

3 HIPÓTESES

Parâmetros fisiológicos, bioquímicos de crescimento e nutricionais, em conjunto, são mais eficientes na diferenciação de genótipos tolerantes e sensíveis à seca em cafeeiros.

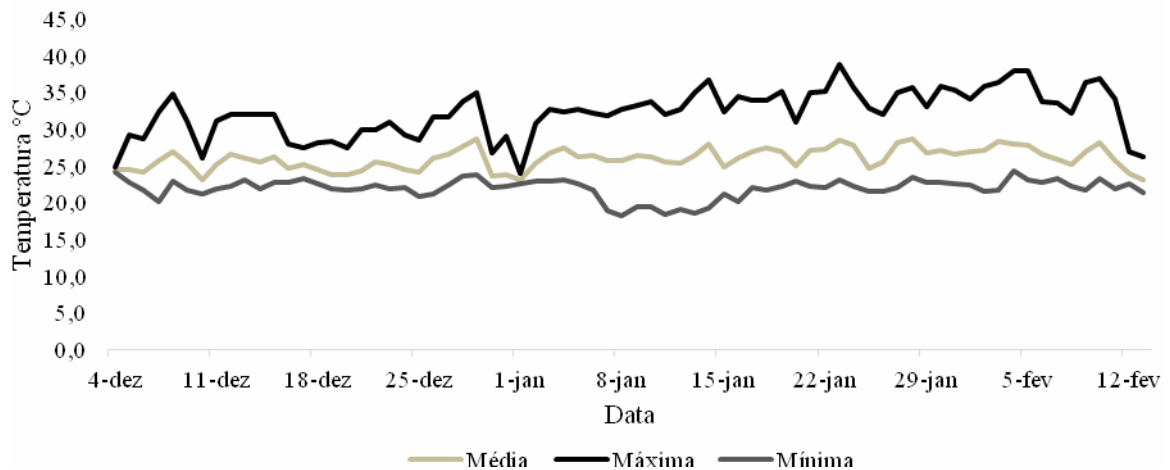
Existem variáveis mais consistentes na identificação de genótipos de café tolerantes à seca.

A introgressão de genes de *Coffea racemosa* aumenta a variabilidade genética para tolerância à seca em cafeeiros da espécie arábica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com monitoramento contínuo da temperatura (Figura 1), localizada na sede do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) em Londrina/PR.

Figura 4.1 - Temperaturas médias, máximas e mínimas diárias dentro da casa de vegetação durante o período do experimento.



Fonte: próprio autor

4.1 OBTENÇÃO DAS MUDAS

As mudas foram obtidas através de semeadura em germinadores contendo areia, localizados no viveiro de mudas no IAPAR. Ao atingirem o estágio cotiledonar foram transplantadas para tubetes com volume de 290 mL, completando seu desenvolvimento até atingirem aproximadamente seis pares de folhas e então submetidas ao estresse hídrico. Foi utilizado substrato comercial a base de casca de pinus autoclavada e vermiculita (MecPlant) com adição do formulado comercial N-P-K 15-09-12 (osmocote) de liberação lenta.

4.2 GENÓTIPOS

Foram testados três genótipos de *C. arabica* portadores de genes de *C. racemosa* e as cultivares Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59 como controles sensível e tolerante à seca, respectivamente (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 - Genealogia e identificação de genótipos de café utilizados para teste de tolerância à seca.

Genótipos	Genealogia ⁽¹⁾
IAPAR H0113-40-26-1	IPR 104 x [Tupi x (IAPAR 81185 x Tupi)]
IAPAR H0113-40-26-9	IPR 104 x [Tupi x (IAPAR 81185 x Tupi)]
IAPAR H0113-40-26-10	IPR 104 x [Tupi x (IAPAR 81185 x Tupi)]
Tupi IAC 1669-33	Villa Sarchi x Híbrido de Timor
IAPAR 59	Villa Sarchi x Híbrido de Timor

⁽¹⁾ Villa Sarchi = Villa Sarchi CIFIC 971/10; Híbrido de Timor = Híbrido de Timor CIFIC 832/2; Tupi = Tupi IAC 1669-33; IAPAR 81185 = planta F₂ do genótipo F₁RC₂ C1195-5-6-2 c.950 Ep209, originada do cruzamento [(*Coffea arabica* x *C. racemosa* C1195) x *C. arabica*] x *C. arabica*. **Fonte:** próprio autor.

4.3 VARIÁVEIS ANALISADAS

Durante o período do experimento foram avaliados os parâmetros fisiológicos de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E), carbono interno (C_i), eficiência no uso da água (A/E), eficiência intrínseca no uso da água (A/g_s), eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i , expresso por k), conteúdo relativo de água (CRA) e intensidade de murcha (IM). Parâmetros bioquímicos, sendo eles açúcares redutores (AR), açúcares totais (AT), sacarose e prolina. Parâmetros nutricionais, sendo os teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, boro, zinco e cobre baseados no peso seco total da planta, e a variação relativa nutricional entre os ambientes com e sem irrigação de cada um desses nutrientes (VR). E os parâmetros de crescimento dados pelos índices de variação do crescimento relativo da área foliar (VCRAF), a diferença entre o VCRAF final e inicial (Δ VCRAF), variação do crescimento relativo da altura da planta (VCRAP), variação do crescimento relativo do diâmetro do caule (VCRDC), variação de aumento na relação diâmetro do caule pela altura da planta ($VA(DC/AP)$), peso seco da parte aérea (PSA), peso seco da folha (PSF), peso seco do caule (PSC), peso seco da raiz (PSR), peso seco total (PST) e razão raiz/parte aérea (R/PA).

Todas as avaliações e coleta de dados foram realizadas nos dois experimentos (ambiente controle e sem irrigação), com exceção da avaliação de intensidade de murcha. A quantificação de massa seca e teor nutricional foram feitas ao final do experimento em ambos os ambientes.

4.4 PERÍODO DE ACLIMATAÇÃO E ESTRESSE

As plantas foram transferidas do viveiro e passaram por um período de 30 dias de aclimação ao ambiente da casa de vegetação, antes do início do experimento. O

primeiro estresse foi iniciado em 4 de dezembro de 2015 e durou 11 dias. Em seguida as plantas passaram por um período de recuperação de 15 dias, recebendo água normalmente. O segundo estresse teve início em 30/12 de 2015 e durou 10 dias. A duração de cada estresse foi determinada pelas notas de murcha, sendo que, quando a maioria das plantas da testemunha sensível Tupi alcançaram notas 3 e 3,5 (variação de 1 a 5), respectivamente para o primeiro e segundo períodos de restrição hídrica dentro do experimento sem irrigação, iniciou-se as avaliações. Antes de cada estresse as plantas foram submersas (todo o tubete, até o colo da planta) por 15 minutos em água, depois colocadas nas bandejas para que excesso de água fosse drenado e para garantir que todas as plantas estivessem em capacidade de campo no início do experimento. Em seguida, as aberturas superior e inferior do tubete foram seladas com filme plástico, para evitar a evaporação.

4.5 AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS

As avaliações fisiológicas foram realizadas sempre entre 9 e 11 horas da manhã. As medições de A , E , g_s e C_i foram realizadas simultaneamente através do aparelho portátil IRGA (Infra Red Gas Analyser) - LC Pro SD, com área da superfície da câmara de foliar de $6,25 \text{ cm}^2$. Para as avaliações foi usada luz artificial de aproximadamente $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Com os dados coletados foram calculados os valores de A/E , A/g_s e k .

Para avaliação do CRA foram coletados discos de folhas com $3,14 \text{ cm}^2$ e armazenados imediatamente em tubos eppendorf previamente pesados. Logo após a coleta, os tubos com os discos foram pesados novamente, para se obter o peso fresco (PF). Após a pesagem os eppendorfs com os discos foram preenchidos com água e permaneceram em temperatura ambiente por 48 horas. Após esse período, os discos foram retirados dos eppendorfs e pesados isoladamente para se obter o peso turgido (PT) e, em seguida, levados para estufa à aproximadamente $65 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 horas para secagem e pesados imediatamente depois para se obter o peso seco (PS). O conteúdo relativo de água foi obtido através da

fórmula:
$$\text{CRA} = \frac{\text{PF} - \text{PS}}{\text{PT} - \text{PS}} \times 100$$

As avaliações de intensidade de murcha (IM) foram feitas atribuindo-se notas em duplo cego que variaram de 1 a 5 (Figura 2), onde: 1 = folhas turgidas, sem sintomas de murcha; 2 = folhas levemente pendentes; 3 = folhas pendentes, sem descoloração e sem perda do brilho; 4 = folhas completamente pendentes, com descoloração e perda de brilho e parcialmente secas e 5 = plantas com folhas pendentes e secas.

Todas as avaliações realizadas com o IRGA, coleta de discos de folhas para análise do CRA e avaliações de IM foram feitas no início e término de cada período de estresse tanto para o experimento controle quanto para o sem irrigação, com exceção de IM que foi realizada apenas no ambiente sem irrigação.

Figura 4.2 - Escala de notas de intensidade de murcha (IM) variando de 1 a 5.



Fonte: próprio autor. Notas: 1 = folhas turgidas, sem sintomas de murcha; 2 = folhas levemente pendentes; 3 = folhas pendentes, sem descoloração e sem perda do brilho; 4 = folhas completamente pendentes, com descoloração e perda de brilho e parcialmente secas e 5 = plantas com folhas pendentes e secas. **Fonte:** próprio autor.

4.6 AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS

Para determinação de AR, AT, açúcares não redutores (sacarose) e prolina foram coletadas partes de folhas expandidas do 2º internódio, a contar do ápice para a base, de cada planta individualmente. As coletas foram realizadas no início e final de cada período de estresse, tanto para o experimento submetido ao déficit hídrico, quanto para o controle irrigado, totalizando quatro amostragens para cada experimento. As amostras coletadas foram imediatamente imersas em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em Freezer a -80.

A extração foi feita seguindo o método de Oliveira e Sodek (2013) onde 50 mg do tecido vegetal foram macerados em nitrogênio líquido e armazenados em eppendorf de 2 mL. O extrato armazenado foi adicionado de 1 mL de MCW, agitado e armazenado em geladeira à 2 °C por 24 hs. Após esse período os eppendorfs foram centrifugados a 12000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para outro eppendorf.

Ao sobrenadante foi adicionado, para cada 1 mL de amostra, 250 µL de clorofórmio e 375 µL de água destilada. Os tubos foram então agitados por aproximadamente 15 segundos e deixados a temperatura ambiente por mais 24 horas. Após esse período foi coletado a fase aquosa e transferida para um novo eppendorf. Em seguida, com os tubos abertos, o material foi colocado em banho-maria à 37 °C onde permaneceu por cerca de 10 horas e depois foi armazenado em freezer à -20 °C até o momento da dosagem.

Os açúcares redutores foram determinados pelo método de Somogyi e Nelson (SOUTHGATE,1976). Para determinar os açúcares totais, uma alíquota do extrato diluído foi adicionada de HCl 0,7M e permaneceu em repouso durante 16h. Após a neutralização do ácido com NaOH determinou-se açúcares totais também pelo método de Somogyi e Nelson. O teor de sacarose (açúcares não redutores) foi calculado pela diferença entre os açúcares totais e os redutores. Todos os resultados foram determinados em duplicata.

A dosagem da prolina foi feito pelo método de ninhidrina conforme Carillo e Gibon (2011) onde, 1mL do extrato obtido foi diluído para 5 mL em etanol 40%. Desse extrato diluído, 1 mL foi pipetado para um tubo com tampa e adicionado de 2 mL da mistura de reação (1 g de ninhidrina dissolvida em 60 mL de ácido acético glacial, mais 20 mL de etanol absoluto e água destilada para completar o volume de 100 mL). Em seguida os tubos foram agitados, aquecidos a 95°C durante 20 minutos e resfriados rapidamente em banho de gelo. A leitura da absorbância do conteúdo do tubo foi feita em 520 nm.

Os valores obtidos de açúcares solúveis (AR, AT e sacarose) e prolina foram convertidos para massa seca. Todas as coletas foram feitas no início e termino de cada período de estresse tanto para o experimento controle quanto para o sem irrigação.

4.7 AVALIAÇÕES NUTRICIONAIS

Ao final do experimento a massa seca de todas as plantas foi enviado para o laboratório de solos e análises vegetais do IAPAR, para dosagem de macro e micronutrientes conforme Carmo et al. (2000). O teor de cada nutriente foi dosado com base no peso seco total de cada planta individualmente. Com os dados obtidos foi calculada a variação relativa

nutricional de cada nutriente (VR), dado em porcentagem através da equação: $VR = \frac{SI}{CI \times 100}$, onde CI e SI correspondem ao teor do nutriente no ambiente controle e sem irrigação, respectivamente.

4.8 AVALIAÇÕES DE CRESCIMENTO

Foram avaliadas altura da planta (AP) com régua milimetrada, diâmetro do caule à altura do colo (DC) com paquímetro e área foliar (AF) pelo produto do comprimento x largura da folha e corrigida através da equação: $LA = 0.6626(L \times W)^{1.0116}$, onde: LA = área foliar; L = comprimento; W = largura (ANTUNES et al. 2008). Com esses dados foram calculados variação de crescimento relativo da área foliar (VCRAF), variação de crescimento relativo da altura da planta (VCRAP), variação de crescimento relativo do diâmetro do caule (VCRDC) e variação de aumento na relação diâmetro do caule pela altura da planta

(VA(DC/AP)), pelas seguintes equações: $VCRAF = \left(\frac{AF_{final}}{AF_{inicial}} \right) \times 100$;

$VCRAP = \left(\frac{AP_{final}}{AP_{inicial}} \right) \times 100$; $VCRDC = \left(\frac{DC_{final}}{DC_{inicial}} \right) \times 100$ e $VA \left(\frac{DC}{AP} \right) = \left(\frac{\frac{DC}{AP}_{final}}{\frac{DC}{AP}_{inicial}} \right) \times 100$.

Ao final do experimento todas as plantas foram secas em estufa à aproximadamente 65 °C por 72 horas e estimado o peso seco total da parte aérea (separando caule e folhas) e raiz e calculada a relação raiz/parte aérea.

As avaliações de AP, DC e AF foram feitas no início e no final dos experimentos (controle e sem irrigação).

4.9 DELINEAMENTO E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os experimentos foram instalados no delineamento inteiramente casualizado, com 5 genótipos (Tabela 4.1) e nove repetições. Para as avaliações fisiológicas de A , E , g_s , A/E , A/g_s , temperatura da folha, C_i e k , foram utilizadas 5 repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância (Anava) conjunta de experimentos, experimento com irrigação (CI) e sem irrigação (SI), em parcelas subdivididas (5x2), sendo 5 genótipos e dois períodos de estresse (1E e 2E) para as variáveis relacionadas aos parâmetros fisiológicos (com exceção de IM) e bioquímicos, Anava conjunta de

experimentos (CI e SI) em delineamento inteiramente casualizado (5 genótipos) para as variáveis relacionadas aos parâmetros de crescimento e nutricionais e para IM e Anava simples para VR. Foi usado teste F para comparação de médias entre ambiente e períodos de estresse e teste de Tukey para comparação dos genótipos.

Segundo Perecin e Cargnelutti Filho (2008), o menor rigor ao considerar o nível de significância na interpretação do efeito da interação em experimentos, em relação às demais fontes de variação da análise de variância, pode captar efeitos importantes. Por isso, esses mesmos autores recomendam que seja usado $p = 0,25$ ao interpretar o efeito da interação, mantendo-se o usual $p = 0,05$ para efeitos por comparações. Dessa forma, nesse estudo foram considerados $p = 0,25$ para interações e $p = 0,05$ para comparações dos efeitos.

5 RESULTADOS

5.1 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Os valores de A diminuíram drasticamente com a imposição do estresse por déficit hídrico. Os maiores valores de A em condições de seca foram registrados para os genótipos H0113-40-26-10 (1,31) e H0113-40-26-1 (0,92), que diferiram estatisticamente de Tupi IAC 1669-33 (0,33). IAPAR 59 e H0113-40-26-9 não diferiram nem de Tupi e nem dos cafeeiros mais tolerantes. No ambiente controle não foram verificadas diferenças significativas entre os genótipos. A taxa fotossintética líquida foi mais afetada após o 2º estresse em comparação com o 1º estresse, com exceção do genótipo H0113-40-26-10, que manteve A constante após o 2º estresse (Tabelas 5.1 e 5.2).

Os valores de E foram fortemente reduzidos nos genótipos submetidos aos déficits hídricos. Porém, não foram verificadas diferenças significativas entre os genótipos nem para ambientes, nem para períodos de estresse. A interação ambiente estresse mostrou diferença entre o primeiro e segundo estresses apenas no ambiente sem irrigação (Tabelas 5.1 e 5.2).

A g_s diminuiu drasticamente no ambiente sem irrigação em ambos os estresses. Não foram verificadas diferenças significativas médias entre os genótipos nem para ambiente, nem para estresses. Foi registrado aumento na g_s do 1º para o 2º estresse no ambiente controle (Tabelas 5.1 e 5.2).

A A/E foi superior em condições de estresse por déficit hídrico em todos os genótipos, com exceção de Tupi e H0113-40-26-1, que não diferiram do controle. Os maiores valores de A/E foram registrados em H0113-40-26-10 (6,04) e IAPAR 59 (5,73), que diferiram de Tupi e H0113-40-26-1. H0113-40-26-9 apresentou comportamento intermediário, não diferindo de H0113-40-26-10, porém diferindo de Tupi. Diferenças estatísticas significativas entre genótipos foram registradas apenas no 1º estresse, em que H0113-40-26-10 e IAPAR 59 apresentaram os maiores valores e diferiram de Tupi. Houve redução significativa de A/E do primeiro para o segundo estresse no ambiente sem irrigação (Tabelas 5.1 e 5.2).

A A/g_s foi estatisticamente superior na condição de estresse, sendo os maiores valores registrados para H0113-40-26-10 (49,66) e IAPAR 59 (45,55), os quais diferiram estatisticamente de Tupi, que apresentou a menor A/g_s (27,37). H0113-40-26-1 e H0113-40-26-9 não diferiram nem de Tupi e nem dos genótipos mais tolerantes. No ambiente

controle, não foi verificada diferença entre os genótipos. Considerando a média dos dois estresses, não foram observadas diferenças estatísticas entre os genótipos, porém H0113-40-26-10 registrou o maior valor médio (27,79), enquanto Tupi registrou o menor valor (16,18). Houve redução significativa do primeiro para o segundo estresse no ambiente sem irrigação (Tabelas 5.1 e 5.2).

Houve redução na concentração de C_i no ambiente sem irrigação (312,69) em relação ao controle (366,85), com exceção de Tupi que manteve o C_i após os estresses. No ambiente sem irrigação os menores valores foram verificados em H0113-40-26-10 (284,50) e H0113-40-26-9 (302,36), que diferiram de Tupi (350,26). Entre os períodos de estresse, a maior redução de C_i ocorreu no 1º estresse. Na média dos dois estresses, somente H0113-40-26-10 apresentou menos C_i do que Tupi (Tabelas 5.1 e 5.2).

O valor de k foi menor no ambiente sem irrigação em todos os genótipos. No ambiente controle não foram verificadas diferenças entre os genótipos, porém no ambiente sem irrigação H0113-40-26-10 teve maior k (0,053), sendo o único que diferiu estatisticamente de Tupi, que apresentou o menor valor de k (0,011), enquanto que os outros não diferiram desses dois genótipos. Houve redução em k do 1º para o 2º estresse. Entre os genótipos, diferenças significativas só foram verificadas entre H0113-40-26-10 que apresentou maior valor de k (0,098) e Tupi, que teve o menor valor (0,065). Os demais genótipos não diferiram de Tupi e do H0113-40-26-10 (Tabelas 5.1 e 5.2).

Tabela 5.1 - Tabela de análise de variâncias conjunta de experimentos (dois ambientes (A)) com parcelas subdivididas (5x2), sendo cinco genótipos (G) e dois estresses (E), para as variáveis relacionadas aos parâmetros fisiológicos.

$Pr > F_c^{(1)}$										
FV	GL	A	E	g_s	A/E	A/ g_s	C_i	k	CRA	IM
G	4	0.106	0.973	0.718	0.002	0.276	0.044	0.041	0.114	0.000
A	1	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	
G*A	4	0.232	0.498	0.707	0.003	0.066	0.055	0.195	0.096	
erro 1	40									
E	1	0.000	0.001	0.084	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
G*E	4	0.582	0.641	0.661	0.112	0.605	0.605	0.706	0.465	0.080
A*E	1	0.002	0.001	0.080	0.001	0.001	0.000	0.006	0.000	
G*A*E	4	0.980	0.616	0.653	0.091	0.813	0.800	0.971	0.287	
erro 2	40									
Total corrigido	99									
CV1(%) =		20,75	24,28	23,83	24,99	28,75	9,92	28,52	19,30	10,17
CV2(%) =		12,20	22,2	28,69	30,46	26,83	11,24	21,24	9,99	

⁽¹⁾ foram considerados significativos $p = 0,25$ para interações e $p = 0,05$ para comparações dos efeitos. Valores em negrito correspondem à significância positiva. A= fotossíntese líquida; E= transpiração; g_s = condutância estomática; A/E=eficiência no uso da água; A/ g_s = eficiência intrínseca no uso da água; C_i = carbono interno; k =eficiência instantânea de carboxilação; CRA= conteúdo relativo de água; IM= índice de murcha. Fonte: próprio autor.

Tabela 5.2 - Parâmetros fisiológicos avaliados em casa de vegetação em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes (controle irrigado = CI; sem irrigação = SI) e dois períodos de restrição de irrigação (1º estresse = E1; 2º estresse = E2).

		Ambiente			Estresse ⁽¹⁾		Média
		CI	SI	Média	E1	E2	
Fotossíntese Líquida (A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)⁽²⁾							
Genótipo	H0113-40-26-1	5.06 a A	0.92 a B	2.99	3.53	2.45	2.99 a
	H0113-40-26-9	4.72 a A	0.72 ab B	2.72	3.01	2.40	2.72 a
	H0113-40-26-10	5.70 a A	1.31 a B	3.51	3.88	3.14	3.51 a
	Tupi IAC 1669-33	5.14 a A	0.33 b B	2.73	3.24	2.23	2.73 a
	IAPAR 59	5.00 a A	0.80 ab B	2.90	3.42	2.37	2.90 a
	Média	5.12	0.81		3.42 A	2.52 B	
Estresse	E1	5.68 a A	1.15 a B	3.42			
	E2	4.56 b A	0.48 b B	2.52			
	Média	5.12	0.81				
Transpiração (E) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)							
Genótipo	H0113-40-26-1	2.73	0.31	1.52 a	1.63	1.41	1.52 a
	H0113-40-26-9	2.66	0.30	1.48 a	1.53	1.42	1.48 a
	H0113-40-26-10	2.65	0.45	1.55 a	1.63	1.48	1.55 a
	Tupi IAC 1669-33	2.73	0.31	1.52 a	1.73	1.32	1.52 a
	IAPAR 59	2.86	0.23	1.55 a	1.69	1.41	1.55 a
	Média	2.73 A	0.32 B		1.64 A	1.41 B	
Estresse	E1	2.97 a A	0.31 a B	1.64			
	E2	2.48 b A	0.33 a B	1.41			
	Média	2.73	0.32				
Condutância estomática (g_s) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)⁽²⁾							
Genótipo	H0113-40-26-1	2.19	0.03	1.11 a	0.84	1.37	1.11 a
	H0113-40-26-9	2.45	0.03	1.24 a	0.62	1.86	1.24 a
	H0113-40-26-10	1.79	0.04	0.91 a	0.48	1.35	0.91 a
	Tupi IAC 1669-33	1.62	0.02	0.82 a	0.54	1.09	0.82 a
	IAPAR 59	2.46	0.02	1.24 a	1.31	1.17	1.24 a
	Média	2.10 A	0.02 B		0.76 A	1.37 A	
Estresse	E1	1.49 b A	0.03 a B	0.76			
	E2	2.71 a A	0.02 a B	1.37			
	Média	2.10	0.02				
Eficiência no uso da água (A/E) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)⁽²⁾							
Genótipo	H0113-40-26-1	1.89 a A	2.17 bc A	2.03	2.46 b A	1.61 a A	2.03
	H0113-40-26-9	1.78 a B	3.99 ab A	2.89	3.03 ab A	2.74 a A	2.89
	H0113-40-26-10	2.09 a B	6.04 a A	4.07	6.08 a A	2.05 a B	4.07
	Tupi IAC 1669-33	1.87 a A	0.96 c A	1.42	1.71 b A	1.12 a A	1.42
	IAPAR 59	1.78 a B	5.73 a A	3.75	6.00 a A	1.51 a B	3.75
	Média	1.88	3.78		3.86	1.81	
Estresse	E1	1.91 a B	5.80 a A	3.86			
	E2	1.86 a A	1.76 b A	1.81			
	Média	1.88	3.78				
Eficiência intrínseca no uso da água (A/g_s) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)⁽³⁾							
Genótipo	H0113-40-26-1	4.07 a B	43.84 ab A	23.95	33.49	14.41	23.95 a
	H0113-40-26-9	3.51 a B	45.14 ab A	24.33	34.33	14.33	24.33 a
	H0113-40-26-10	5.92 a B	49.66 a A	27.79	35.39	20.19	27.79 a
	Tupi IAC 1669-33	4.99 a B	27.37 b A	16.18	25.81	6.55	16.18 a
	IAPAR 59	3.20 a B	45.55 a A	24.38	35.72	13.04	24.38 a
	Média	4.34	42.31		32.95 A	13.70 B	
Estresse	E1	4.84 a B	61.05 a A	32.95			
	E2	3.83 a B	23.57 b A	13.70			
	Média	4.34	42.31				

		Ambiente			Estresse ⁽¹⁾		
		CI	SI	Média	E1	E2	Média
Carbono Interno (Ci) (ppm)							
Genótipo	H0113-40-26-1	368.50 a A	311.18 ab B	339.84	324.78	354.90	339.84 ab
	H0113-40-26-9	371.40 a A	302.36 b B	336.88	333.61	340.15	336.88 ab
	H0113-40-26-10	361.25 a A	284.50 b B	322.88	300.60	345.15	322.88 b
	Tupi IAC 1669-33	364.95 a A	350.26 a A	357.61	339.51	375.70	357.61 a
	IAPAR 59	368.15 a A	315.13 ab B	341.64	325.93	357.35	341.64 ab
	Média	366.85	312.69		324.89 B	354.65 A	
Estresse	E1	368.82 a A	280.95 b B	324.89			
	E2	364.88 a A	344.42 a B	354.65			
	Média	366.85	312.69				
Eficiência de instantânea carboxilação (k) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$)⁽⁴⁾							
Genótipo	H0113-40-26-1	0,147 a A	0,034 ab B	0,091	0.110	0.071	0.091 ab
	H0113-40-26-9	0,137 a A	0,026 ab B	0,082	0.092	0.071	0.082 ab
	H0113-40-26-10	0,172 a A	0,053 a B	0,113	0.127	0.098	0.113 a
	Tupi IAC 1669-33	0,152 a A	0,011 b B	0,082	0.098	0.065	0.082 b
	IAPAR 59	0,147 a A	0,029 ab B	0,088	0.105	0.071	0.088 ab
	Média	0,151	0,031		0.106 A	0.075 B	
Estresse	E1	0.168 a A	0.045 a B	0.106			
	E2	0.134 b A	0.016 b B	0.075			
	Média	0.151	0.031				
Conteúdo relativo de água (CRA) (%)							
Genótipo	H0113-40-26-1	88,79 a A	67,25 ab B	78,02	81,21	74,84	78,02 a
	H0113-40-26-9	88,21 a A	68,79 ab B	78,50	80,43	76,56	78,50 a
	H0113-40-26-10	85,75 a A	72,35 a B	79,05	80,07	78,03	79,05 a
	Tupi IAC 1669-33	86,77 a A	55,23 b B	71,00	73,43	68,57	71,00 a
	IAPAR 59	86,68 a A	71,35 a B	79,02	83,25	74,79	79,02 a
	Média	87,24	66,99		79,68 A	74,56 B	
Estresse	E1	85,78 a A	73,57 a B	79,68			
	E2	88,69 a A	60,42 b B	74,56			
	Média	87,24	66,99				

⁽¹⁾ O E1 iniciou em 4/12/2015 e terminou em 15/12/2015. Em seguida as plantas passaram por um período de recuperação de 15 dias, recebendo água normalmente. O E2 teve início em 30/12/2015 e término em 09/01/2016.

⁽²⁾ Dados transformados para $\sqrt{x+1}$. ⁽³⁾ Dados transformados para $\log(x+1)$. ⁽⁴⁾ Dados transformados para $\sqrt{x+1}$. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade e teste F à 5% de probabilidade, respectivamente. **Fonte:** próprio autor.

O CRA foi menor no ambiente sem irrigação, em relação ao controle em todos os genótipos. Os menores valores de CRA foram registrados na cultivar Tupi (55,23), em relação aos demais, porém, diferenças estatísticas só foram verificadas entre essa cultivar e H0113-40-26-10 (72,35) e IAPAR 59 (71,35), que apresentaram os maiores CRAs. H0113-40-26-1 e H0113-40-26-9 não diferiram de Tupi, porém também não diferiram de H0113-40-26-10 e IAPAR 59. Houve redução significativa na média do CRA do 1º para o 2º estresse (Tabelas 5.1 e 5.2).

Os valores de IM foram maiores no 2º estresse para todos genótipos. No 1º estresse, H0113-40-26-10 (2,06) e IAPAR 59 (2,17) apresentaram as menores notas médias de IM e diferiram de Tupi, o qual apresentou nota média 2,83. No 2º estresse, foi verificado que somente H0113-40-26-10 diferiu de todos os genótipos, além de apresentar a menor nota de IM (2,85). Nesse último estresse, Tupi foi o que apresentou a maior nota de IM (3,74), sendo

estatisticamente mais sensível à murcha que H0113-40-26-10 e H0113-40-26-9, porém sem diferir de H0113-40-26-1 e IAPAR 59, que também não diferiram de H0113-40-26-9 (Tabelas 5.1 e 5.3).

No geral, os dados fisiológicos demonstraram melhor desempenho para os genótipos com introgressão de genes de *C. racemosa* e IAPAR 59, com destaque para H0113-40-26-10. Tupi confirmou ser mais sensível à seca. As variáveis que melhor diferenciaram os genótipos foram *A/E*, *A/g_s*, *k* e *CRA* e *IM*.

Tabela 5.3 - Intensidade de murcha avaliada em casa de vegetação em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois períodos de restrição de irrigação (1º estresse = E1; 2º estresse = E2).

Genótipos	Intensidade de Murcha ⁽¹⁾		Média
	E1	E2	
H0113-40-26-1	2.50 bc A	3.53 bc B	3.01
H0113-40-26-9	2.61 c A	3.29 b B	2.95
H0113-40-26-10	2.06 a A	2.85 a B	2.45
Tupi IAC 1669-33	2.83 c A	3.74 c B	3.29
IAPAR 59	2.17 ab A	3.37 bc B	2.77
Média	2.43	3.36	

⁽¹⁾O E1 iniciou em 4/12/2015 e terminou em 15/12/2015. Em seguida as plantas passaram por um período de recuperação de 15 dias, recebendo água normalmente. O E2 teve início em 30/12/2015 e término em 09/01/2016. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade e teste F à 5% de probabilidade, respectivamente. **Fonte:** próprio autor.

5.2 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

O conteúdo AR no ambiente sem irrigação foi significativamente superior que no ambiente controle. Na média, maiores concentrações de AR foram registradas em H0113-40-26-9 que diferiu dos demais com exceção de H0113-40-26-1, o qual diferiu de IAPAR 59, enquanto que H0113-40-26-10 e Tupi não diferiram. Em média, maior acúmulo de AR foi verificado no 1º estresse para H0113-40-26-1 e H0113-40-26-9 que diferiram de Tupi e IAPAR 59. H0113-40-26-10 não diferiu dos demais. No segundo estresse o comportamento foi semelhante, porém somente IAPAR 59 diferiu dos demais, com exceção do H0113-40-26-10. Na média, houve aumento no teor de AT do 1º para o 2º estresse no ambiente controle e redução no ambiente sem irrigação, porém, em ambos ambientes os maiores teores foram verificados no ambiente sem irrigação (Tabelas 5.4 e 5.5).

O conteúdo de AT no ambiente sem irrigação foi significativamente superior que no ambiente controle. H0113-40-26-9 e H0113-40-26-10 apresentaram maiores

teores de AT, diferindo de IAPAR 59 e Tupi que apresentaram os menores valores. H0113-40-26-1 foi intermediário e diferiu de IAPAR 59. Esse comportamento se repetiu para a média dos estresses. No ambiente controle houve maior acúmulo de AT no 2º estresse em relação ao 1º, sendo que no ambiente sem irrigação o comportamento foi contrário (Tabelas 5.4 e 5.5).

Foram observados menores teores de prolina no ambiente sem irrigação do que no controle. Entre os genótipos não foram verificadas diferenças estatísticas significativas. O teor de prolina médio foi significativamente reduzido no 2º estresse em relação ao 1º. Por esse motivo, quando comparados os ambientes controle e sem irrigação, levando em consideração os estresses isoladamente, mostra que houve aumento de prolina no 1º estresse em relação ao controle, porém, no 2º estresse ocorreu redução (Tabelas 5.4 e 5.5).

Nas médias de todos genótipos e dos dois estresses não houve diferença significativa para os teores de sacarose entre os ambientes controle e sem irrigação. No 2º estresse, menor teor de sacarose foi observado no ambiente sem irrigação do que no controle. Porém, H0113-40-26-10 apresentou maior teor de sacarose e foi o único que diferiu de Tupi. Esse comportamento se repetiu para as análises de períodos de estresse. Também foi verificado redução no teor médio de sacarose no segundo estresse no ambiente sem irrigação em relação ao controle (Tabelas 5.4 e 5.5).

O conteúdo de açúcares solúveis em geral foi maior no experimento sem irrigação, sendo mais evidenciado nos genótipos com genes de *C. racemosa*. O conteúdo de prolina, no entanto, foi menor na condição de estresse por déficit hídrico.

Tabela 5.4 - Tabela de análise de variâncias conjunta de experimentos (dois ambientes (A)) com parcelas subdivididas (5x2) sendo cinco genótipos (G) e dois estresses (E), para as variáveis relacionadas aos parâmetros bioquímicos.

Bioquímica	Pr>Fc					
	FV	GL	AR	AT	Sacarose	Prolina
G	4		0.000	0.000	0.050	0.336
A	1		0.000	0.000	0.197	0.000
G*A	4		0.285	0.446	0.313	0.645
erro 1	80					
E	1		0.445	0.323	0.833	0.000
G*E	4		0.199	0.382	0.779	0.572
A*E	1		0.000	0.000	0.0827	0.000
G*A*E	4		0.739	0.682	0.8126	0.390
erro 2	80					
Total corrigido	179					
CV1(%) =			31.66	26.25	26.65	13.50
CV2(%) =			25.89	24.82	24.25	13.12

⁽¹⁾ foram considerados significativos p = 0,25 para interações e p = 0,05 para comparações dos efeitos. Valores em negrito correspondem à significância positiva. AR= açúcares redutores; AT= açúcares totais. **Fonte:** próprio autor.

Tabela 5.5 - Parâmetros bioquímicos avaliados em casa de vegetação em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes (controle irrigado = CI; sem irrigação = SI) e dois períodos de restrição de irrigação (1º estresse = E1; 2º estresse = E2).

		Ambiente			Estresse ⁽¹⁾		
		CI	SI	Média	E1	E2	Média
Açúcares Redutores (AR) (mg g⁻¹ MS)							
Genótipos	H0113-40-26-1	38.56	50.21	44.38 ab	46.05 a A	42.72 a A	44.38
	H0113-40-26-9	39.38	59.61	49.50 a	51.65 a A	47.34 a A	49.50
	H0113-40-26-10	37.19	44.47	40.83 b	41.29 ab A	40.36 ab A	40.83
	Tupi IAC 1669-33	30.12	46.07	38.10 bc	34.96 b A	41.23 a A	38.10
	IAPAR 59	25.81	37.89	31.85 c	33.73 b A	29.97 b A	31.85
	Média	34.21 B	47.65 A		41.54	40.32	
Estresse	1	31.69 b B	51.39 a A	41.54			
	2	36.74 a B	43.91 b A	40.32			
	Média	34.21	47.65				
Açúcares Totais (AT) (mg g⁻¹ MS)							
Genótipos	H0113-40-26-1	66.41	71.46	68.94 ab	72.90	64.98	68.94 ab
	H0113-40-26-9	65.41	84.92	75.17 a	77.40	72.93	75.17 a
	H0113-40-26-10	63.44	77.80	70.62 a	72.83	68.41	70.62 a
	Tupi IAC 1669-33	52.03	64.88	58.45 bc	55.04	61.86	58.45 bc
	IAPAR 59	49.11	57.71	53.41 c	54.42	52.40	53.41 c
	Média	59.28 B	71.35 A		66.52 A	64.11 B	
Estresse	1	55.47 b B	77.57 a A	66.52			
	2	63.09 a A	65.14 b A	64.11			
	Média	59.28	71.35				
Prolina (µmol g⁻¹ MS)⁽²⁾							
Genótipos	H0113-40-26-1	4.06	4.01	4.04 a	5.18	2.89	4.04 a
	H0113-40-26-9	4.69	4.11	4.40 a	6.05	2.76	4.40 a
	H0113-40-26-10	4.56	4.06	4.31 a	5.79	2.84	4.31 a
	Tupi IAC 1669-33	4.34	2.86	3.60 a	4.46	2.74	3.60 a
	IAPAR 59	3.59	3.42	3.50 a	4.54	2.47	3.50 a
	Média	4.25 A	3.69 B		5.20 A	2.74 B	
Estresse	1	4.18 a B	6.23 a A	5.20			
	2	4.32 a A	1.16 b B	2.74			
	Média	4.25	3.69				
Sacarose (mg g⁻¹ MS)							
Genótipos	H0113-40-26-1	27.86	21.26	24.56 ab	26.85	22.26	24.56 ab
	H0113-40-26-9	26.02	25.25	25.64 ab	25.69	25.59	25.64 ab
	H0113-40-26-10	26.25	33.34	29.79 a	31.53	28.05	29.79 a
	Tupi IAC 1669-33	21.91	18.80	20.36 b	20.09	20.62	20.36 b
	IAPAR 59	23.30	21.60	22.45 ab	22.47	22.43	22.45 ab
	Média	25.07 A	24.05 A		25.33 A	23.79 A	
Estresse	1	23.78 a A	26.88 a A	25.33			
	2	26.35 a A	21.23 a B	23.79			
	Média	25.07	24.05				

⁽¹⁾ O E1 iniciou em 4/12/2015 e terminou em 15/12/2015. Em seguida as plantas passaram por um período de recuperação de 15 dias, recebendo água normalmente. O E2 teve início em 30/12/2015 e término em 09/01/2016.

⁽²⁾ Dados transformados para 1/x. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade e teste F à 5% de probabilidade, respectivamente. **Fonte:** próprio autor.

5.3 PARÂMETROS NUTRICIONAIS

O teor de nitrogênio (N) não variou entre os ambientes em nenhum dos genótipos, com exceção de IAPAR 59 que teve conteúdo maior de N no ambiente sem irrigação. Variação entre os genótipos só foi verificada no ambiente sem irrigação, onde

IAPAR 59 e Tupi apresentaram a maior e menor concentração, respectivamente, diferindo entre si. Os demais genótipos apresentaram valores intermediários e não diferiram dos anteriores (Tabelas 5.6 e 5.7).

Entre os genótipos, no ambiente controle, maior concentração de P foi verificada justamente em Tupi que diferiu de todos, seguida de IAPAR 59 que diferiu dos demais genótipos, sendo os menores teores de P observados nos cafeeiros com genes de *C. racemosa* H0113-40-26-1 e H0113-40-26-10 e H0113-40-26-9. No ambiente sem irrigação, IAPAR 59 teve maior teor de P em relação aos demais, com exceção de H0113-40-26-1. H0113-40-26-1 não diferiu de Tupi e H0113-40-26-10, porém diferiu de H0113-40-26-9, o qual apresentou o menor teor de P. Tupi e H0113-40-26-10 somente tiveram concentração menor que IAPAR 59, não diferindo dos demais (Tabelas 5.6 e 5.7). Considerando o VRP (Tabela 5.9) foi possível observar que os três cafeeiros com genes de *C. racemosa* apresentaram o maior acúmulo de P no ambiente estressado e Tupi foi o único que diminuiu o teor de P.

O teor de potássio (K) foi maior no ambiente sem irrigação somente para os genótipos com genes de *C. racemosa*, sendo que em Tupi e em IAPAR 59 os teores de K nesse ambiente, respectivamente, diminuíram ou não alteraram. No ambiente controle os maiores teores de K foram verificados em Tupi e IAPAR 59, seguidos de H0113-40-26-10 e H0113-40-26-1, com menor valor no H0113-40-26-9. No ambiente estressado, as maiores concentrações de K foram encontradas em IAPAR 59 (19,10), H0113-40-26-10 (17,17) e H0113-40-26-1 (17,03), que diferiram estatisticamente de Tupi (14,69) e H0113-40-26-9 (14,91) (Tabelas 5.6 e 5.7). Considerando o VRK foi possível observar que os três cafeeiros com genes de *C. racemosa* apresentaram o maior acúmulo de K no ambiente estressado, não diferindo de IAPAR 59, sendo Tupi o único que diminuiu o teor de K (Tabela 5.9).

O teor de cálcio (Ca) de H0113-40-26-9 aumentou no ambiente com estresse, em relação ao controle, enquanto que em H0113-40-26-1 e H0113-40-26-10 os teores não alteraram e para Tupi e IAPAR 59 ocorreu redução de Ca no ambiente com estresse. Entre os genótipos, no ambiente controle, maiores teores de Ca foram verificados em Tupi e IAPAR 59, que diferiram dos demais. H0113-40-26-1 e H0113-40-26-10 apresentaram maior teor de Ca que H0113-40-26-9, sendo esse último o genótipo com menor teor. No ambiente sem irrigação não foram verificadas diferenças entre os genótipos (Tabelas 5.6 e 5.7).

O teor de magnésio (Mg) teve comportamento similar ao de Ca, pois os teores foram maiores no ambiente sem irrigação em H0113-40-26-1, H0113-40-26-9 e

H0113-40-26-10 e menores em Tupi e IAPAR 59. Da mesma forma que o Ca, entre os genótipos, no ambiente controle, Tupi e IAPAR 59 tiveram os maiores teores de Mg, diferindo dos demais. H0113-40-26-1 e H0113-40-26-10 apresentaram maior teor de Mg que H0113-40-26-9, sendo esse último o genótipo com menor teor. No ambiente sem irrigação não foram verificadas diferenças entre os genótipos (Tabelas 5.6 e 5.7).

Tabela 5.6 - Tabela de análise de variâncias conjunta (CI e SI) para avaliação de genótipos (G) quanto as variáveis relacionadas aos parâmetros nutricionais.

FV	GL	Pr>Fc ⁽¹⁾							
		N	P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	B
G	4	0.580	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143	0.000	0.013
A	1	0.373	0.000	0.000	0.804	0.774	0.389	0.442	0.583
G*A	4	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000
erro	71								
Total corrigido	180								
CV(%)		6.2	13.75	10.08	13.55	11.2	26.06	8.84	18.82

⁽¹⁾ foram considerados significativos p = 0,25 para interações e p = 0,05 para comparações dos efeitos. Valores em negrito correspondem à significância positiva. **Fonte:** próprio autor.

Tabela 5.7 - Teor de macronutrientes em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes: controle irrigado (CI) e sem irrigação (SI) e dois períodos de restrição de irrigação conduzidas em casa de vegetação.

Genótipos	Nitrogênio (g.kg ⁻¹) ⁽¹⁾		Fósforo (g.kg ⁻¹)		Potássio (g.kg ⁻¹)		Cálcio (g.kg ⁻¹)		Magnésio (g.kg ⁻¹)	
	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI
H0113-40-26-1	20.22 a A	20.02 ab A	2.70 c B	3.78 ab A	13.60 b B	17.03 a A	12.55 b A	13.99 a A	5.26 b B	6.13 a A
H0113-40-26-9	20.45 a A	20.42 ab A	2.03 d B	3.08 c A	10.43 c B	14.91 b A	9.18 c B	12.59 a A	3.95 c B	5.46 a A
H0113-40-26-10	21.50 a A	22.08 ab A	2.60 cd B	3.24 bc A	13.81 b B	17.17 a A	11.96 b A	13.40 a A	5.07 b B	5.81 a A
Tupi IAC 1669-33	21.54 a A	18.06 b A	3.86 a A	3.29 bc B	19.45 a A	14.69 b B	15.60 a A	13.20 a B	7.36 a A	6.04 a B
IAPAR 59	17.91 a B	25.41 a A	3.28 b B	3.89 a A	17.68 a A	19.10 a A	16.07 a A	12.66 a B	7.52 a A	5.52 a B
Média	20.32	21.2	2.90	3.46	14.99	16.58	13.07	13.17	5.83	5.79

⁽¹⁾Dados transformados para log(x). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e teste F a 5% de probabilidade, respectivamente. **Fonte:** próprio autor.

Para o teor de cobre (Cu) foi verificada diferença significativa entre os ambientes apenas na cultivar IAPAR 59, que teve menor concentração no ambiente estressado. Não foram verificadas diferenças significativas entre os genótipos no ambiente controle. No ambiente sem irrigação, H0113-40-26-10 e H0113-40-26-1 apresentaram maiores teores de Cu que IAPAR 59, enquanto que H0113-40-26-9 e Tupi não diferiram dos demais (Tabelas 5.6 e 5.8).

Os teores de zinco (Zn) de H0113-40-26-1 e H0113-40-26-9 foram maiores no ambiente sem irrigação, enquanto que em H0113-40-26-10 o teor não alterou. Para Tupi e IAPAR 59 ocorreu redução de Zn no ambiente com estresse. Entre os genótipos, no ambiente controle, maior teor de Zn foi verificado para Tupi e IAPAR 59, em relação aos demais

genótipos. No ambiente sem irrigação, H0113-40-26-1, teve o maior teor de Zn em relação aos demais, que não diferiram entre si (Tabelas 5.6 e 5.8).

O boro (B) teve comportamento muito similar ao de Zinco, pois H0113-40-26-9 foram maiores no ambiente sem irrigação, enquanto que H0113-40-26-1 e H0113-40-26-10 o teor não alterou e para Tupi e IAPAR 59 ocorreu redução de Zn no ambiente com estresse (Tabelas 5.6 e 5.8).

No geral, considerando as variáveis VRCa, VRMg, VRCu, VRZn e VRB, os genótipos com genes de *C. racemosa* mostraram acúmulo maior desses nutrientes no ambiente estressado e foram os únicos que diferiram de IAPAR 59, que apresentou o menor teor (Tabela 5.9).

Tabela 5.8 - Teor de micronutrientes em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes: controle irrigado (CI) e sem irrigação (SI) e dois períodos de restrição de irrigação conduzidas em casa de vegetação.

Genótipos	Cobre (mg.kg ⁻¹) ⁽²⁾		Zinco (mg.kg ⁻¹)		Boro (mg.kg ⁻¹)	
	CI	SI	CI	SI	CI	SI
H0113-40-26-1	2.65 a A	3.31 a A	10.87 b B	14.83 a A	60.33 b A	68.80 a A
H0113-40-26-9	2.03 a A	2.48 ab A	8.89 b B	10.53 b A	53.70 b B	68.38 a A
H0113-40-26-10	2.37 a A	3.35 a A	10.46 b A	11.61 b A	60.34 b A	70.33 a A
Tupi IAC 1669-33	2.45 a A	2.59 ab A	13.84 a A	10.81 b B	81.73 a A	67.41 a B
IAPAR 59	3.06 a A	2.00 b B	14.46 a A	11.41 b B	84.86 a A	58.65 a B
Média	2.51	2.75	11.7	11.84	68.19	66.71

⁽²⁾Dados transformados para $1/(x+1)$. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e teste F a 5% de probabilidade, respectivamente. **Fonte:** próprio autor.

Tabela 5.9 – Variação relativa nutricional (VR) em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes: controle irrigado (CI) e sem irrigação (SI) e dois períodos de restrição de irrigação conduzidas em casa de vegetação.

Genótipos	VRN ⁽¹⁾	VRP ⁽²⁾	VRK ⁽²⁾	VRCa ⁽²⁾	VRMg ⁽²⁾	VRCu ⁽³⁾	VRZn ⁽³⁾	VRB ⁽²⁾
H0113-40-26-1	101.7 ab	151.1 a	130.9 a	120.0 ab	127.7 ab	146.8 a	143.6 a	118.8 a
H0113-40-26-9	102.0 ab	182.5 a	156.7 a	166.9 a	182.7 a	147.2 a	148.0 a	147.9 a
H0113-40-26-10	108.1 ab	171.1 a	158.9 a	127.9 ab	135.8 ab	147.8 a	121.4 ab	128.6 a
Tupi IAC 1669-33	87.7 b	86.4 b	76.3 b	84.9 bc	83.2 bc	107.0 ab	79.2 b	86.2 ab
IAPAR 59	141.4 a	119.6 ab	109.0 a	79.3 c	74.4 c	72.4 b	84.1 b	68.4 b
Pr>Fc	0.006	0.015	0.000	0.000	0.000	0.004	0.001	0.000
CV %	12.87	37.64	28.33	26.76	29.24	10.23	7.26	29.07

VRN = variação relativa do teor de nitrogênio; VRP = variação relativa do teor de fósforo; VRK = variação relativa do teor de potássio; VRCa = variação relativa do teor de Cálcio; VRMg = variação relativa do teor de magnésio; VRCu = variação relativa do teor de cobre; VRZn = variação relativa do teor de zinco; VRB = variação relativa do teor de boro. ⁽¹⁾Dados transformados para Raiz(x); ⁽²⁾Dados transformados para $1/x$; ⁽³⁾Dados transformados para Log(x). Médias seguidas pela

mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. $VR = SI/CI*100$. Dados apresentados em porcentagem. **Fonte:** próprio autor.

5.4 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

A VCRAF foi positiva (superior a 100%) apenas no ambiente controle, diferindo significativamente do ambiente sem irrigação em todos os genótipos. No ambiente sem irrigação foi verificada redução da área foliar com valores de VCRAF inferiores a 100% em todos os genótipos. Entre os genótipos não foram verificadas diferenças significativas em nenhum dos ambientes. Apesar de não diferirem estatisticamente, o maior VCRAF no ambiente controle foi visto em Tupi e a menor em H0113-40-26-10 e, além disso, no ambiente sem irrigação o maior VCRAF foi visto nesse último genótipo. Assim a maior $\Delta VCRAF$ foi verificada em Tupi (27,63%) e a menor no H0113-40-26-10 (11,17%), sendo que esse último foi o único que diferiu de Tupi e, portanto, no ambiente sem irrigação, a redução do crescimento da área foliar foi menor (Tabelas 5.10 e 5.11).

A VCRAP foi pouco afetada pela seca, não diferindo entre os ambientes controle e sem irrigação. Porém, diferenças significativas entre genótipos foram verificadas na média dos ambientes, no qual VCRAP foi maior em IAPAR 59 (114,1%) diferindo estatisticamente de H0113-40-26-1 e H0113-40-26-10, que apresentaram os menores valores (109 e 107,8%, respectivamente). Tupi e H0113-40-26-9 tiveram comportamento intermediário e não diferiram dos demais (Tabelas 5.10 e 5.11).

A VCRDC diferiu significativamente entre os ambientes sendo superior no ambiente controle. Tupi foi o único que apresentou redução média do DC, com valor de VCRDC inferior à 100%. Entre os genótipos não foram verificadas diferenças estatísticas, porém, H0113-40-26-10 teve maior VCRDC (114,4%) e Tupi o menor (107,7%) (Tabelas 5.10 e 5.11).

A VA(DC/AP) diferiu estatisticamente entre os ambientes sendo maior no controle. Ao contrário do controle, o ambiente sem irrigação apresentou redução na VA(DC/AP), sendo inferior a 100% em todos os genótipos, exceto em H0113-40-26-10 com VA(DC/AP) de 103,9%. Diferenças estatísticas entre os genótipos foram verificadas na média dos ambientes, em que, H0113-40-26-10 foi superior à Tupi, sem, no entanto, diferir dos demais (Tabelas 5.10 e 5.11).

Considerando a média de todos os genótipos, maior PST foi verificado nas condições controle (5,75), em relação ao ambiente sem irrigação (5,07). Entretanto,

individualmente, não houve variação entre os genótipos na média dos ambientes (Tabelas 5.10 e 5.12).

O PSPA foi menor no ambiente sem irrigação. Entre os genótipos, o menor PSPA foi verificado em IAPAR 59 que diferiu dos demais, com exceção de H0113-40-26-10. O peso seco da folha PSF também foi inferior no ambiente sem irrigação em relação ao controle. Entre os genótipos, não houve diferenças estatísticas significativas (Tabelas 5.10 e 5.12).

Tabela 5.10 - Tabela de análise de variância conjunta (CI e SI), para avaliação de genótipos (G) quanto as variáveis relacionadas aos parâmetros de crescimento.

FV	GL	Pr>Fc										
		Crescimento					Peso Seco					
		VCRAF	Δ VCRAF*	VCRAP	VCRDC	VA(DC/AP)	PA	Folhas	Caulo	Raiz	Total	R/PA
G	4	0.698	0.012	0.002	0.324	0.019	0.002	0.061	0.000	0.498	0.029	0.024
A	1	0.000		0.772	0.000	0.000	0.000	0.026	0.000	0.766	0.003	0.920
G*A	4	0.250		0.275	0.320	0.432	0.621	0.747	0.000	0.398	0.442	0.401
erro	80 (30*)											
Total	89 (34*)											
CV(%) =		11.42	17.03	4.34	8.64	9.56	15.22	23.41	10.7	37.2	19.32	29.58

⁽¹⁾ foram considerados significativos $p = 0,25$ para interações e $p = 0,05$ para comparações dos efeitos. Valores em negrito correspondem à significância positiva. VCRAF = variação de crescimento relativo da área foliar; Δ VCRAF = diferença na variação de crescimento relativo da área foliar entre ambientes CI e SI; VCRAP = variação de crescimento relativo da altura da planta; VCRDC = variação de crescimento relativo do diâmetro do caule; VA(DC/AP) = variação do aumento na relação diâmetro do caule pela altura da planta. **Fonte:** próprio autor.

Tabela 5.11 - Parâmetros de crescimento avaliados em casa de vegetação em plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes (controle irrigado = CI; sem irrigação = SI).

Genótipos	Ambiente				Δ VCRAF	Ambiente											
	CI			SI		CI			SI	CI			SI	M			
	VCRAF (%)		M			VCRAF (%)		M		VCRAF (%)		M		VA(AP/DC) (%)		M	
H0113-40-26-1	109,2 a A	94,4 a B	101,8	14.75 ab	109,0	109,0	109,0 b	119,8	105,9	112,9 a	109,9	97,6	103,7 ab				
H0113-40-26-9	110,6 a A	89,0 a B	99,8	21.63 ab	112,3	110,0	111,1 ab	118,59	104,9	111,8 a	106,0	95,3	100,7 ab				
H0113-40-26-10	106,4 a A	95,3 a B	100,9	11.17 b	108,6	107,0	107,8 b	117,7	111,1	114,4 a	108,6	103,9	106,2 a				
Tupi IAC 1669-33	119,1 a A	91,4 a B	105,2	27.63 a	112,9	111,2	112,1 ab	118,0	97,5	107,7 a	104,5	87,7	96,1 b				
IAPAR 59	110,7 a A	93,4 a B	102,0	17.25 ab	112,0	116,1	114,1 a	117,9	106,2	112,0 a	105,3	91,8	98,6 ab				
Média	111,2	92,7			111,0 A	110,7 A		118,4 A	105,1 B		106,9 A	95,3 B					

M = média; VCRAF = variação de crescimento relativo da área foliar; Δ VCRAF = diferença na variação de crescimento relativo da área foliar entre ambientes CI e SI; VCRAP = variação de crescimento relativo da altura da planta; VCRDC = variação de crescimento relativo do diâmetro do caule; VA(DC/AP) = variação do aumento na relação diâmetro do caule pela altura da planta. O primeiro estresse iniciou em 4/12/2015 e terminou em 15/12/2015. Em seguida as plantas passaram por um período de recuperação de 15 dias, recebendo água normalmente. O segundo estresse teve início em 30/12/2015 e término em 09/01/2016. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha para cada variável individualmente, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. **Fonte:** próprio autor.

O PSC foi menor em todos os genótipos no ambiente sem irrigação, com exceção de Tupi que não diferiu em relação ao ambiente controle. No ambiente controle, maior PSC foi verificado em H0113-40-26-1 e H0113-40-26-10, que diferiram de Tupi, com o menor valor de PSC. No ambiente sem irrigação, Tupi e H0113-40-26-9 apresentaram os maiores valores e diferiram de IAPAR 59 com o menor valor e H0113-40-26-10. Os genótipos H0113-40-26-1 e H0113-40-26-10 diferiram de IAPAR 59 (Tabelas 5.10 e 5.12).

Tabela 5.12 - Peso seco de plântulas com aproximadamente 6 pares de folhas completas, de três genótipos de *Coffea arabica* com introgressão de genes de *C. racemosa* e duas cultivares (Tupi IAC 1669-33 e IAPAR 59, sensível e tolerante à seca, respectivamente), submetidas a dois ambientes (controle irrigado = CI; sem irrigação = SI).

		Ambiente		
		CI	SI	Média
		Peso seco total (g)		
Genótipos	H0113-40-26-1	5.96	5.33	5.65 a
	H0113-40-26-9	6.01	5.32	5.66 a
	H0113-40-26-10	5.63	4.56	5.09 a
	Tupi IAC 1669-33	5.77	5.86	5.81 a
	IAPAR 59	5.40	4.29	4.85 a
	Média	5.75 A	5.07 B	
		Peso seco da parte aérea (g)		
Genótipos	H0113-40-26-1	4.16	3.52	3.84 a
	H0113-40-26-9	4.17	3.47	3.82 a
	H0113-40-26-10	3.95	3.04	3.50 ab
	Tupi IAC 1669-33	4.04	3.72	3.88 a
	IAPAR 59	3.53	2.89	3.21 b
	Média	3.97 A	3.33 B	
		Peso seco da folha (g)		
Genótipos	H0113-40-26-1	2.43	2.17	2.30 a
	H0113-40-26-9	2.48	2.06	2.27 a
	H0113-40-26-10	2.21	1.88	2.05 a
	Tupi IAC 1669-33	2.53	2.27	2.40 a
	IAPAR 59	1.94	1.97	1.95 a
	Média	2.32 A	2.07 B	
		Peso seco do caule (g)		
Genótipos	H0113-40-26-1	1.74 a A	1.35 ab B	1.54
	H0113-40-26-9	1.69 ab A	1.42 a B	1.56
	H0113-40-26-10	1.74 a A	1.16 b B	1.45
	Tupi IAC 1669-33	1.51 b A	1.45 a A	1.48
	IAPAR 59	1.60 ab A	0.92 c B	1.26
	Média	1.66	1.26	
		Peso seco da raiz (g)		
Genótipos	H0113-40-26-1	1.79	1.81	1.80 a
	H0113-40-26-9	1.85	1.84	1.84 a
	H0113-40-26-10	1.68	1.52	1.60 a
	Tupi IAC 1669-33	1.73	2.13	1.93 a
	IAPAR 59	1.87	1.40	1.63 a
	Média	1.78 A	1.74 A	
		Peso seco: relação raiz/parte aérea		
Genótipos	H0113-40-26-1	0.44	0.52	0.48 a
	H0113-40-26-9	0.45	0.54	0.49 a
	H0113-40-26-10	0.42	0.50	0.46 a
	Tupi IAC 1669-33	0.42	0.57	0.50 a
	IAPAR 59	0.52	0.48	0.50 a
	Média	0.45 B	0.52 A	

⁽¹⁾ O primeiro estresse iniciou em 4/12/2015 e terminou em 15/12/2015. Em seguida as plantas passaram por um período de recuperação de 15 dias, recebendo água normalmente. O segundo estresse teve início em 30/12/2015 e término em 09/01/2016. Os valores correspondem a média dos dois estresses. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade e teste F à 5% de probabilidade, respectivamente. **Fonte:** próprio autor.

Em relação à R/PA, diferença significativa só foi verificada entre os ambientes na média dos genótipos, onde maior R/PA foi registrado no ambiente sem irrigação (Tabelas 5.10 e 5.12).

O crescimento foi afetado pela seca. A área foliar e o diâmetro do caule reduziram com o déficit hídrico. No geral o peso seco não diferiu entre os experimentos controle e sem irrigação, porém, a maior R/PA em condições de seca pode indicar maior acúmulo de massa seca nas raízes em eventos de déficit hídrico.

6 DISCUSSÃO

Os parâmetros utilizados foram eficientes na distinção dos genótipos tolerantes e sensíveis, sendo que os genótipos com introgressão de genes de *C. racemosa* apresentaram tolerância à seca similar ou superior ao padrão tolerante IAPAR 59. A cultivar Tupi confirmou ser mais sensível à seca, sendo um bom padrão de comparação para os demais genótipos. Entre as variáveis testadas, *A/E*, *A/g_s*, CRA, IM e teor nutricional foram as melhores variáveis para diferenciar IAPAR 59 de Tupi.

Em clones de cafeeiros conilon foram necessários 6 a 12 dias para que mudas de aproximadamente 6 pares de folhas alcançassem potencial hídrico da folha de -3 MPa e ativassem mecanismos de tolerância à seca, expressando genes diferenciais entre clones tolerantes e sensíveis (MARRACCINI et al., 2012). Esses dados corroboram nosso estudo, demonstrando que os 11 e 10 dias de restrição de água a que as mudas foram submetidas no 1º e 2º estresses, respectivamente, foram suficientes para que os mecanismos de tolerância à seca fossem desencadeados. Em café, alterações na disponibilidade de água ainda que pequenas, afetam o conteúdo relativo de água das plantas, a condutância estomática e a eficiência no uso de água, culminando na diminuição da produtividade e qualidade de bebida (TESFAYE et al., 2013).

As análises de parâmetros fisiológicos demonstraram diminuição nas taxas de *A*, *E* e *g_s*, com a imposição do estresse hídrico (Tabela 5.2). A diminuição na fotossíntese líquida está relacionada com a menor condutância estomática, que conseqüentemente diminuiu a transpiração, no entanto, limitações não estomáticas também podem ocorrer (AYUB et al., 2011). Esse tipo de resposta em condições de seca reflete em menor desidratação. No entanto, a fotossíntese fica comprometida, devido ao menor fluxo de carbono para a câmara subestomática (ANJUM et al., 2011; ARAÚJO et al., 2016).

Além de ser responsável pela assimilação de carbono, a fotossíntese também determina a distribuição e partição do mesmo dentro da planta. Em condições normais o carbono assimilado na fotossíntese é rapidamente respirado e convertido a amido ou transcolado para órgãos dreno na forma de sacarose. Plantas estressadas por seca, no entanto, redirecionam todo carbono assimilado para processos de manutenção (BARTHEL et al., 2011). Genótipos tolerantes à seca são mais eficientes em manter a taxa de fotossíntese líquida e outros processos associados a ela durante o estresse hídrico, reduzindo a perda de água pela transpiração (D'SOUZA et al., 2002).

Foi constatado que a suspensão da irrigação provoca queda acentuada na condutância estomática em cafeeiros, sendo eles tolerantes ou não (MARRACCINI et al., 2012). Em plantas de café arábica, por exemplo, a seca limitou a taxa fotossintética através de limitações estomáticas sem, no entanto, apresentar sinais de fotoinibição aparente. Isso, em parte, estaria relacionado com o ajuste osmótico, elasticidade tecidual reduzida e melhoria na eficiência do uso da água a longo prazo (CAVATTE et al., 2012). Em genótipos que são tolerantes à seca, os valores de A , g_s e E , e A/E são menos afetadas que em genótipos sensíveis. Isso ocorre, provavelmente, porque genótipos suscetíveis apresentam valores muito baixos de A sob déficit hídrico, devido à limitação na condutância do mesofilo, o que, associado com um alto valor de E , resulta na menor A/E (MAGALHÃES et al., 2015).

Além da A/E , a relação A/g_s dá uma estimativa da eficiência intrínseca do uso da água. Este parâmetro permitiu a discriminação de plantas de feijão que mantiveram assimilação de CO_2 em condição de baixa abertura estomática, quando submetidas ao déficit hídrico (FRANÇA et al., 2000). Resultados semelhantes foram encontrados em nosso estudo, que permitiram diferenciar a cultivar Tupi de H0113-40-26-10 e IAPAR 59. Por outro lado, em um estudo com plantas de feijão ocorreu redução da taxa fotossintética, a qual foi atribuída, entre outras causas, ao fechamento estomático e, conseqüentemente, a restrição da entrada de CO_2 no mesofilo foliar (FRANÇA et al., 2000).

No geral, em nosso estudo, a cultivar Tupi foi mais afetada pelo estresse hídrico para os parâmetros fisiológicos (Tabela 5.2), apresentando a menor A , menor A/E , menor A/g_s , menor k , além do menor CRA. Segundo Singh et al. (2013) o potencial de água nas folhas é diminuído em condições de déficit hídrico, no entanto, genótipos tolerantes são menos afetados. Esses dados podem ser relacionados com a menor A observada em Tupi.

Em condições de déficit hídrico A/E foi melhorada em todos os genótipos, com exceção de Tupi, que teve os valores de A/E reduzidos. H0113-40-26-10 e IAPAR 59 apresentaram os maiores valores, 6,04 e 5,73, respectivamente (Tabela 5.2). A A/g_s também foi superior em H0113-40-26-10 e IAPAR 59, enquanto que Tupi teve a menor A/g_s . Isso pode ser explicado, em partes, pela maior eficiência na assimilação de carbono desses dois genótipos, pois foi observado menor C_i no ambiente sem irrigação do que no controle irrigado. Para Tupi o C_i no ambiente sem irrigação não diferiu do ambiente controle e, além disso, essa cultivar apresentou o maior C_i e foi a única que teve C_i maior que H0113-40-26-10 (Tabela 5.2). Esse último foi o único genótipo que diferiu de Tupi, indicando que apresentou a maior eficiência na assimilação de carbono, evidenciado pelo maior valor de k em relação aos demais (Tabela 5.2).

Apesar de não diferir estatisticamente de todos os genótipos, em média, os maiores valores de A/E foram verificados em H0113-40-26-10. Quando uma planta de determinada espécie é submetida ao déficit hídrico severo e seu potencial de água cai abaixo do limiar de tolerância, a capacidade fotossintética diminui. Isso pode ser percebido pelo aumento do C_i (BRODRIBB, 1996). No entanto, a diminuição na atividade inicial da Rubisco e na sua ativação correlacionou-se melhor com alterações na g_s , do que com alterações no CRA. Uma vez que um efeito direto da condutância estomática na Rubisco é improvável, sugere-se que o efeito é mediado pela diminuição da disponibilidade de CO_2 induzida pela menor condutância estomática e mesofílica, e não pelo aumento da desidratação foliar (GALMÉS et al., 2011). Nesse caso, com exceção da cultivar Tupi, o valor de C_i , no geral, foi menor no ambiente sem irrigação, o que pode ser explicado pela menor g_s , uma vez que houve queda na taxa de A . Por outro lado, o maior valor de C_i e menor A verificado em Tupi, podem estar relacionados a danos na RuBisCo ou outras proteínas do ciclo de Calvin no fotossistema II, o que permitiu o acúmulo de carbono no mesofilo foliar, já que k foi mais afetada nessa cultivar em relação as demais, principalmente em relação à H0113-40-26-10.

O CRA é considerado uma medida do status da água na planta, refletindo a atividade metabólica nos tecidos e utilizado como um dos índices mais significativos para se avaliar a tolerância à desidratação (ANJUM et al., 2011). A tolerância à seca pode ser melhorada, com aumento na A/E e CRA, além de diminuição da E e g_s (WU et al., 2014).

Nesse estudo, foi E e g_s em todos os genótipos e considerável aumento na A/E e A/g_s . O CRA, no entanto, foi reduzido em todos os genótipos no ambiente sem irrigação, comparado com o controle, porém, a maior redução foi registrada em Tupi, principalmente quando comparado com H0113-40-26-10 e IAPAR 59 (Tabela 5.2). Esse é um indicativo de melhor capacidade de aclimatação de H0113-40-26-10 em condições de seca. Corroborando nossos resultados, a tolerância à seca na cultivar Siriema foi principalmente relacionada à maior eficiência no uso da água em relação a cultivar sensível Catucaí 785-15 (DIAS et al., 2007).

As relações hídricas são fortemente afetadas pela seca. Os parâmetros frequentemente utilizados na quantificação dessas alterações estão relacionados a características intrínsecas à planta, como E , g_s , CRA, A/E , entre outros (ANJUM et al., 2011; ARAÚJO et al., 2016; FRANÇA et al., 2000; WU et al., 2014). Cafeeiros parecem ter como principal mecanismo de tolerância à seca a manutenção de um alto CRA. Esse comportamento estaria relacionado à eficiência no fechamento estomático, com concomitante diminuição da transpiração e aumento na A/E (DaMATTA, et al., 1993; MELKE; FETENE,

2014). Uma das características necessárias para que o cafeeiro produza em locais onde ocorre déficit hídrico, é a capacidade de manter suas folhas túrgidas (MAZZAFERA; CARVALHO, 1987). Nós optamos, nesse estudo, em incluir a intensidade de murcha foliar como um parâmetro adicional, para facilitar e auxiliar a visualização dos danos causados pela seca.

Em tese, a murcha seria uma expressão visual externa das condições hídricas internas da planta e estaria intimamente ligada ao ajuste osmótico. O ajuste osmótico desempenha um papel importante na manutenção da turgescência celular e na capacidade de crescimento com menor potencial de água na folha (WANG et al., 2016). Por exemplo, o ajuste osmótico pode ser percebido com a diminuição do potencial osmótico ao amanhecer quando plantas são submetidas às condições de seca (FRANCO 2009). Sintomas típicos de falta de água, como a murcha foliar, não são tão facilmente visualizados em cafeeiros, no entanto, pequenas diminuições na oferta de água podem reduzir substancialmente seu crescimento (SILVA; MAZZAFERA, 2008), além de provocar injúrias e causar alterações nos processos biológicos e fisiológicos, (CHESEREK; GICHIMU, 2012). Nesse caso, quando a planta apresenta sintomas de murcha o grau de danos estaria já em estágio avançado.

Em nosso estudo, os resultados das avaliações da condição hídrica através da IM, mostraram que H0113-40-26-10 murchou menos que Tupi. IAPAR 59 e os outros dois genótipos com genes de *C. racemosa*, no geral, tiveram uma resposta intermediária para murcha (Tabela 5.3). Esses resultados de IM estão de acordo com os observados para os demais dados relacionados aos parâmetros fisiológicos. Cafeeiros adultos da série BA, introduzidos da Índia e portadores de genes de *Coffea liberica*, mostraram menor murcha de folhas do que cultivares tradicionais de *C. arabica* (MAZZAFERA; CARVALHO, 1987). Em outro estudo com mudas de café, foi verificado que um genótipo de *C. arabica* portador de genes de *C. racemosa* foi o que murchou menos, seguido de *C. arabica* da Etiópia E368, ‘IPR 100’ (portador de genes de *C. liberica*) e ‘IPR 103’ (portador de genes de *C. canephora*), enquanto que em outras cultivares de *C. arabica* tradicionais como Catuaí Vermelho IAC 99 o IM foi maior (CARVALHO et al, 2017). Em estudos realizados em plantas de pinus (*Pinus pinea* L.), o potencial osmótico no turgor total e o potencial osmótico no ponto de perda de turgescência diminuíram em plântulas estressadas pela seca. Isso indica que elas têm maior capacidade de manter o turgor em potenciais de água mais baixos (DELIGOZ; GUR, 2015). Podemos considerar que, a murcha foi importante parâmetro para auxiliar na diferenciação de genótipos tolerantes e sensíveis em nosso estudo.

Os parâmetros bioquímicos demonstraram aumento no conteúdo de AR e AT, com a imposição do estresse (Tabela 5.5). O aumento na síntese de açúcares solúveis é

uma resposta comum ao estresse hídrico (BRUM et al., 2013; LIN et al., 2014; DURAND et al., 2016). Em *Arabidopsis thaliana*, por exemplo, houve aumento de 268% no teor de AT na parte aérea, em relação ao controle, com a restrição da irrigação (DURAND et al., 2016). Parte desse aumento se dá pela hidrólise de moléculas de amido. Devido a diminuição da taxa fotossintética a um nível limiar, o amido é quebrado principalmente na forma de AR (BASU et al., 2007).

O aumento da concentração de açúcares está relacionado ao ajuste osmótico, como forma de proteção celular (ARAÚJO et al., 2016). Os carboidratos que não são incorporados na parede celular diminuem o potencial osmótico celular, mantendo assim a água na célula e a pressão de turgescência adequada, resultando em bom funcionamento do aparato fotossintético (HURA et al., 2012).

Açúcares solúveis totais aumentaram em folhas de mudas de *C. arabica* cv. Siriema, como resposta ao aumento do estresse hídrico, sendo os valores máximos obtidos por volta dos 24 e 27 dias após o início do estresse, coincidentemente, o mesmo período no qual foi verificado o menor potencial de água. Da mesma forma, o teor de AR aumentou em condições de seca, tanto nas folhas, como nas raízes (BRUM et al. 2013).

Os açúcares podem atuar também, tanto como osmoprotetores e estabilizadores da parede celular, como moléculas antioxidantes, como verificado com o galactinol e a rafinose em *Arabidopsis thaliana* (NISHIZAWA et al., 2008). Em nosso estudo, considerando a média de todos genótipos, ocorreu maiores teores de AR e AT em condições de seca, sendo maiores no genótipo H0113-40-26-9 e nos genótipos H0113-40-26-9 e H0113-40-26-10, respectivamente (Tabela 5.5). A sacarose, aparentemente, está mais relacionada com a tolerância à seca do que AR e AT, pois H0113-40-26-10 apresentou o maior teor de sacarose e diferiu de Tupi, enquanto que AR e AT aumentaram em Tupi, da mesma forma que nos demais genótipos (Tabela 5.5).

É bem relatado que estresses abióticos como seca, calor, frio, salinidade, entre outros provocam aumento no teor de prolina em plantas (DAWOOD et al., 2014; FAHRAMAND et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014; SAMPATHKUMAR et al., 2014; TESFAYE et al., 2014), inclusive aquelas submetidas ao estresse hídrico (KHAN et al., 2013; RANGANAYAKULU, CHINTA; SIVAKUMAR, 2015). As principais funções desse aminoácido estariam relacionadas ao ajuste osmótico (DELAUNEY; VERMA, 1993). O acúmulo de prolina induzido pela seca mantém a pressão de turgor, reduzindo a sensibilidade das células à dessecação (RAI; SINGH; SHAH et al., 2012).

Em nosso estudo, porém, só foi verificado aumento significativo nos teores de prolina no primeiro estresse. No segundo estresse houve redução acentuada e os valores foram inferiores ao controle (Tabela 5.5). Não foi possível uma explicação consistente para tal comportamento, no entanto, ao que parece, a prolina, nesse caso, não teve participação consistente na resposta de tolerância à seca. É possível que o café utilize outras moléculas no ajuste osmótico como açúcares e manitol, porém necessitam ser mais bem estudadas. DaMatta et al. (1993) verificaram que uma pequena perda de água pode causar mudanças no turgor das células de modo que as folhas apresentam um alto CRA e um alto volume simplasto. Assim, parece que sob déficit hídrico a manutenção de um CRA elevado é mais importante do que o ajuste osmótico em si, para conferir tolerância à seca à planta de café. Isso poderia explicar porque não houve aumento no acúmulo de prolina no segundo estresse, uma vez que ela está fortemente relacionada ao ajuste osmótico (DELAUNEY; VERMA, 1993).

O nitrogênio é um dos principais macronutrientes, componente de importantes moléculas orgânicas como proteínas e aminoácidos e, por isso, requerido em grande quantidade pelas plantas (BARKER; BRYSON, 2006). O suprimento adequado de nitrogênio pode amenizar os efeitos da seca em algumas espécies de plantas (SILVA et al., 2011). Maior nutrição nitrogenada contribuiu para a tolerância à seca em trigo, mantendo maiores atividades fotossintéticas e melhorando o sistema de defesa antioxidante durante os períodos de crescimento vegetativo (ABID et al., 2016).

Foi verificado que as concentrações foliares de N e P foram consistentemente mais baixas nas folhas submetidas à seca, independentemente do crescimento (AYUB et al., 2011). Dados de metanálises mostraram que a seca provoca diminuição na absorção de N e P e, conseqüentemente, no crescimento das plantas, de modo que as concentrações na matéria seca diminuem com o déficit hídrico (HE; DIJKSTRA, 2014). No nosso estudo, não foram verificadas diferenças no teor de N entre os ambientes controle e sem irrigação, com exceção do IAPAR 59 em que houve aumento (Tabela 5.7). Considerando, somente o ambiente sem irrigação, foram verificadas diferenças entre genótipos indicando que os genótipos com genes de *C. racemosa* e IAPAR 59 apresentaram maiores teores de N e VRN do que a testemunha sensível Tupi (Tabela 5.9).

A adição de N melhorou o CRA de *Coffea canephora* em condições déficit hídrico, embora o potencial de água não tenha sido alterado significativamente. Também foi verificado melhoria no ajuste osmótico (DaMATTA et al., 2002). Em nosso estudo foi observado menor CRA em Tupi que teve menor acúmulo de N em condições de déficit

hídrico. O nitrogênio também estaria relacionado à melhoria na absorção de K e Ca em condições de seca, por promover a manutenção do turgor, reduzindo assim danos celulares (SANEOKA et al., 2004). Os genótipos H0113-40-26-1, H0113-40-26-9 e H0113-40-26-10, apresentaram aumento nas concentrações de K e Ca em condições de seca, em relação ao controle, esses genótipos também apresentaram maior *A/E* e *CRA*. O inverso, porém, ocorreu com Tupi, que teve seus conteúdos de K e Ca diminuídos com a imposição do estresse e os mais baixos valores *A/E* e *CRA* (Tabelas 5.7 e 5.2, respectivamente).

O fósforo é um elemento importante nos processos de armazenamento e transferência de energia em reações bioquímicas, como a fotofosforilação e a fosforilação oxidativa, além de ser um componente estrutural de fosfolipídios, ácidos nucleicos, nucleotídeos, coenzimas e fosfoproteínas (SANCHES, 2006). Estudos com diferentes espécies tem demonstrado que a adição de fósforo atenua o efeito negativo causado pela seca (SILVA et al., 2011).

Em nosso estudo ocorreram maiores concentrações de P com a imposição do estresse por seca em todos genótipos, com exceção de Tupi que teve redução. Os maiores valores de VRP foram vistos nos genótipos com genes de *C. racemosa*, os quais diferiram de Tupi, indicando que a tolerância à seca pode estar relacionada com o aumento de P. Redução nas pirofosfatases inorgânicas solúveis de plastídios, levaram à menor tolerância à seca em *Nicotiana benthamiana*, que foi relacionada à incapacidade em sintetizar quantidade suficiente de ácido abscísico (ABA), o que levou a ineficiência no fechamento estomático (GEORGE et al., 2010). Nós não verificamos deficiência no fechamento estomático, porém, a cultivar Tupi apresentou baixos valores no *A/E* e na *A/g_s*, provocada, provavelmente, pela baixa A. Pode ser que a menor absorção de P em Tupi possa ter comprometido a síntese de moléculas de ATP.

O estado nutricional da planta está intimamente ligado à sua capacidade de tolerar o estresse hídrico (ASLAM et al., 2013). O potássio tem sido referenciado como o principal elemento associado a tolerância à seca em plantas, sendo intimamente relacionado ao ajuste osmótico (ASLAM et al., 2013; EL-GENDY et al., 2012; FAROOQ et al., 2009; MENGEL, 2007). Outra importante função de K estaria relacionada ao controle da abertura estomática. A abertura e fechamento dos canais de potássio estão intimamente ligados a atividade das células guarda que, por sua vez, estão relacionadas a interceptação da luz azul, que governa a abertura estomática (MENGEL, 2007). Em nosso estudo, a abertura estomática foi fortemente reduzida em todos os genótipos, demonstrando que, apesar de ter havido redução no teor de K em Tupi, esse não foi suficiente para afetar a condutância estomática.

Concentrações aumentadas de Ca foram supostamente relatadas como atenuador do estresse hídrico, atuando como sinalizador secundário para o ácido abscísico sobre o controle estomático. Da mesma forma, o Ca poderia atuar no ajustamento osmótico e melhoria do conteúdo relativo de água por ser importante para manutenção da integridade da parede celular (FIOREZE et al., 2013). Uma outra função do Ca seria o aumento da expressão de genes sensíveis ao estresse, incluindo os que codificam proteínas de função protetora (KNIGHT; TREWAVAS; KNIGHT, 1996; 1997).

Em nosso estudo, os teores de Ca aumentaram ou mantiveram nos genótipos com genes de *C. racemosa*, indicando a possibilidade de maior eficiência no ajuste osmótico nesses genótipos, já que eles apresentaram, de forma geral, maior equilíbrio nas relações hídricas, junto com IAPAR 59. No entanto, IAPAR 59 teve conteúdo de Ca diminuído, similarmente à cultivar Tupi. Supõe-se, dessa forma, que o mecanismo de regulação osmótica encontrada em IAPAR 59, não teria contribuição direta do Ca.

A capacidade de manter elevados teores de Mg na biomassa, em condições de seca, é importante para suprir as necessidades relacionadas ao crescimento e desenvolvimento, além de evitar que o metabolismo seja afetado, permitindo assim às plantas aproveitar os períodos de reidratação (SARDANS; PEÑUELAS; OGAYA, 2008). A principal função do magnésio é o seu papel como o átomo central das moléculas de clorofila, mas o magnésio também está envolvido na conservação e conversão de energia (AMTMANN e BLATT, 2009).

Nesse caso, os teores de Mg seguiram o mesmo comportamento verificado para o Cálcio, aumentando nos genótipos com genes de *C. racemosa*, nas condições de seca, com comportamento inverso para Tupi e IAPAR 59. A deficiência de Mg afeta a estrutura dos grana dos tilacóides, comprometendo assim a eficiência das reações luminosas e, por conseguinte, a fotossíntese (CEPPI et al., 2012). Isso, supostamente, pode ter contribuído para as baixas taxas de A na cultivar Tupi, em condições de seca, em relação aos demais genótipos.

O aumento das concentrações de Mg foliar devido ao estresse hídrico encontrado nos genótipos H0113-40-26-1, H0113-40-26-9 e H0113-40-26-10, pode ter amenizado os efeitos negativos que a seca causa na fotossíntese, o que não foi visto em Tupi. IAPAR 59, no entanto, teve a fotossíntese similar aos genótipos com genes de *C. racemosa*, mesmo com baixo teor de Mg, supondo que a diminuição do Mg não afetou o aparato fotossintético nessa cultivar, como afetou em Tupi.

Nós verificamos que o teor de Cu se manteve no ambiente sem irrigação em comparação com o irrigado, com exceção de IAPAR 59 que diminuiu. Entretanto, Zn e B

seguiram um padrão similar ao que ocorreu para K, Ca e Mg (Tabelas 5.7 e 5.8), em que os genótipos com introgressão de genes de *C. racemosa* apresentaram teores maiores ou similares ao controle quando submetidas ao déficit hídrico, enquanto que para as cultivares Tupi e IAPAR 59 ocorreu diminuição desses micronutrientes com a imposição do estresse.

O Cu é elemento estrutural de muitas proteínas, além de estar envolvido em diversos processos fisiológicos das plantas, atuando na cadeia de transporte de elétrons, na respiração mitocondrial, nas respostas ao estresse oxidativo, no metabolismo da parede celular e na sinalização hormonal (YRUELA, 2005). O aumento na síntese de uma proteína relacionada ao complexo citocromo P450 aumentou a tolerância à seca em arroz. Por detrás desses resultados, foi verificado aumento de cerca de 100% no conteúdo de cobre nas plantas transgênicas e redução de 39,5% no tipo selvagem (NAM et al., 2014). Isso demonstra que esse elemento poderia ter estreita relação com a taxa fotossintética. Essa hipótese corrobora os resultados obtidos em nosso estudo, uma vez que as maiores taxas fotossintéticas foram verificadas nos três genótipos com genes de *C. racemosa* que tiveram as maiores VRCu. Esses resultados sugerem que o Cu foi importante na manutenção de A desses três genótipos.

O Zinco atua como cofator de um grande número de enzimas, além de fazer parte de outras tantas, como a Cu-Zn superóxido-dismutase e a RNA polimerase (BROADLEY et al., 2007). Aumento do teor fenólico, com diminuição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e da peroxidação lipídica e alterações nas atividades de enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX), polifenol peroxidase (PPO), glutathione redutase (GR) e a ascorbato peroxidase (APX), com concomitante aumento da absorção de Zn na folha, sugerem que o Zn possa ser um modulador de danos bioquímicos mediados pela seca em plantas (UPADHYAYA; DUTTA; PANDA, 2013). Além disso, a adição de Zn aumentou o rendimento de grãos de milho e seus componentes em diferentes níveis de estresse hídrico, incluindo o tratamento controle e pode aliviar parcialmente os efeitos desfavoráveis do estresse causado pela seca no crescimento e desenvolvimento das plantas (SAJEDI et al., 2010).

Em nosso estudo, foi verificado aumento nos teores de Zn dos genótipos H0113-40-26-1, H0113-40-26-9 e manutenção em H0113-40-26-10. Além disso, os maiores VRZn foram nesses genótipos. Assim, pode ser que o aumento de Zn esteja relacionado com a diminuição de danos causados pela seca nesses genótipos. No entanto, não podemos afirmar qual a forma de atuação do Zn, por exemplo, como cofator de enzimas, atenuando o estresse oxidativo ou diretamente como componente estrutural. Por outro lado, a tolerância à seca em

IAPAR 59 não parece estar relacionada com o Zn, pois essa apresentou menor teor desse nutriente no ambiente estressado e VRZn igual ao de Tupi.

O boro, em conjunto com o cálcio, está relacionado com a formação das paredes celulares (GOLDBACH; WIMMER, 2007), o que poderia refletir no ajuste osmótico, pois aumenta a rigidez da parede minimizando danos e desidratação. Os maiores teores desses elementos podem ter contribuído para melhoria das relações hídricas nos genótipos H0113-40-26-1, H0113-40-26-9 e H0113-40-26-10. Da mesma forma, maior concentração de B em condições de seca, pode ter favorecido aumento de enzimas antioxidantes como a peroxidase. Outra função seria na síntese de proteínas, e/ou inibição de atividades proteolíticas, que são processos importantes na manutenção das atividades celulares em condições de estresse (HASSAN et al., 2011). Por outro lado, a redução do teor de B em Tupi pode ter provocado maior limitação na A, provavelmente devido aos sérios danos causados no fotossistema II, em condições de seca (HAJIBOLAND; FARHANGHI, 2011). Em IAPAR 59 a tolerância à seca não deve estar relacionada com o B, pois essa apresentou menor teor desse nutriente no ambiente estressado e o menor VRB.

O baixo suprimento de B também reduz fortemente o potencial de água da folha (HAJIBOLAND; FARHANGHI, 2011). Então, a diminuição no teor de B em Tupi, pode ter contribuído para menor A/E , A/g_s e CRA dessa cultivar. Além disso, a deficiência de B em condições de estresse hídrico, pode provocar a redução na concentração de P, Ca e Mg, como verificado em mudas de *Picea abies* (MÖTTÖNEN et al., 2005). Também verificamos na cultivar Tupi a diminuição nos teores desses três nutrientes em condições de estresse hídrico, porém, não é possível afirmar que isso tenha relação direta com a diminuição no teor de B.

Em condições de déficit hídrico, para os cafeeiros com introgressão de genes de *C. racemosa* e para IAPAR 59, os teores de macronutrientes foram iguais ou superiores aos verificados no experimento controle, o que não ocorreu com Tupi, indicando que esses elementos são importantes para lidar com o estresse por seca. Da mesma forma, os micronutrientes mostraram importante papel na tolerância à seca em cafeeiros com introgressão de genes de *C. racemosa*, já que apresentaram relação com o desempenho verificado nesses genótipos para a maioria dos parâmetros estudados como fotossíntese, parâmetros ligados às relações hídricas, acúmulo de carboidratos e, por conseguinte, no ajuste osmótico. No entanto, a tolerância à seca confirmada aqui em IAPAR 59, não parece estar relacionada com o maior teor de micronutrientes, o que poderia supor mecanismos diferenciados de tolerância à seca dessa cultivar em relação às demais.

Parâmetros de crescimento são comumente utilizados para avaliar o efeito causado pelo estresse hídrico em plantas. O déficit hídrico reduz a área foliar, o volume radicial e a biomassa em geral (ANJUM et al., 2011; DURAND et al., 2016), afeta os pigmentos fotossintéticos e reduz a trocas gasosas, culminando na redução do crescimento (ANJUM et al., 2011). No caso da área foliar, pode ocorrer diminuição na expansão das folhas e/ou abscisão precoce das mesmas. Apesar de afetar a planta como um todo, o impacto do déficit hídrico parece ser maior em folhas que nas raízes (DURAND et al., 2016).

Embora o café seja uma planta perene e de crescimento relativamente lento, o curto período de duração do experimento afetou significativamente o crescimento das mudas. Em nosso estudo a imposição dos estresses causou redução na área foliar final em relação a inicial (Tabela 5.11).

Plantas de café arábica tendem a manter a fotossíntese constante nos estágios iniciais de déficit hídrico, porém, com o decorrer do estresse, provocam abscisão das folhas e diminuem a taxa de crescimento da área foliar. As raízes parecem ser menos afetadas, porém, a mensuração dos danos e da influência das mesmas na resposta ao déficit hídrico são dificultados, uma vez que possuem herança complexa e sofrem grande efeito do ambiente (MELKE; FETENE, 2014).

Da mesma forma, para as demais variáveis estudadas, a imposição dos períodos de estresse provocou redução no crescimento, porém, em algumas delas essas diferenças não foram significativas. O genótipo H0113-40-26-10 foi o que apresentou menor VCRAP e maior VCRDC (Tabela 5.11). É importante ressaltar que o DC e a relação DC/AP são frequentemente utilizados como padrões de vigor em plantas. Em nosso estudo ficou evidenciado manutenção na taxa de crescimento desses dois parâmetros apenas no genótipo H0113-40-26-10. Tupi, inclusive, foi o único com redução no DC final em relação ao inicial demonstrado pelo menor VA(DC/AP) (Tabela 5.11), provavelmente devido a menor turgescência celular. Além disso, a Δ VCRAF em H0113-40-26-10 foi maior que em (Tabela 5.11). Portanto, H0113-40-26-10 teve maior capacidade de lidar com o déficit hídrico mantendo as condições de crescimento da parte aérea equilibrada.

Maiores valores na R/PA foram verificados nas plantas submetidas à seca, considerando a média de todos os genótipos. Geralmente, quando a disponibilidade de água é limitada, a R/PA nas plantas aumenta, porque as raízes são menos sensíveis do que a parte aérea à inibição do crescimento em baixo potencial hídrico (WU; COSGROVE, 2000). Em *Arabidopsis thaliana* a redução da parte aérea devido ao estresse hídrico, foi positivamente correlacionada com a alocação de C para as raízes (DURAND et al., 2016). A maior R/PA

verificada em nosso estudo, supostamente estaria relacionada à redução na área foliar por uma possível abscisão das folhas. Em algodão, o decréscimo no CRA do solo, retardou o crescimento em bases de biomassa e área foliar, enquanto que a relação R/PA foi aumentada, demonstrando que houve maior alocação de biomassa para as raízes em relação à parte aérea (WANG et al., 2016).

Clones de café da espécie *C. canephora*, tolerantes à seca, quando submetidos ao estresse hídrico, demonstraram aumento na biomassa total, além de maior aprofundamento do sistema radicular, quando comparados aos clones sensíveis (PINHEIRO et al., 2005). No nosso estudo, não foram observadas diferenças no PSR no ambiente controle comparado com o sem irrigação (Tabela 5.12) porque existia uma limitação de crescimento do volume radicular imposto pelo tubete. O PST, PSPA e PSC, no geral, diminuíram nos genótipos mais tolerantes e se manteve em Tupi no ambiente sem irrigação. O PSF se manteve no ambiente sem irrigação e não houve diferenças entre os genótipos (Tabela 5.12). Assim é possível inferir que no nosso estudo os parâmetros de crescimento não foram úteis para separar genótipos tolerantes de sensíveis, devido à limitação do crescimento radicular das mudas e ao curto período de duração do estresse.

6.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ORIGEM GENÉTICA

Apesar de ter origem em regiões tropicais úmidas e ter sido estabelecida em condições de sub-bosque, o café é uma espécie que tem se adaptado a uma ampla gama de ambientes pelo mundo, sendo, inclusive, cultivada à pleno sol na grande maioria dos países produtores. No Brasil, por exemplo, *C. arabica* tem sido cultivada desde as regiões mais chuvosas, com temperaturas amenas e ocorrência de geadas do norte do Paraná, até o árido e quente cerrado baiano, inclusive nessas regiões tem se verificado grande expansão e grandes investimentos. Porém, em condições de escassez de água, se faz necessário a implantação de sistemas de irrigação, seja por gotejamento ou pivôs. Entretanto, a maioria do café cultivado no Brasil é no sequeiro, sendo somente 10% de cafeicultura irrigada, conforme Santinato et al. (2008). Por essa razão, o desenvolvimento de cultivares mais tolerantes a condições de déficit hídrico, tem ganhado importante destaque nos programas de melhoramento genético do cafeeiro.

O que se tem verificado é que algumas espécies de *Coffea* apresentam maior tolerância à seca do que *C. arabica*, e podem ser utilizados em programas de melhoramento. *Coffea racemosa*, por exemplo, originária de regiões de Moçambique sujeitas

a consideráveis períodos de estiagem, tem boa adaptação à seca. Essa espécie apresenta abscisão foliar em anos de prolongada estiagem como uma forma de evitar a perda de água por transpiração. Sugere-se que a tolerância à seca encontrada nessa espécie é condicionada por genes dominantes. Cafeeiros arábicos com genes de *C. racemosa*, denominados C1195-5-6-1 e C1195-5-6-2, foram tolerantes à seca (MEDINA-FILHO; CARVALHO; MEDINA, 1977), demonstrando que a seleção para essa característica é possível.

Da mesma forma, mudas com aproximadamente seis pares de folhas da cultivar Siriema, que também é um *C. arabica* com genes de *C. racemosa*, sobreviveram durante 30 dias ao estresse hídrico. Porém, essas plantas só foram capazes de recuperar seu potencial de água quando a reidratação foi realizada até o 24º dia após o início do estresse (BRUM et al. 2013). No nosso estudo as linhagens H0113-40-26-1, H0113-40-26-9 e H0113-40-26-10 derivadas de C1195-5-6-2 apresentaram tolerância à seca similar ou maior que o padrão tolerante IAPAR 59, sendo a provável fonte de tolerância a espécie *C. racemosa*.

As cultivares IAPAR 59 e Tupi IAC 1669-33 são do germoplasma Sarchimor e tiveram origem do mesmo cruzamento entre Villa Sarchi CIFC 971/10 e Híbrido de Timor CIFC 832/2, porém de plantas F₂ diferentes. Híbrido de Timor foi originado de um cruzamento natural entre *C. arabica* e *C. canephora*, o qual foi novamente retrocruzado naturalmente com *C. arabica*. Apesar da origem semelhante, nesse estudo, IAPAR 59 apresentou tolerância à seca bem superior à Tupi, confirmando nossas prerrogativas de que Tupi é sensível à seca. Outro estudo também relatou que IAPAR 59, considerada tolerante à seca, revelou novos genes candidatos apresentando expressão diferencial entre essa cultivar e Rubi, considerada sensível à seca. Em condições de déficit hídrico, IAPAR 59 apresentou superexpressão de genes relacionados ao desenvolvimento da planta, à quinase, à metiltransferase e à biossíntese de ABA, além de genes que codificam para proteínas de transferência de lipídeos, o que não ocorreu na cultivar Rubi (MOFATTO et al., 2016).

7 CONCLUSÕES

Os parâmetros estudados mostraram diferenças entre os genótipos tolerantes e sensíveis em mudas de café.

A intensidade de murcha se mostrou um bom parâmetro na avaliação de tolerância à seca.

As variáveis A , A/E , A/g_s , k , CRA , IM , açúcares solúveis e os níveis de macro e micronutrientes nos tecidos foram os melhores parâmetros para diferenciar genótipos tolerantes e sensíveis.

Prolina e massa seca não foram bons parâmetros para identificar diferenças entre genótipos tolerantes e sensíveis.

O genótipo H0113-40-26-10 foi mais eficiente em lidar com a falta de água, apresentando o melhor comportamento geral na maioria das variáveis avaliadas, sendo mais tolerante que IAPAR 59.

Os genótipos H0113-40-26-1 e H0113-40-26-9 tiveram comportamento médio similar a IAPAR 59 e podem ser considerados tolerantes à seca.

REFERÊNCIAS

- ABENAVOLI, M. R.; LEONE, M.; SUNSERI, F.; BACCHI, M.; SORGONÀ, A. Root phenotyping for drought tolerance in bean landraces from Calabria (Italy). **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 202, p. 1-12, 2016.
- ABID, M.; TIAN, Z.; ATA-UL-KARIM, S. T.; CUI, Y.; LIU, Y.; ZAHOOR, R.; JIANG, D.; DAI, T. Nitrogen nutrition improves the potential of wheat (*Triticum aestivum* L.) to alleviate the effects of drought stress during vegetative growth periods. **Frontiers in Plant Science**. v. 7, p. 1-14, 2016.
- AMTMANN, A.; BLATT, M. R. Regulation of macronutrient transport. **New Phytologist**, v. 181, p. 35-52. 2009.
- ANDRADE, E. R.; RIBEIRO, V. N.; AZEVEDO, C. V. G.; CHIORATO, A. F.; WILLIAMS, T. C. R.; CARBONELL, S. A. M. Biochemical indicators of drought tolerance in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, v. 210, p. 277-289, 2016.
- ANJUM, S. A.; XIE, X.; WANG, L.; SALEEM, M. F.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, p. 2026-2032, 2011.
- ANTUNES, W. C.; POMPELLI, M. F.; CARRETERO, D.M.; DaMATTa, F. M. Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*), **Annals of Applied Biology**, v. 153, p. 33-40, 2008.
- ARAÚJO, M.; SANTOS, C.; COSTA, M.; MOUTINHO-PEREIRA, J.; CORREIA, C.; DIAS, M. C. Plasticity of young *Moringa oleifera* L. plants to face water deficit and UVB radiation challenges, **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 162, p. 278-285, 2016.
- ASLAM, M.; ZAMIR, M.S.I.; AFZAL, I.; YASEEN, M.; MUBEEN, M.; SHOAIB, A. Drought stress, its effect on maize production and development of drought tolerance through potassium application. **Cercetări Agronomice în Moldova**, Moldova, v. 46, p. 99-114, 2013.
- AYUB, G.; SMITH, R. A.; TISSUE, D. T.; ATKIN, O. K. Impacts of drought on leaf respiration in darkness and light in *Eucalyptus saligna* exposed to industrial-age atmospheric CO₂ and growth temperature. **New Phytologist**, v. 190, p. 1003-1018, 2011.
- BARKER, A. V.; BRYSON, G. M. Nitrogen. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. **Handbook of Plant Nutrition** (1st Edn). New York: CRC Press, 2006. p. 21-50.
- BARTHEL, M.; HAMMERLE, A.; STURM, P.; BAUR, T.; GENTSCH, L.; KNOHL, A. The diel imprint of leaf metabolism on the $\delta^{13}\text{C}$ signal of soil respiration under control and drought conditions. **New Phytologist**, v. 192, p. 925-938, 2011.
- BASU, P. S.; BERGER, J. D.; TURNER, N. C.; CHATURVEDI, S. K.; ALI, M.; SIDDIQUE, K. H. M. Osmotic adjustment of chickpea (*Cicer arietinum*) is not associated with changes in carbohydrate composition or leaf gas exchange under drought. **Annals of Applied Biology**, v. 150, p. 217-225, 2007.

BISHT, K. Growth of *Quercus leucotrichophora* A. camus and *Pinus roxburghii* Sarg. seedlings in relation to nutrient and water. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 59, p. 71-78. 1993.

BORKEN, W.; MATZNER, E. Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils. **Global Change Biology**, v. 15, p. 808-824, 2009.

BOURZAC, K. The flow of technology: Farmers must develop new approaches if they are to keep producing crops as water supplies dwindle. **Nature**, v. 501, p. 3-6, 2013.

BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J.; HAMMOND, J. P.; ZELKO, I.; LUX, A. Zinc in plants. **New Phytologist**, v. 173, p. 677-702, 2007.

BRODRIBB, T. Dynamics of changing intercellular CO₂ concentration (C_i) during drought and determination of minimum functional C_i. **Plant Physiology**, v. 111, p. 179-185. 1996.

BRUM, C. N. F.; MELO, E. F.; BARQUERO, L. O. B.; ALVES, J. D.; CHALFUN-JÚNIOR, A. Modifications in the metabolism of carbohydrates in (*Coffea arabica* L. cv. Siriema) seedlings under drought conditions. **Coffee Science**, v.8, p. 140-147, 2013.

CAI, Z-Q.; CHEN, Y-J.; GUO, Y-H.; CAO, K-F. Responses of two field-grown coffee species to drought and re-hydration. **Photosynthetica**, v. 43, p. 187-193, 2005.

CARILLO, P.; GIBON, Y. **Extraction and determination of proline**. In: PrometheusWiki. 2011. Disponível em:
<<http://prometheuswiki.publish.csiro.au/tikiindex.php?page=Extraction+and+determination+of+proline>>. Acesso em: 9 Mar. 2016.

CARMO, A. F. de S. do.; ARAÚJO, W. S'A. de.; BERNARDI, A. C. de C.; SALDANHA, M. F. C. **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos - Circular Técnica 6**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2000. 41 p.

CARMO-SILVA, A. E.; GORE, M. A.; ANDRADE-SANCHEZ, P.; FRENCH, A. N.; HUNSAKER, D. J.; SALVUCCI, M. E. Decreased CO₂ availability and inactivation of Rubisco limit photosynthesis in cotton plants under heat and drought stress in the field. **Environmental and Experimental Botany**, v. 83, p. 1-11, 2012.

CARVALHO, F. G.; SERA, G. H.; ANDREAZI, E.; SERA, T.; FONSECA, I. C. DE B.; CARDUCCI, F. C.; SHIGUEOKA, L. H.; HOLDERBAUM, M. M.; COSTA, K. C. Tolerância à seca em mudas de genótipos de café portadores de genes de diferentes espécies. **Coffee Science**, v. 12, 2017.

CAVATTE, P. C.; OLIVEIRA, A. A. G.; MORAIS, L. E.; MARTINS, S. C. V.; SANGULARD, L. M. V. P.; DaMATTIA, F. M. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, v. 144, p. 111-122, 2012.

CEPPI, M. G.; OUKARROUM, A.; ÇIÇEK, N.; STRASSER, R. J.; SCHANSKER, G. The IP amplitude of the fluorescence rise OJIP is sensitive to changes in the photosystem I content

of leaves: a study on plants exposed to magnesium and sulfate deficiencies, drought stress and salt stress. **Physiologia Plantarum**, v. 144, p. 277-288, 2012.

CHESEREK, J. J.; GICHIMU, B. M. Drought and heat tolerance in coffee: a review. **International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science**, v. 2, p. 498-501, 2012.

CONAB: Convênio Ministério da Agricultura – Secretaria da Produção e Comercialização. **Acompanhamento da safra brasileira de café, safra 2016**, dezembro/2016, quarta estimativa. 2016. Disponível em: <
http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_12_22_09_05_22_boletim_cafe_portugues_-_4o_lev_-_dez.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2016.

CRANSTON, L. M.; KENYON, P. R.; MORRIS, S. T.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; KEMP, P. D. Morphological and physiological responses of plantain (*Plantago lanceolata*) and chicory (*Cichorium intybus*) to water stress and defoliation frequency. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 202, p. 13-24, 2016.

DaMATTA, F. M. Exploring drought tolerance in coffee: a physiological approach with some insights for plant breeding. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 16, p. 1-6, 2004.

DaMATTA, F. M.; MAESTRI, M.; BARROS, R. S. Photosynthetic performance of two coffee species under drought. **Photosynthetica**, v. 34, p. 257-264, 1997.

DaMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 18, p. 55-81, 2006.

DaMATTA, F. M.; LOOS, R. A.; SILVA, E. A.; LOUREIRO, M. E.; DUCATTI, C. Effects of soil water deficit and nitrogen nutrition on water relations and photosynthesis of pot-grown *Coffea canephora* Pierre. **Trees**, v. 16, p. 555-558, 2002.

DaMATTA, F. M.; MAESTRI, M.; BARROS, R. S.; REGAZZI, A. J. Water relations of coffee leaves (*Coffea arabica* and *C.canephora*) in response to drought. **Journal of Horticulture Science**, v. 68, p. 741-746, 1993.

DAWOOD, M. G.; TAIE, H. A. A.; NASSAR, R. M. A.; ABDELHAMID, M. T.; SCHMIDHALTER, U. The changes induced in the physiological, biochemical and anatomical characteristics of *Vicia faba* by the exogenous application of proline under seawater stress. **South African Journal of Botany**, Oxford, v. 93, p. 54-63, 2014.

DELAUNEY, A.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, v. 4, p. 215-223, 1993.

DELIGOZ, A.; M. GUR. Morphological, physiological and biochemical responses to drought stress of Stone pine (*Pinus pinea* L.) seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, art. 243, 2015.

- DIAS, P. C.; ARAUJO, W. L.; MORAES, G. A. B. K.; BARROS, R. S.; DaMATTA, F. M. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 1639-1647, 2007.
- D'SOUZA, G. F.; MALLIKARJUNA, G. A.; VENKATARAMANAN, D.; ANAND, C. G.; DEVARAJ, A. A. M. Variation in photosynthetic parameters amongst station released coffee genotypes and their importance in drought tolerance. **Journal Coffee Research**, v. 30, p. 14-23, 2002.
- DURAND, M.; PORCHERON, B.; HENNION, N.; MAUROUSSET, L.; LEMOINE, R.; POURTAU, N. Water deficit enhances C export to the roots in *Arabidopsis thaliana* plants with contribution of sucrose transporters in both shoot and roots. **Plant Physiology**, v. 170, p. 1460-1479, 2016.
- EL-GENDY, S. A.; ELMONIEM, E. M.; ABDULLA, M. M.; EISIA, S.S. Morphological and physiological responses of *Acacia saligna* (Labill.) to water stress. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 6, p. 90-97, 2012.
- FAHRAMAND, M.; MAHMOODY, M.; KEYKHA, A.; NOORI, M.; RIGI, K. Influence of abiotic stress on proline, photosynthetic enzymes and growth. **International Research Journal of Applied and Basic Sciences**, London, v. 8, p. 257-265, 2014.
- FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S.M.A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, p. 185-212, 2009.
- FIGEIREDO, S. L.; RODRIGUES, J. D.; CARNEIRO, J. P. C.; SILVA, A. do A.; LIMA, M. B. Fisiologia e produção da soja tratada com cinetina e cálcio sob déficit hídrico e sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 1432-1439, 2013.
- FRANÇA, M. G. C.; THI, A. T.; PIMENTEL, C.; ROSSIELLO, R. O.; ZUILY-FODIL, Y.; LAFFRAY, D. Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 43, p. 227-237. 2000.
- FRANCO, A. C. Tree functional strategies in Brazilian Savannas (Chapter 8). In: DE LA BARRERA, E.; SMITH, W. K. (eds). **Perspectives in biophysical plant ecophysiology: a tribute to Park S. Nobel**. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2009. p. 191-219.
- GALMÉS, J.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. **New Phytologist**, v. 175, p. 81-93, 2007.
- GALMÉS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Rubisco activity in Mediterranean species is regulated by the chloroplastic CO₂ concentration under water stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 653-665, 2011.
- GEORGE, G. M.; VAN DER MERWE, M. J.; NUNES-NESE, A.; BAUER, R.; FERNIE, A. R.; KOSSMANN, J.; LLOYD, J. R. Virus-induced gene silencing of plastidial soluble

inorganic pyrophosphatase impairs essential leaf anabolic pathways and reduces drought stress tolerance in *Nicotiana benthamiana*. **Plant Physiology**, v. 154, p. 55-66, 2010.

GOLDBACH, H. E.; WIMMER, M. A. Boron in plants and animals: Is there a role beyond cell-wall structure?. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 170, p. 39-48, 2007.

HAJIBOLAND, R.; FARHANGHI, F. Effect of low boron supply in turnip plants under drought stress. **Biologia Plantarum**, v. 55, p. 775-778, 2011.

HASANPOUR, Z.; KARIMI, H. R.; MIRDEHGHAN, S. H. Effects of salinity and water stress on ecophysiological parameters and micronutrients concentration of pomegranate (*Punica granatum* L.). **Journal of Plant Nutrition**, v. 38, p. 795-807, 2015.

HASSAN, N. M.; EL-SAYED, A. K. A.; EBEID, H. T.; ALLA, M. M. N. Molecular aspects in elevation of sunflower tolerance to drought by boron and calcium foliar sprays. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, p. 593-600, 2011.

HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M. N.; WANI, A. S.; PICHTEL, J.; AHMAD, A. Role of proline under changing environments. **Plant Signaling & Behavior**, Philadelphia, v. 7, p. 1456-1466, 2012.

HE, M.; DIJKSTRA, F. A. Drought effect on plant nitrogen and phosphorus: a metaanalysis. **New Phytologist**, v. 204, p. 924-931, 2014.

HU, Y.; SCHMIDHALTER, U. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 168, p. 541-549, 2005.

HURA, T.; DZIURKA, M.; HURA, K.; OSTROWSKA, A.; DZIURKA, K. Different allocation of carbohydrates and phenolics in dehydrated leaves of triticale. **Journal of Plant Physiology**, v. 202, p. 1-9, 2016.

HURA, T.; HURA, K.; DZIURKA, K.; OSTROWSKA, A.; BACZEK-KWINTA, R.; GRZESIAK, M.T. An increase in the content of cell wall-bound phenolics correlates with the productivity of triticale under soil drought. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p. 1728-1736, 2012.

ICO: International Coffee Organization. **Coffee production to remain stable despite Arabica/Robusta divergence**. Disponível em: <<http://www.ico.org/#sthash.vEyCOMfX.dpuf>>. Acesso em: 22 mar. 2017.

ISKANDAR, H. M.; CASU, R. E.; FLETCHER, A. T.; SCHMIDT, S.; XU, J.; MACLEAN D. J.; MANNERS, J. M; BONNETT, G. D. Identification of drought-response genes and a study of their expression during sucrose accumulation and water deficit in sugarcane culms. **BMC Plant Biology**, v. 11/12, p. 1-14, 2011.

KAKUMANU, A.; AMBAVARAM, M. M. R.; KLUMAS, C.; KRISHNAN, A.; BATLANG, U.; MYERS, E.; GRENE, R.; PEREIRA, A. Effects of drought on gene expression in maize reproductive and leaf meristem tissue revealed by RNA-Seq. **Plant Physiology**, v. 160, p. 846-867, 2012.

- KHAN, M. I. R.; IQBAL, N.; MASOOD, A.; PER, T. S.; KHAN, N. A. Salicylic acid alleviates adverse effects of heat stress on photosynthesis through changes in proline production and ethylene formation. **Plant Signaling & Behavior**, Philadelphia, v. 8, p. 1-10, 2013.
- KNIGHT, H.; BRANDT, S.; KNIGHT, M. R. A history of stress alters drought calcium signalling pathways in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, v. 16, p. 681-687, 1998.
- KNIGHT, H.; TREWAVAS, A. J.; KNIGHT, M. R. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involved two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. **Plant Cell**, v. 8, p. 489-503, 1996.
- KNIGHT, H.; TREWAVAS, A. J.; KNIGHT, M. R. Calcium signalling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. **The Plant Journal**, v. 12, p. 1067-1078, 1997.
- KING'ORO, M. W.; MUSHIMIYAMANA, D.; CHESEREK, J. J.; GICHIMU, B. M. Effect of different watering regimes on agromorphology of selected coffee genotypes. **American Journal of Experimental Agriculture**, Hooghly, v. 4, p. 1016-1026, 2014.
- KUZYAKOV, Y.; GAVRICHKOVA, O. Review: Time lag between photosynthesis and carbon dioxide efflux from soil: a review of mechanisms and controls. **Global Change Biology**, v. 16, p. 3386-3406, 2010.
- LAWLOR, D. W. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, p. 83-108, 2013.
- LIN, S. K.; LIN, J.; LIU, Q. L.; AI, Y. F.; KE, Y. Q.; CHEN, C.; ZHANG, Z. Y.; HE, H. Time-course of photosynthesis and non-structural carbon compounds in the leaves of tea plants (*Camellia sinensis* L.) in response to deficit irrigation. **Agricultural Water Management**, v. 144, p. 98-106, 2014.
- MAGALHÃES, P. C.; LAVINSKY, A. O.; MELO, H. F.; ALVES, J. C.; SOUZA, T. C. de.; BARBOSA, A. P.; RIBEIRO, C. Relationship between nitric oxide, enzymatic antioxidant system and aba in maize under long-term drought, **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 14, p. 155-166, 2015.
- MAN, D.; YONG-XIA BAO, Y. X.; HAN, L. B.; ZHANG, X. Drought tolerance associated with proline and hormone metabolism in two tall fescue cultivars. **HortScience**, v. 46, 1027-1032, 2011.
- MARRACCINI, P.; FREIRE, L. P.; ALVES, G. S. C.; VIEIRA, N. G.; VINECKY, F.; ELBELT, S.; RAMOS, H. J. O.; MONTAGNON, C.; VIEIRA, L. G. E.; LEROY, T.; POT, D.; SILVA, V. A.; RODRIGUES, G. C.; ANDRADE, A. C. *RBCS1* expression in coffee: *Coffea* orthologs, *Coffea arabica* homeologs, and expression variability between genotypes and under drought stress. **BMC Plant Biology**, v. 11, 23p, 2011. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/11/85>.
- MARRACCINI, P.; VINECKY, F.; ALVES, G. S. C.; RAMOS, H. J. O.; ELBELT, S.; VIEIRA, N. G.; CARNEIRO, F. A.; SUJII, P. S.; ALEKCEVETCH, J. C.; SILVA, V. A.;

DAMATTA, F. M.; FERRÃO, M. A. G.; LEROY, T.; POT, D.; VIEIRA, L. G. E.; SILVA, F. R. DA.; ANDRADE, A. C. Differentially expressed genes and proteins upon drought acclimation in tolerant and sensitive genotypes of *Coffea canephora*, **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 4191-4212, 2012.

MAZZAFERA, P.I.; CARVALHO, A. Produção e tolerância à seca de cafeeiros. **Bragantia**, Campinas, v. 46, p. 403-415, 1987.

MEDINA-FILHO, H. P.; CARVALHO, A.; MEDINA, D. M. Germoplasma de *Coffea racemosa* e seu potencial no melhoramento do cafeeiro. **Bragantia**, Campinas, v.36, p. 43-46, 1977.

MELKE, A.; FETENE, M. Eco-physiological basis of drought stress in coffee (*Coffea arabica*, L.) in Ethiopia, **Theoretical Experimental Plant Physiology**, v. 26, p. 225-239, 2014.

MENGEL, K. Potassium. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. **Handbook of Plant Nutrition** (1st Edn). New York: CRC Press, 2007. pp. 91-120.

MOFATTO, L. S.; F. CARNEIRO, DE A.; VIEIRA, N. G.; DUARTE, K. E.; VIDAL, R. O.; ALEKCEVETCH, J. C.; COTTA, M. G.; VERDEIL, J-L.; LAPEYRE-MONTES, F.; LARTAUD, M.; LEROY, T.; DE BELLIS, F.; POT, D.; RODRIGUES, G. C.; CARAZZOLLE, M. F.; PEREIRA, G. A. G.; ANDRADE, A. C.; MARRACCINI, P. Identification of candidate genes for drought tolerance in coffee by high-throughput sequencing in the shoot apex of different *Coffea arabica* cultivars. **BMC Plant Biology**, v. 16, art. 94, 2016.

MÔNACO, L. C.; MEDINA, D. M. Híbridações entre *Coffea arabica* e *C. kapakata*. Análise citológica de um híbrido triploide. **Bragantia**, Campinas, v. 24, p. 191-201, 1965.

MÖTTÖNEN, M.; LEHTO, T.; RITA, H.; APHALO, P. J. Recovery of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings from repeated drought as affected by boron nutrition. **Trees**, v. 19, p. 213-223, 2005.

MULLET, J. E.; WHITSITT, M. S. Plant cellular responses to water deficit. In: BELHASSEN, E. (ed), **Drought Tolerance in Higher Plants: Genetical, Physiological and Molecular Biological Analysis**, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1997, pp. 41-46.

MURREN, C. J.; DOUGLASS, L.; GIBSON, A.; DUDASH, M. R. Individual and combined effects of Ca/Mg ratio and water on trait expression in *Mimulus guttatus*. **Ecology**, v. 87, p. 2591-2602, 2006.

MUTAVA, R. N.; PRINCE, S. J. K.; SYED, N. H.; SONG, L.; VALLIYODAN, B.; CHEN W.; NGUYEN, H. T. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 86, p. 109-120, 2015.

NAM, K-H.; KIM, D-Y.; SHIN, H. J.; NAM, K. J.; AN, J. H.; PACK, I-S.; PARK, J-H.; JEONG, S-C.; KIM, H. B.; KIM, C-G. Drought stress-induced compositional changes in tolerant transgenic rice and its wild type. **Food Chemistry**, v. 153, p. 145-150, 2014.

NISHIZAWA, A.; YABUTA, Y.; SHIGEOKA, S. Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. **Plant Physiology**, v. 147, p. 1251-1263, 2008.

OBATA, T.; FERNIE, A. R. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 69, p. 3225-3243, 2012.

OBER, E. S.; CLARK, C. J. A.; BLOA, M. LE.; ROYAL, A.; JAGGARD, K. W.; PIDGEON, J. D. Assessing the genetic resources to improve drought tolerance in sugar beet: agronomic traits of diverse genotypes under droughted and irrigated conditions. **Field Crops Research**, v. 90, p. 213-234, 2004.

OLIVEIRA, H. C.; SODEK, L. Effect of oxygen deficiency on nitrogen assimilation and amino acid metabolism by soybean root segments. **Amino Acids**, v. 44, p. 743-755, 2013.

PEARCY, R. W. Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 41, p. 421-453, 1990.

PERECIN, D.; CARGNELUTTI FILHO, A. Efeitos por comparações e por experimento em interações de experimentos fatoriais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 68-72, 2008.

PÉREZ, R. L. Implicaciones fisiológicas de la osmorregulación en plantas. **Agromía Colombiana**, v. 24, p. 28-37, 2006.

PINHEIRO, H. A.; DaMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; LOUREIRO, M. E.; DUCATTI, C. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany**, Oxford, v. 96, p. 101-108, 2005.

PIRES, M. V.; PEREIRA JÚNIOR, A. A.; MEDEIROS, D. B.; DALOSO, D. M.; PHAM, P. A.; BARROS, K. A.; ENGQVIST, M. K. M.; FLORIAN, A.; KRAHNERT, I.; MAURINO, V. G.; ARAÚJO, W. L.; FERNIE, A. R. The influence of alternative pathways of respiration that utilize branched-chain amino acids following water shortage in *Arabidopsis*. **Plant, Cell and Environment**, v. 39, p. 1304-1319, 2016.

PRAXEDES, S. C.; DaMATTA, F. M.; LOUREIRO, M. E.; FERRÃO, M. A. G.; CORDEIRO, A. T. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. kouillou) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, p. 263-273, 2006.

RAI, A. C.; SINGH, M.; SHAH, K. Effect of water withdrawal on formation of free radical, proline accumulation and activities of antioxidant enzymes in ZAT12-transformed transgenic tomato plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 61, p. 108-114, 2012.

RAMALHO, J. C.; CAMPOS, P. S.; QUARTIN, V. L.; SILVA, M. J.; NUNES, M. A. High irradiance impairments on photosynthetic electron transport, Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and N assimilation as a function of N availability in *Coffea arabica* L. plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 154, p. 319-326, 1999.

- RAMALHO, J. C.; CAMPOS, P. S.; TEIXEIRA, M.; NUNES, M. A. Nitrogen dependent changes in antioxidant system and in fatty acid composition of chloroplast membranes from *Coffea arabica* L. plants submitted to high irradiance. **Plant Science**, v. 135, p. 115-124, 1998.
- RAMALHO, J. C.; PONS, T. L.; GROENEVELD, H. W.; AZINHEIRA, H. G.; NUNES, M. A. Photosynthetic acclimation to high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 27, p. 43-51, 2000.
- RANGANAYAKULU G. S.; CHINTA, S.; SIVAKUMAR, R. P. Effect of water stress on proline metabolism and leaf relative water content in two high yielding genotypes of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) with contrasting drought tolerance. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, Polokwane, v.3, p. 97-103, 2015.
- REBOLLEDO, M. C.; DINGKUHN, M.; CLÉMENT-VIDAL, A.; ROUAN, L.; LUQUET, D. Phenomics of rice early vigour and drought response: Are sugar related and morphogenetic traits relevant?. **Rice**, v. 5, art. 22, 2012.
- RIBEIRO, R. C.; MATIAS, J. R.; PELACANI, C. R.; DANTAS, B. F. Activity of antioxidant enzymes and proline accumulation in *Erythrina velutina* Willd. seeds subjected to abiotic stresses during germination. **Journal of Seed Science**, Brasilia, v. 36, p. 231-239, 2014.
- SAJEDI, N. A.; ARDAKANI, M. R.; REJALI, F.; MOHABBATI, F.; MIRANSARI, M. Yield and yield components of hybrid corn (*Zea mays* L.) as affected by mycorrhizal symbiosis and zinc sulfate under drought stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 16, p. 343-351, 2010.
- SAMPATHKUMAR, T.; PANDIAN, B. J.; JEYAKUMAR, P.; MANICKASUNDARAM, P. Effect of deficit irrigation on yield, relative leaf water content, leaf proline accumulation and chlorophyll stability index of cotton-maize cropping sequence. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 50, p. 407-425, 2014.
- SANEOKA, H.; MOGHAIEB, R. E. A.; PREMACHANDRA, G. S.; FUJITA, K. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds.. **Environmental and Experimental Botany**, v. 52, p. 131-138, 2004.
- SANKAR, B.; JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.. **Acta Botanica Croatica**, Zagreb, v. 66, p. 43-56, 2007.
- SANCHES, C. A. Phosphate. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. **Handbook of Plant Nutrition** (1st Edn). New York: CRC Press, 2006. p. 51-90.
- SANTINATO, R.; FERNANDES, A. L. T.; FERNANDES, D. E. **Irrigação na cultura do café** (2^a ed). Belo Horizonte: O Lutador, 2008. 476 p.

- SANTOS, T. B. dos.; LIMA, R. B. DE.; NAGASHIMA, G. T.; PETKOWICZ, C. L. de O.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; PEREIRA, L. F. P.; DOMINGUES, D. S.; VIEIRA, L. G. E. Galactinol synthase transcriptional profile in two genotypes of *Coffea canephora* with contrasting tolerance to drought. **Genetics and Molecular Biology**, v. 38, p. 182-190, 2015.
- SARDANS, J.; PEÑUELAS, J.; OGAYA, R. Drought's impact on Ca, Fe, Mg, Mo and S concentration and accumulation patterns in the plants and soil of a Mediterranean evergreen *Quercus ilex* forest. **Biogeochemistry**, v. 87, p. 49-69, 2008.
- SCHULZE, E.; BECK, E.; MÜLLER-HOHENSTEIN, K. **Plant Ecology**, v. 1. Heidelberg: Springer-Verlag, 2002. 702 p.
- SERA, T. Coffee genetic breeding at IAPAR. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, p. 179-199, 2001.
- SGHERRI, C.; MILONE, M. T. A.; CLIJSTERS, H.; NAVARI-IZZO, F. Antioxidative enzymes in two wheat cultivars, differently sensitive to drought and subjected to subsymptomatic copper doses. **Journal of Plant Physiology**, v. 158, p. 1439-1447, 2001.
- SILVA, E.A., MAZZAFERA, P. Influences of temperature and water in the coffee culture. **Am. J. Plant Science Biotechnology**, v. 2, p. 32-41, 2008.
- SILVA, E. C. da.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, M. A. da.; ALBUQUERQUE, M. B. de. Drought stress and plant nutrition. **Plant Stress**, v. 5, p. 32-41, 2011.
- SINCLAIR, T. R.; MUCHOW, R. C. Radiation use efficiency. **Advances in Agronomy**, v. 65, p. 215–265, 1999.
- SINGH, B.; SINGH, G. Influence of soil water regime on nutrient mobility and uptake by *Dalbergia sissoo* seedlings. **Tropical Ecology**, v. 45, p. 337-340. 2004.
- SINGH, A.; SHAMIM, Md.; SINGH, K. N. Genotypic variation in root anatomy, starch accumulation, and protein induction in upland rice (*Oryza sativa*) varieties under water stress. **Agricultural Research**, v. 2, p. 24-30, 2013.
- SMITH, A. W. Introduction. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (eds), **Coffee**, v. 1. Chemistry. London: Elsevier, 1989. p. 1-41.
- SONG, Z. Z.; YANG, S. Y.; ZUO, J.; SU, Y. H. Over-expression of ApKUP3 enhances potassium nutrition and drought tolerance in transgenic rice. **Biologia Plantarum**, v. 58 p. 649-658, 2014.
- SOUTHGATE, D. A. T. **Determination of Food Carbohydrates**. Applied Science Publishers Ltda, Essex, 1976, 180 p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 738-774.
- TESFAYE, S. G.; ISMAIL, M. R.; RAMLAN, M. F.; MARZIAH, M.; KAUSAR, H. Effect of soil drying on rate of stress development, leaf gas exchange and proline accumulation in

Robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) clones. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 50, p. 458-479, 2014.

TESFAYE, S.; MOHD, R. I.; KAUSAR, H.; MARZIAH, M.; RAMLAN, M. F. Plant water relations, crop yield and quality in coffee (*Coffea arabica*, L.) as influenced by partial root zone drying and deficit irrigation. **Australian Journal of Crop Science**, v. 7, p. 1361-1368, 2013.

TSUZUKI, T.; TAKAHASHI, K.; TOMIYAMA, M.; INOUE, S.; KINOSHITA, T. Overexpression of the Mg-chelatase H subunit in guard cells confers drought tolerance via promotion of stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, art. 440, 2013.

UPADHYAYA, H.; DUTTA, B. K.; PANDA, S. K. Zinc modulates drought-induced biochemical damages in Tea [*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 6660-6670, 2013.

UTRILLAS, M. J.; ALEGRE, L.; SIMON, E. Seasonal changes in production and nutrient content of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. subjected to water deficits. **Plant and Soil**, v. 175, p. 153-157, 1995.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 5, p. 753-759, 2008.

VERSLUES, P. E.; SHARMA, S. Proline Metabolism and Its Implications for Plant-Environment Interaction. **The Arabidopsis Book**, Washington, v. 8, p. 1-23, 2010.

WANG, R.; GAO, M.; JI, S.; WANG, S.; MENG, Y.; ZHOU, Z. Carbon allocation, osmotic adjustment, antioxidant capacity and growth in cotton under long-term soil drought during flowering and boll-forming period. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 107, p. 137-146, 2016.

WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance, **Planta**, v. 218, p. 1-14, 2003.

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

WU, Y.; COSGROVE, D. J. Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 1543-1553, 2000.

WU, S.; HU, C.; TAN, Q.; NIE, Z.; SUN, X. Effects of molybdenum on water utilization, antioxidative defense system and osmotic-adjustment ability in winter wheat (*Triticum aestivum*) under drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 83, p. 365-374, 2014.

YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, p. 145-156, 2005.

ZEEMAN, S. C.; SMITH, S. M.; SMITH, A. M. The diurnal metabolism of leaf starch.
Biochemical Journal, v. 401, p. 13-28, 2007.