



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JULIANDRA RODRIGUES ROSISCA

**TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE CAFÉ A BAIXAS
TEMPERATURAS**

Londrina
2017

JULIANDRA RODRIGUES ROSISCA

**TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE CAFÉ A BAIXAS
TEMPERATURAS**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Augusto de Aguiar e Silva

Co-orientador: Prof.^a. Dra. Heverly Moraes

Londrina
2017

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

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

Rodrigues Rosisca, Juliandra.

TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE CAFÉ A BAIXAS TEMPERATURAS / Juliandra Rodrigues Rosisca. - Londrina, 2017.
57 f.

Orientador: Marcelo Augusto de Aguiar e Silva.

Coorientador: Heverly Moraes.

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

Inclui bibliografia.

1. Agrometeorologia - Tese. 2. Fisiologia Vegetal - Tese. 3. Café - Tese. I. de Aguiar e Silva, Marcelo Augusto. II. Moraes, Heverly. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

JULIANDRA RODRIGUES ROSISCA

TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE CAFÉ A BAIXAS TEMPERATURAS

Dissertação de Mestrado apresentado ao Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Marcelo A. Aguiar e Silva
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Paulo Henrique Caramori
Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR

Prof. Dra. Carolina M. G. de Oliveira
Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR

Londrina, 21 de Fevereiro de 2017.

Dedico este trabalho à minha família,
por todo apoio, amor e união que
constituíram a base para esta
conquista.

AGRADECIMENTOS

“Agradecer é admitir que houve momentos em que se precisou de alguém, é reconhecer que o homem jamais poderá lograr para si o dom de ser auto suficiente. Ninguém cresce sozinho, sempre é preciso um olhar de apoio, uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão, uma atitude e amor. A todos que compartilharam os meus sonhos e ideais, dedico essa vitória, com a mais profunda gratidão e respeito!” (Autor desconhecido).

Oscar e Julia (Pai e Mãe), vocês são as pessoas mais importantes da minha vida! Obrigada por todo o investimento que fizeram na minha educação e por acreditarem em mim. Amo vocês infinitamente!

Ao meu irmão Diego, por todo apoio, amo você.

Ao Luciano, companheiro e amigo, obrigada por todas as experiências compartilhadas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Augusto de Aguiar e Silva, pela orientação, pelos ensinamentos, pela dedicação e incentivos constantes. Obrigada por todas as experiências acadêmicas maravilhosas, que me permitiu um crescimento profissional e pessoal tão grande.

À co-orientadora Dr^a. Heverly Moraes, por me acolher e permitir que se iniciasse grandes oportunidades acadêmicas na minha vida, por acreditar em mim e por exigir sempre mais!

Agradeço ao Dr. Paulo Henrique Caramori, por acreditar em mim, pela orientação, apoio, entusiasmo e incentivos constantes que despertaram em mim grande admiração e gosto pela pesquisa, e sobretudo por sua amizade.

À Dr^a. Carolina Maria Gaspar de Oliveira, por todo apoio, mas sobretudo por sua orientação e amizade.

Ao Dr. Getúlio por acompanhar meu trabalho, pelos ensinamentos e amizade.

Ao Dr. Gustavo Sera que contribuiu para a realização deste trabalho, com sua orientação e ensinamentos.

Ao Joaquim André por acompanhar toda a parte experimental e atividades de campo, pela dedicação e amizade.

Ao IAPAR pela possibilidade de realização deste trabalho.

Ao programa de Pós-graduação da UEL pela possibilidade de realização deste curso.

Gostaria de agradecer também as minhas amigas Anna, Mariana, Elaine e Jaqueline pelos bons momentos, amizade e carinho que são essenciais na minha vida.

À Ângela Beatriz pela amizade, apoio e incentivos sempre!

Às amigas Mara e Fernanda, que além da amizade contribuíram para a realização deste trabalho.

Às amigas Maria Isabel e Cintia, por todos os ensinamentos, orientação e aprendizado, mas sobretudo pela amizade.

À minha querida e dedicada amiga Geovanna, obrigada pelas palavras de incentivo, apoio, pelos bons momentos, aventuras e por todo carinho que recebo de você.

À amiga Amanda Pit pelas horas dedicadas à estatística, pelas boas conversas e bons momentos compartilhados que foram essenciais nestes dois anos de estudo.

E a todos que de uma forma direta ou indireta contribuíram para a concretização deste sonho.

A vontade de se tornar algo melhor a cada dia é o que faz o ser humano sonhar. Projetar idéias e desejos, e lutar para transformar o que um dia foi um simples pensamento em uma situação real.

Nunca desistir de algo que se deseja muito e que se almeja fazer parte da vida. O ser humano sonha! Mas se ele apenas sonhasse nunca saberia do que é capaz, é preciso conquistar os sonhos.

(Autor desconhecido).

ROSISCA, Juliandra Rodrigues. **Tolerância de genótipos de café a baixas temperaturas**. 2017. 57f. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O cafeeiro é uma planta muito sensível às temperaturas extremas, principalmente durante os estágios iniciais de sua formação, sendo a geada um dos fatores mais limitantes da cultura. As geadas provocam danos nos cafeeiros que podem variar de acordo com intensidade, tempo de exposição, idade, status nutricional da planta e genótipos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância a temperaturas negativas em diferentes genótipos de café em ambiente controlado. O estudo foi realizado no campo experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), em Londrina. Foram avaliados dez genótipos de cafeeiros com sete meses de idade, provenientes de cruzamentos entre portadores dos genes da espécie *Coffea arabica* com *Coffea racemosa* e *Coffea liberica*, além das cultivares Mundo Novo e Catuaí e da espécie *C. racemosa*. As avaliações foram feitas pelo critério visual pós teste e por métodos quantitativos, por meio da medição antes e após a exposição às temperaturas mínimas de -2°C, -3°C, -4°C e -5°C de fotossíntese, razão entre a fluorescência variável e fluorescência máxima do fotossistema II (Fv/Fm), condutividade elétrica de solução embebida com discos de folha e análise de proteína. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, sendo 5 níveis de temperaturas e 10 genótipos, com 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias dos dados foram comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os resultados das diferentes avaliações foram consistentes, fornecendo critérios seguros para a avaliação dos genótipos tolerantes ao frio. Os danos foram detectados visualmente a partir de -3°C, com tolerância observada somente para a espécie *C. racemosa*. Não foram identificadas fontes de tolerância ao frio nos genótipos de cruzamentos entre *C. arabica* com *C. racemosa* e *C. liberica*. Temperaturas mínimas entre -3 e -4°C são as mais adequadas para testar tolerância ao frio em genótipos de café.

Palavras-chave: *Coffea*. Geada. tolerância ao frio. avaliação visual. análises fisiológicas.

ROSISCA, Juliandra Rogues. **Tolerância de genótipos de café a baixas temperaturas**. 2017. 57p. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

The coffee plant is very sensitive to extreme temperatures, especially during the early stages of its formation. Frost is one of the most limiting factors of the crop. Frosts cause damage to coffee trees that vary according to intensity, plant age, nutritional status, and duration of exposure. The objective of this work was to identify the tolerance to negative temperatures of selected genotypes of coffee in a controlled environment. The study was carried out in the experimental field of the Agronomic Institute of Paraná (IAPAR), in Londrina. Ten genotypes of seven - month - old coffee trees from crosses between *Coffea arabica* and *Coffea racemosa* and *Coffea liberica* genes, as well as the cultivars Mundo Novo and Catuaí and *Coffea racemosa* were evaluated. The evaluations consisted on post-test visual criterion, and quantitative methods, by means of the measurement before and after exposure to temperatures of -2°C, -3°C, -4°C and -5°C of photosynthesis, the ratio between the variable fluorescence and maximum fluorescence of photosystem II (Fv/Fm), electrical conductivity of solution soaked with leaf disks, and protein analysis. The experimental design was a completely randomized in a factorial scheme built with 5 temperature levels and 10 genotypes, with 4 replicates. Data were submitted to analysis of variance. The means were compared by the Scott-Knott test at 5% probability. The results of the different evaluations were consistent, providing reliable criteria for the evaluation of cold tolerant genotypes. Damage was detected visually from -3°C, with tolerance observed only for *C. racemosa* species. No sources of cold tolerance were identified in the genotypes of crosses between *C. arabica* and *C. racemosa* and *C. liberica*. Minimum temperatures between -3°C and -4°C are the most suitable for testing cold tolerance in coffee genotypes.

Key words: *Coffea*. Frost. Cold tolerance. Visual evaluation. Physiological analyses.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	CENTRO DE ORIGEM: CARACTERIZAÇÃO METEOROLÓGICA.....	15
2.2	CULTURA DO CAFÉ NO BRASIL	16
2.2.1	Cultura do Café no Paraná	16
2.3	TEMPERATURAS EXTREMAS PARA A CULTURA DO CAFÉ	17
2.4	OCORRÊNCIAS DE GEADAS NA CULTURA DO CAFÉ.....	19
2.4.1	Estratégias de Combate à Geada	20
2.5	ASPECTOS FISIOLÓGICOS DO CAFEIEIRO SOB BAIXAS TEMPERATURAS	21
2.5.1	Potencial Hídrico da Planta	23
2.5.2	Fotossíntese	23
2.5.3	Fluorescência	25
2.5.4	Ruptura Celular e Condutividade Elétrica da Planta.....	26
2.5.5	Teor de Proteínas e Atividade Enzimática.....	27
2.6	CARACTERIZAÇÃO DOS GENÓTIPOS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO	28
2.6.1	Mundo Novo IAC 376-4	28
2.6.2	Catuaí Vermelho.....	29
2.6.3	Genótipos h147 1-13; h0104-11-1; h0105-4-10; h0108-17-3; h0113-11-7	29
2.6.4	<i>Coffea Racemosa</i>	29
2.6.5	Cultivares IPR 105 e IPR 100.....	30
3	ARTIGO A	31
3.1	INTRODUÇÃO	34
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	36
3.2.1	Localização e Instalação do experimento.....	36
3.2.2	Produção das mudas.....	36
3.2.3	Genótipos	37
3.2.4	Avaliações	38
3.2.4.1	Análise de Danos Visuais	40

3.2.4.2	Análise de Fotossíntese	40
3.2.4.3	Análise de Fluorescência.....	40
3.2.4.4	Análise de Condutividade Elétrica Foliar	41
3.2.5	Análises Bioquímicas	41
3.2.5.1	Coleta e Armazenamento do Material Vegetal	41
3.2.5.2	Procedimentos para obtenção do extrato bruto.....	41
3.2.5.3	Determinação do teor de proteína solúvel total	41
3.2.6	Análise Estatística	42
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.4	CONCLUSÕES	52
3.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café e o segundo maior consumidor do produto. Devido à sua importância para a economia brasileira, o uso de tecnologias adequadas para produção da cultura é de grande interesse dos setores público e privado.

As condições climáticas favorecem o cultivo do café em grande parte do país. Dentre os fatores abióticos que exercem maior influência na fisiologia do cafeeiro, destaca-se a temperatura. O café é particularmente sensível a temperaturas extremas, principalmente durante os estágios iniciais de sua formação.

Baixas temperaturas provocam danos nos cafeeiros que variam de acordo com intensidade, idade da planta, status nutricional e o tempo de exposição. Além disso, componentes do sistema fotossintético são afetados quando a planta é exposta a baixas temperaturas.

Os danos celulares nas plantas são causados pelo congelamento do líquido presente nos espaços intracelulares, com ruptura de membranas por compressão e extravasamento irreversível do citoplasma.

Diversos testes podem ser utilizados na avaliação da tolerância às baixas temperaturas em diversas espécies vegetais, principalmente associando métodos que avaliam diferentes respostas fisiológicas das plantas.

Assim, muitos trabalhos têm explorado a relação existente entre a tolerância ao estresse de plantas sob baixas temperaturas com atividades enzimáticas dos sistemas antioxidantes nos tecidos vegetais, e têm revelado que o reforço dessa defesa antioxidante confere melhor tolerância ao estresse oxidativo.

A tolerância ao frio pode ser uma característica genética, em que as plantas desenvolveram mecanismos com a finalidade de sobrevivência em ambientes de estresses abióticos, como o de baixas temperaturas.

As cultivares da espécie *Coffea arabica* plantadas no sul do Brasil apresentam baixa variabilidade genética para tolerância ao frio, devido a sua origem nas regiões tropicais da África. Entretanto, dentro do gênero *Coffea* existe variabilidade genética para tolerância ao frio, sendo espécies como *Coffea liberica* Var. Dewevrei e o *Coffea racemosa* referidas como muito promissoras.

O Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) possui cruzamentos avançados dessas espécies com cultivares de *Coffea arabica*, que estão em fase de

seleção em condições de campo. Há possibilidade de que genes para tolerância ao frio estejam incorporadas nessas linhagens em seleção. Assim, os objetivos deste trabalho foram avaliar as respostas foliares provocados por temperaturas negativas, avaliar alterações fisiológicas e bioquímicas decorrentes da exposição às temperaturas negativas e determinar a temperatura mínima letal para os diferentes genótipos avaliados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CENTRO DE ORIGEM: CARACTERIZAÇÃO METEOROLÓGICA

O cafeeiro arábica teve origem no continente africano, um arbusto perene que se desenvolveu em condições de sub-bosque nas florestas latifoliadas das regiões de Jimma e Kaffa, na Etiópia. Estas regiões estão situadas na faixa equatorial, e apresentam clima ameno em função da altitude (de 1600 a 2000 m). As precipitações são bem distribuídas, com no máximo 3 a 4 meses secos no inverno e total anual em torno de 1500 a 1800 mm (WRIGLEY, 1988; DAMATTA et al., 2007).

Pertencente ao grupo das fanerógamas, classe angiospermas e família das rubiáceas, o gênero *Coffea* pode ser agrupado em quatro grupos, sendo *Eucoffea* onde encontram-se as mais importantes espécies de cafeeiros: *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, *Coffea liberica*, *Coffea dewevrei*, *Coffea klainii*, *Coffea congensis*, *Coffea racemosa*, *Coffea salvatrix*, *Coffea stenophylla*, *Coffea eugenoides*, *Coffea kapakata*, *Coffea humilis*, *Coffea sessiliflora*, *Coffea heterocalyx* e *Coffea anthonyi*, entre outras (CARVALHO, 2008).

O gênero *Coffea* L. encontra-se distribuído em mais de 103 espécies, com cerca de 60 espécies selvagens, que foram descritas por serem potenciais fontes de alelos nos programas de melhoramento (DAVIS et al., 2006).

A espécie *Coffea arabica* é a preferida dentre as mais de 60 espécies do gênero *Coffea* devido às características dos grãos, que propiciam bebida de sabor suave e com baixo teor de cafeína. *Coffea canephora* é destinada preferencialmente à produção de café solúvel (MENDES et al., 1998). *Coffea racemosa* e *Coffea stenophylla* são importantes fontes de resistência à seca e ao bicho mineiro, e *coffea liberica* à ferrugem em programas de melhoramento (ANTHONY et al., 2002).

Nos programas de melhoramento genético do cafeeiro, diferentes espécies do gênero *Coffea* têm sido utilizadas para o desenvolvimento de cultivares de café com características de interesse (DIAS et al., 2007). O desenvolvimento de cultivares com tolerância ao frio tem sido de grande interesse, uma vez que as geadas podem comprometer a viabilidade econômica da cultura (ANDROCIOLI-FILHO et al., 1986).

2.2 CULTURA DO CAFÉ NO BRASIL

Dentro do gênero *Coffea* existe mais de 90 espécies, destas, somente *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex a. Froehner têm importância econômica, sendo que o primeiro representa mais de 60% do café comercializado no mundo (CONAB, 2017). O grão do café dá origem à mais importante “commodity” agrícola, movimentando anualmente cerca de US\$ 90 bilhões, envolvendo 500 milhões de pessoas, e, somente no Brasil, sua cadeia produtiva ocupa mais de 20 milhões de pessoas nas atividades de cultivo, processamento pós-colheita, transporte e comercialização (AGRIANUAL, 2011).

O Brasil é atualmente o maior produtor mundial de café e o segundo maior consumidor do produto. As estimativas de produção brasileira de café da safra de 2016 indicam a produção de 51,94 milhões de sacas. O cultivo majoritariamente está presente nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia, Paraná e Goiás, que correspondem a cerca de 98,65% da produção nacional. Outros estados produtores respondem por 1,35% da safra: Acre, Ceará, Pernambuco, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Pará, Mato Grosso e Rio de Janeiro (CONAB, 2017).

Estes resultados devem-se principalmente ao aumento de 67,6 mil hectares da área em produção, à incorporação de áreas que se encontravam em formação e renovação e às condições climáticas mais favoráveis (CONAB, 2017).

Em função dessa ocupação geográfica e da decorrente diversidade de climas e solos, o Brasil apresenta a vantajosa característica de produzir vários tipos de café, o que amplia em muito sua capacidade de atender às mais diferentes exigências mundiais não só em quantidade, mas principalmente em qualidade, de modo a atender as peculiaridades do mercado consumidor global (EMBRAPA, 2004).

2.2.1 Cultura do Café no Paraná

A cultura do café foi introduzida no estado no início do século XX, porém, até 1945 seu crescimento foi lento, devido à situação econômica internacional. Ao longo dos anos, a cafeicultura se estabeleceu no norte do estado e avançou para o sul e oeste até os limites de risco climático em que era possível o

cultivo econômico. Obteve sua maior expansão na década de 50, dadas as condições favoráveis da economia mundial que devido ao desenvolvimento do “pós-guerra”, praticava-se preços internacionais elevados de produção (MORAIS et al., 2005)

Na década de 50, o estado do Paraná contava com 1,15 bilhões de pés e produziu aproximadamente 20,6 milhões de sacas de café. Em 1961, a cafeicultura paranaense atingiu seu auge, com uma produção de 21,4 milhões de sacas e uma população cafeeira de 1,28 bilhões de pés. Nessa época, o Brasil contava com 4,3 bilhões de pés de café (LIMA et al., 1989).

A região norte do estado do Paraná é a que apresenta o menor risco de geada, que pode ocorrer entre maio e setembro, sendo junho e julho os meses com maior frequência (CARVALHO et al., 2002). Em 1975, em decorrência de uma geada severíssima, foram erradicados 211 milhões de pés, fator preponderante na redução da área ocupada com café no estado. Além de ter reduzido drasticamente a safra de 1976, a geada de 1975 danificou grande parte do parque cafeeiro ao nível de caule, necessitando uma poda drástica das plantas, o que motivou a substituição das lavouras de café por lavouras de soja e outras culturas anuais.

Apesar das geadas e outras dificuldades enfrentadas pelos agricultores, o café ainda é uma importante fonte de renda para a economia do estado, por sua participação na receita cambial, transferência de renda a outros setores da economia e contribuição à formação de capital no setor agrícola (EMBRAPA, 2016).

2.3 TEMPERATURAS EXTREMAS PARA A CULTURA DO CAFÉ

Em regiões com temperaturas médias anuais inferiores a 18°C, a ocorrência de geadas e ventos frios limitam a exploração econômica da cultura (CAMARGO, 1985). Já as temperaturas elevadas prejudicam o desempenho vegetativo e reprodutivo do cafeeiro (CARAMORI et al., 2001). Temperaturas médias acima de 30°C podem provocar amarelecimento e “escaldadura” na folhagem e quando ocorrem na fase do florescimento, provocam o aparecimento de botões mal formados (“estrelinhas”) e abortamento dos botões florais, principalmente em condições de solo seco (CAMARGO, 1985; MATIELLO et al., 2002; DAMATTA, 2004). A qualidade dos frutos também é prejudicada em regiões com temperaturas

médias acima de 23°C, pois os frutos amadurecem mais rapidamente, sem acumular as características desejáveis de qualidade (CAMARGO, 1985).

A cultura do café está exposta a perdas por eventos climáticos extremos. Os problemas enfrentados pela cafeicultura estão relacionados principalmente clima, com destaque para temperatura do ar, geadas, granizo, excesso ou falta de precipitação pluvial e em menor escala, os ventos fortes, a umidade relativa do ar e insolação (MOREIRA, 2008).

A temperatura do ar constitui-se no elemento climático mais importante para a definição da aptidão climática do cafeeiro (CAMARGO, 1986). Temperaturas extremas, dependendo da sua intensidade e duração prejudicam os processos metabólicos celulares, crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como sua exploração econômica (BARROS et al., 1997; SILVA et al., 2004). Segundo CAMARGO e FRANCO (1985) a aptidão térmica é representada por faixas de temperaturas médias, e são consideradas inaptas maior que 23°C e menor que 18°C, sendo o melhor desempenho do café em locais com temperatura média anual entre 18°C e 22°C (DAMATTA, 2004; PEREIRA et al., 2008).

Temperaturas médias anuais superiores a 23°C podem reduzir ou até paralisar o desenvolvimento fenológico do cafeeiro, inviabilizando o seu cultivo. Quando associadas à seca na época do florescimento, podem ocasionar abortamento de botões florais e reduzir a frutificação. Além disso, podem causar perdas de qualidade do café devido ao desenvolvimento e maturação precoce dos frutos, além de escaldaduras nas folhas, prejudicando a captação de luz e produção fotossintética (FRANCO, 1958; CAMARGO, 1985; THOMAZIELLO et al., 2000).

Por outro lado, regiões com temperatura média anual inferior a 18°C podem limitar a cultura do café, com influência direta no período de dormência das gemas florais, retardando o desenvolvimento dos frutos e levando a perda de produtividade, além de sintomas típicos de crestamento foliar no período de inverno (CAMARGO, 1985). Quando muito baixas, podem ocasionar geadas mais severas, mesmo que esporádicas, causando a morte dos tecidos vegetais quando a temperatura do limbo foliar for igual ou menor a -3,5°C (SEDIYAMA et al., 1999; PINTO et al., 2000).

2.4 OCORRÊNCIAS DE GEADAS NA CULTURA DO CAFÉ

No Brasil os fatores de formação de geadas ocorrem em três categorias: macro, meso e microclima (SENTELHAS et al., 2000). O macroclima trata dos fenômenos em escala regional ou geográfica que dependem das nuances climáticas impostas pelos fatores latitude, altitude, continentalidade e circulação global da atmosfera. O mesoclima se refere aos fenômenos em escala local, em que a topografia condiciona o clima pelas condições do relevo local. A exposição (N, S, E ou W), a configuração (vale, espigão, meio encosta) e o grau de inclinação do terreno determinam o clima local. E o microclima é aquele que condiciona o clima em pequena escala. É função do tipo de cobertura do solo (solo nu, gramado, floresta, cultura rasteira, represa, etc.), que determina o balanço local de energia (CARAMORI et al., 2001).

Segundo CARAMORI et al. (2001), do ponto de vista microclimático, ao nível de uma propriedade, as áreas em que a ocorrência de geada é menos frequente e são menos intensas apresentam as seguintes características topoclimáticas: encostas elevadas, com declividade superior a 2%; espigões de configuração convexa com boas condições de escoamento do ar frio; face protegida do vento frio de inverno. Regiões que apresentam maior incidência de geada apresentam as seguintes características: baixadas e encostas baixas; espigões extensos e planos; terrenos de configuração côncava com pequeno declive; bacias com gargantas estreitas e longas, abaixo do cafezal; terrenos com exposição sudoeste, sul e sudeste, que são assolados pelos ventos resultantes das entradas de frentes frias.

Em escala global, algumas regiões sofrem sérios danos por geadas na agricultura, como é o caso do sul do Brasil. Culturas de climas tropicais e subtropicais como o café são mais afetadas, pois apresentam pouca tolerância a baixas temperaturas (MASSOQUIM, 2010).

As geadas no Paraná ocorrem em função do deslocamento de massas de ar polar que alteram o balanço regional de energia, propiciando condições para queda de temperatura até o ponto de congelamento interno das plantas (abaixo de 0°C, registrado próximo ao solo), a morte das plantas de café ocorre quando a temperatura do limbo foliar for igual ou menor que -3,5°C (FERRAZ, 1968; PINTO et al., 2000). Este processo se torna bastante frequente no inverno, o

que leva a ocorrência de geadas inclusive no noroeste do estado, com consequências desastrosas para a agricultura paranaense (GRODZKI et al., 1996; CARAMORI; MORAIS, 1999).

2.4.1 Estratégias de Combate à Geadas

2.4.1.1 Zoneamento agroclimático

Muitas são as variáveis que determinam regiões propícias ao desenvolvimento de certas culturas, sendo que quando as condições de ambiente e de solo são favoráveis, podem proporcionar maior produtividade e rentabilidade (OMETTO, 1981). Para a realização do zoneamento de riscos climáticos são analisadas as variáveis planta-solo-clima, ajustando funções matemáticas probabilísticas com o objetivo de quantificar o risco de perda das lavouras devido à ocorrência dos eventos climáticos diversos, tais como geadas, estiagens e excessos de precipitação (BRASIL, 2006).

O zoneamento agrícola é uma ferramenta de suporte com fundamental importância para o planejamento na agricultura, sendo considerado como principal instrumento para a tomada de decisões no que se refere as variáveis que influenciam direta e indiretamente a produtividade agrícola, pois exige informações climáticas baseadas, principalmente, na ocorrência de chuvas, na temperatura e nas exigências climáticas das culturas agrícolas (CAMARGO et al., 1974; SANTOS, 1999).

Segundo Camargo (1977), nos trabalhos desenvolvidos de zoneamento agrometeorológico da cultura do café no Brasil até então, foram considerados aspectos macroclimáticos e a análise dos fatores térmico e hídrico. O autor definiu faixas térmicas para o cultivo do café arábica, indicando áreas inaptas com temperaturas médias anuais superiores a 23°C e inferiores a 17°C, áreas marginais com temperaturas de 17 a 18°C e 22 a 23°C e áreas aptas com temperaturas médias anuais de 18 a 22°C.

No estado do Paraná o zoneamento agroclimático atual da cultura do café arábica foi realizado com base nos riscos de geadas, que é o único fator climático limitante. As áreas com frequência de geadas inferiores a 25% (1 a cada 4 anos) foram consideradas aptas ao cultivo, representando o norte do Paraná e englobando municípios onde tradicionalmente se cultivou o café (CARAMORI et al,

2001).

2.4.1.2 Alerta geada

As geadas que ocorrem nas regiões cafeeiras do sul e sudeste do Brasil causam perdas frequentes aos cafeicultores. A frequência esperada de geadas severas nestas regiões é de 1 a cada 5 a 8 anos, dependendo das condições locais (CARAMORI et al., 2000).

O Alerta Geada é um serviço realizado pelo IAPAR e pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), em parceria com o Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER), desde 1995. É um sistema cujo objetivo é alertar os cafeicultores, com antecedência de 48 e 24 horas, para a ocorrência de geada na região cafeeira (CARAMORI et al., 2001).

O programa Alerta Geadas é direcionado para as regiões cafeeiras do Paraná, compreendendo o norte e parte do oeste e centro do estado. Baseado na disponibilidade de informações oriundas de quatro ações: desenvolvimento e adaptação de métodos de proteção das lavouras, treinamento de técnicos e produtores, previsão de geadas e rápida difusão das informações (CARAMORI et al., 2001). A geração de informações torna possível a utilização da previsão meteorológica na tomada de decisões no setor agrícola.

2.5 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DO CAFEIEIRO SOB BAIXAS TEMPERATURAS

Baixas temperaturas interferem de diversas maneiras nos processos fisiológicos das plantas e dependendo da sua intensidade e duração prejudicam os processos metabólicos, como fotossíntese, crescimento e sobrevivência de plantas, comprometendo de maneira drástica sua exploração econômica (SUZUKI et al., 2008).

Dentro do gênero *Coffea spp.*, as espécies *Coffea arabica*, *Coffea canephora* e *Coffea dewevrei*, que representam mais de 99% da produção mundial de café são sensíveis ao frio (RAMALHO et al., 2003).

O cafeeiro exibe diversidade de mecanismos de aclimação para evitar e suportar essas restrições, desenvolvido dentro dos limites genéticos. A eficácia desses mecanismos determinará a capacidade em como lidar com tais

condições ambientais, assim, definindo limites de distribuição das espécies e genótipos (SILVA et al., 2004).

Alguns estudos indicaram menor sensibilidade ao frio em *Coffea arabica* do que *Coffea canephora*. Este último é menos capaz de aclimatar-se, pois apresenta uma diminuição acentuada da fotossíntese líquida, abertura estomática e rendimento fotossintético quando comparado com *Coffea arabica* cv. Catuaí (DAMATTA et al., 2004; RAMALHO et al., 2003).

Os mecanismos de adaptação ao frio agem por meio da alteração na atividade bioquímica das células, como aumento da capacidade de dissipação do excesso de energia, reforço na produção de enzimas antioxidantes e outros que lhe conferem uma maior tolerância às baixas temperaturas e uma melhor recuperação após o fim de um período de estresse, com intensidades distintas entre espécies do gênero *Coffea* spp. (FORTUNATO et al., 2010).

Em plantas sensíveis ao frio, a respiração é fortemente afetada devido à inibição de várias enzimas (PARTELLI et al., 2010). Assim, a capacidade de tolerância a baixas temperaturas baseia-se na manutenção do equilíbrio em uma rede complexa de mecanismos que permitem às plantas regularem o metabolismo fotossintético (KARPINSKI et al., 2002), simultaneamente com o disparo de outros mecanismos de reparação e proteção celular, principalmente mecanismos antioxidantes (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

Além disso, o estresse oxidativo ocorre quando as plantas permanecem sob condições ambientais adversas (seca, alta irradiância, temperaturas extremas e deficiência nutricional), devido às mudanças no equilíbrio na captura de energia luminosa e no seu uso (FORTUNATO et. al., 2010). Isso poderia ser explicado por uma diminuição na condutância estomática, que limita o acesso de CO₂ para os sítios de carboxilação, ocasionando uma diminuição global na taxa de reações químicas, deficiências específicas da cadeia de transporte de elétrons e principais enzimas metabólicas como a rubisco. Estas formas altamente reativas são chamadas espécies reativas de oxigênio (ROS) e são responsáveis por estresse oxidativo celular, provocando danos extensos nas células (PERL, 2002).

2.5.1 Potencial Hídrico da Planta

Baixas temperaturas influenciam no processo de funcionamento dos estômatos, pois está relacionado principalmente com a intensidade de absorção de luz e o estado hídrico da folha. Dessa forma, a abertura e fechamento dos estômatos e a área foliar influenciam a produtividade do vegetal. O primeiro fator porque controla a absorção de CO₂ e o segundo porque determina a interceptação de luz (COSTA; MARENCO, 2007).

Variações no potencial hídrico podem afetar a assimilação do carbono da planta, por isso o potencial de água da folha é um indicativo do seu estado energético, cujos gradientes explicam os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera (BERGONCI et al., 2000). Se a planta perde água a uma taxa superior à sua capacidade de absorção e transporte, o potencial hídrico da folha diminui, levando ao fechamento dos estômatos e redução da fotossíntese.

Em geral, durante as horas mais quentes do dia, a condutância estomática diminui a ponto de evitar que o potencial hídrico da folha reduza a níveis considerados críticos para a estabilidade do sistema de transporte de água, sendo este nível depende dos fatores genéticos e ambientais. Mas, o fechamento estomático pode ser induzido por outros fatores sem que haja redução do potencial hídrico foliar (OREN et al., 1999). Para o cafeeiro, entretanto, uma pequena redução na disponibilidade hídrica pode comprometer substancialmente o crescimento e conseqüentemente a produção do café (SILVA et al., 2003; DAMATTA et al., 2002).

Para a maioria das espécies, o potencial hídrico foliar acompanha as variações diurnas da demanda evaporativa da atmosfera, atingindo um valor máximo logo antes do nascer do sol, pois, as plantas encontram-se com a máxima turgescência possível para uma dada condição hídrica no solo. Dessa forma, o potencial hídrico de antemanhã tem sido considerado um indicativo do estado hídrico das plantas, bem como da quantidade de água disponível no solo (LARCHER, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2009).

2.5.2 Fotossíntese

A fotossíntese é a fonte primária dos carboidratos utilizados no crescimento e na manutenção das plantas (RIBEIRO; MACHADO, 2007). A temperatura, como um dos fatores ambientais mais variáveis, tem papel decisivo no

desenvolvimento do cafeeiro, sendo capaz de suprimir a fotossíntese em condições extremas (RAMOS, 2009; BUENO et al., 2011).

Tanto temperaturas elevadas quanto baixas afetam os processos fotossintéticos, pois estão relacionadas diretamente com as reações bioquímicas da fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2004). Sob exposição a temperaturas na faixa de resfriamento (0-12°C) ou de congelamento (menor que 0°C) os efeitos nas funções metabólicas são diversos, sendo a fotossíntese uma das primeiras a serem afetadas.

Espécies sensíveis à temperatura de resfriamento são altamente susceptíveis aos danos fotoquímicos (fotoinibição), se expostas à alta irradiância sob baixas temperaturas. Por outro lado, espécies tolerantes ao resfriamento são aparentemente menos susceptíveis. Entretanto, a temperatura antecedente à qual a planta foi exposta afetará a sensibilidade à temperatura de resfriamento subsequente, sendo que o crescimento e desenvolvimento da planta sob baixa temperatura conferem maior tolerância à fotoinibição sob tais condições (BOESE; HUNER, 1992).

Em cafeeiros os valores máximos de taxas fotossintéticas registrados giram em torno de 7 a 12 $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (RENA et al., 1994). Pouco se sabe sobre os mecanismos que explicariam as magnitudes das taxas fotossintéticas do cafeeiro, mas, aparentemente, uma alta resistência à difusão do CO_2 , desde a atmosfera até os sítios de carboxilação poderia ter papel preponderante (DAMATTA et al., 2001).

Em exposição às baixas temperaturas, o cafeeiro apresenta uma redução na taxa fotossintética, o que pode ser atribuído às reduções na condutância estomática, degradação de pigmentos do complexo coletor e perda de eficiência fotoquímica, aumento dos danos e redução de reparação em nível de fotossistema I (PSI) e fotossistema II (PSII), restrições no transporte de elétrons, na atividade enzimática e metabolismo dos carboidratos e aumento de permeabilidade da membrana do cloroplasto (PARTELLI et al., 2010). Entretanto, fortes decréscimos nas taxas fotossintéticas ocorrem principalmente em virtude da redução da eficiência de carboxilação, como foi relatado por Bauer et al. (1985) em *Coffea arabica*.

2.5.3 Fluorescência

A avaliação da fluorescência da clorofila permite verificar a atividade do transporte de elétrons da fase fotoquímica da folha, fornecendo uma análise detalhada da inibição da fotossíntese (TORRES NETTO, 2005). É, portanto, uma ferramenta não invasiva e permite a extrapolação dos resultados às condições naturais, fornecendo informações sobre o funcionamento do aparelho fotossintético das plantas submetidas às condições extremas induzidas por estresse (OLIVEIRA et al., 2002).

Avaliando o estado do PSII e permitindo identificar o funcionamento das membranas dos tilacóides dos cloroplastos, região onde estão situadas as proteínas específicas no processo de captação de luz, e que provocam mudanças nas características dos sinais de fluorescência (RIBEIRO et al., 2003; BACKER; ROSENQVST, 2004).

As principais variáveis observadas nas medições da fluorescência da clorofila a são: fluorescência inicial, basal ou mínima (f_0), fluorescência máxima (f_m), fluorescência variável (f_v) e eficiência ou rendimento quântico máximo do PSII (f_v/f_m). A fluorescência inicial, basal ou mínima (f_0) é determinada quando todos os centros de reação estão abertos, a fluorescência máxima (f_m), quando todos os centros de reação estão fechados, a fluorescência variável (f_v), é determinada pelo estado do centro de reação (aberto ou fechado), e a eficiência ou rendimento quântico máximo do PSII (f_v/f_m) por sua vez é uma medida da eficiência máxima do PSII, ou seja, a eficiência quântica de todos os centros do PSII quando estão abertos. Este valor reflete a eficiência quântica potencial do PSII e é usado como indicador sensível da performance fotossintética da planta, podendo variar numa faixa de 0,75 a 0,90 em plantas sob condições ambientais ótimas (STRASSER et al., 2004).

A diminuição da relação F_v/F_m é um excelente indicador de efeito fotoinibitório quando as plantas estão submetidas a qualquer tipo de estresse, podendo representar tanto uma regulação fotoprotetora reversível ou uma inativação irreversível do PSII. (BJORKMAN; POWLES, 1984; BJORKMAN; DEMMIG, 1987).

Sob condições de estresse, a habilidade das plantas em manter elevadas razões F_v/F_m pode ser um indicativo de eficiência no uso da radiação solar pela etapa fotoquímica e, conseqüentemente, a assimilação de carbono. Assim,

como uma resposta relativamente rápida de Fv/Fm aos estresses moderados podem ser um traço importante na seleção de variedades, esta variável pode ser utilizada como ferramenta para diagnosticar a integridade do aparato fotossintético frente às condições desfavoráveis (SILVA et al., 2007).

Pesquisando estresse por baixas temperaturas em mudas de *Coffea arabica* cv Catuaí amarelo, Oliveira et al. (2002) encontraram reduções na relação fv/fm em mudas de *Coffea arabica* cv. Catuaí amarelo com redução da temperatura ($10^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$). Consideraram ainda que, apesar da primeira consequência, em algumas situações, ser a redução nos valores da relação Fv/Fm, o dano causado por baixa temperatura não é restrito ao aparelho fotossintético. Um aspecto relevante sobre o efeito por baixas temperaturas sobre a atividade fotossintética é a alteração física das membranas, a qual está distribuída e organizada no cloroplasto, apoiando o transporte de elétrons.

2.5.4 Ruptura Celular e Condutividade Elétrica da Planta

A condutividade elétrica é um método de avaliação eficiente e rápido, que determina a intensidade dos danos causados às membranas celulares resultantes da exposição a um determinado tipo de estresse. É classificado como um teste bioquímico, o qual consiste na técnica de quantificação dos eletrólitos liberados pela folha na água de embebição, sendo essa quantidade proporcional ao grau de desorganização da membrana plasmática (MARCOS FILHO, 2005). Desse modo, baixos valores de condutividade elétrica correspondem à menor liberação de exsudatos e indicam alto potencial fisiológico (SIMON; HARUN, 1972).

Os trabalhos que utilizam o teste de condutividade elétrica para avaliar a tolerância das plantas às temperaturas negativas descrevem metodologias específicas para cada espécie. Assim, este teste tem sido utilizado por alguns autores com sucesso, como os exemplos descritos a seguir.

Silva et al. (2009) avaliaram a tolerância ao frio e ao congelamento em três híbridos de *Eucalyptus* mediante a medição da condutividade elétrica para avaliar danos foliares. Jacobson et al. (2007) também utilizaram a condutividade elétrica para avaliar a tolerância ao frio em cultivares de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), oriundas de diferentes condições agroecológicas do sul do Peru.

Rollins et al. (1962) e Moshtaghi et al. (2009) ao realizar testes da condutividade elétrica em galhos lesionados de maçã e em folhas de oliveira respectivamente, também obtiveram bons resultados para expressar o grau de danos por baixas temperaturas.

2.5.5 Teor de Proteínas e Atividade Enzimática

A formação de gelo nos tecidos foliares normalmente ocorre em temperaturas abaixo de -3°C ou -4°C , no entanto, quanto menor for a adaptação da planta às temperaturas negativas, mais severo será o prejuízo (SANGHERA et al., 2011).

As plantas desenvolveram uma variedade de respostas às temperaturas extremas que minimizam os danos e promovem a manutenção do equilíbrio celular (KOTAK et al., 2007). Quando expostas às baixas temperaturas as plantas tendem a usar sistemas antioxidantes enzimáticos para lidar com os efeitos nocivos (ALMESELMANI et al., 2006).

Muitos trabalhos têm explorado a relação existente entre a tolerância ao estresse de plantas sob baixas temperaturas com atividades enzimáticas dos sistemas antioxidantes nos tecidos vegetais, e têm revelado que o reforço dessa defesa confere melhor tolerância ao estresse oxidativo (HUANG et al., 2005; ALMESELMANI et al., 2006; SUZUKI et al., 2006).

Segundo Marur et al. (1994) tecidos vegetais quando submetidos a algum tipo de estresse mostram diversas alterações das vias metabólicas, podendo estas ocorrer em um destes três níveis: 1) perturbações das vias metabólicas levando a um acúmulo ou perdas de metabólicos; 2) alterações das atividades enzimáticas; 3) alterações dos padrões proteicos.

Temperaturas elevadas podem direta ou indiretamente injuriar proteínas vegetais, pela inativação de enzimas, por alterações na conformação de peptídeos ou por desestruturação de complexos em membrana. Uma das funções das proteínas de choque térmico está relacionada à prevenção da desnaturação de proteínas durante a desidratação celular (FERGUSON et al., 1990; NEPOMUCENO et al., 2002).

De maneira similar aos processos desencadeados por estresse com temperaturas altas, as baixas também podem produzir alterações no metabolismo

protéico (GIMALOV et al., 1996). As proteínas desempenham um papel fundamental na modulação da resposta da planta ao estresse. O aumento na síntese de certas proteínas em plântulas submetidas a baixas temperaturas em cultivares de feijoeiro tolerantes ao frio foi observado por Zaiter et al. (1994).

Para tolerar o estresse por baixas temperaturas, algumas plantas acumulam carboidratos e proteínas que firmam as membranas celulares durante a desidratação induzida por temperaturas baixas. Plantas de trigo e outros cereais de inverno por exemplo, acumulam sacarose e outros açúcares solúveis nas células sob baixas temperaturas, inibindo a formação de cristais de gelo (TAIZ; ZEIGER 2004).

Segundo Hurry et al. (1995) o acúmulo de açúcares solúveis representaria um mecanismo de adaptação das plantas ao frio, elevando a síntese de compostos com importantes funções associadas à manutenção do metabolismo basal durante o resfriamento. Do ponto de vista fisiológico, açúcares como frutanos parecem estar associados à proteção das plantas contra o frio e a seca, por atuarem na regulação osmótica da célula (VAN DEN ENDE et al. 2002). As adaptações das plantas ao resfriamento podem estar associadas à manutenção da estrutura da membrana plasmática, já que esta organela pode ser prejudicada caso essa adaptação não ocorra (Taiz & Zeiger 2004).

2.6 CARACTERIZAÇÃO DOS GENÓTIPOS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO

2.6.1 Mundo Novo IAC 376-4

Originou-se do cruzamento natural entre as variedades 'Sumatra' e 'Bourbon vermelho'. Possui boa adaptação às regiões altas, apresenta elevada rusticidade, vigor e produtividade. As plantas possuem porte alto e caule fino, o que favorece o arqueamento natural, estimulando o aparecimento de ramos ladrões e exigindo, portanto, maiores cuidados com a desbrota. É susceptível à ferrugem-do-cafeeiro e apresenta maturação precoce e uniforme. Há linhagens de 'mundo novo' que produzem frutos maiores (IAC, 2016).

2.6.2 Catuaí Vermelho

Originou-se a partir do cruzamento artificial entre as cultivares de *Coffea arabica* caturra amarelo IAC 7476 11 e mundo novo IAC 374 19, em Campinas, em 1949. As plantas apresentam bom vigor e porte baixo, o que proporciona alta capacidade produtiva e facilita o manejo da lavoura. Possui arquitetura cilíndrica e compacta e, devido a isso, torna-se mais protegida de ventos frios e o calor, sendo mais resistentes a períodos de estiagem. Porém, apresenta a floração e maturação dos frutos tardia e desuniforme devido à dificuldade de penetração de luz e calor (MATIELLO et al., 2009).

2.6.3 Genótipos h147 1-13; h0104-11-1; h0105-4-10; h0108-17-3; h0113-11-7

São genótipos de café arábicos portadores dos genes de *Coffea racemosa* e *Coffea liberica* em processo de melhoramento. O *Coffea liberica* é relatado como menos suscetível a baixas temperaturas, como observado por Serra (1994) e Triller et al. (2001). Assim como *Coffea racemosa*, que apresenta variabilidade genética para resistência à seca, baixas temperaturas e bicho mineiro (PETEK et al., 2005).

2.6.4 *Coffea Racemosa*

A espécie *Coffea racemosa* teve origem na África Oriental, é conhecida por "café-racemosa". Apresenta-se como uma árvore de pequeno porte, com folhas ovado-lanceoladas e flores axilares solitárias, sendo as sementes pequenas e desiguais. Características exploradas em programas de melhoramento genético de cafeeiros, que visa além do desenvolvimento de cultivares produtivas e resistentes a doenças, mas também na obtenção de variedades resistentes a insetos e tolerantes a condições de temperaturas extremas como secas e geadas. Vem sendo utilizada como importante fonte de variabilidade genética nestes programas, pois apresenta menor suscetibilidade a geada, como relatado por Soderholm e Gaskins (1981); Fazuoli et al. (1984); Bauer et al. (1990) e Bertrand et al. (2000).

2.6.5 Cultivares IPR 105 e IPR 100

Originárias do programa de melhoramento do IAPAR, a IPR 100 tem origem do cruzamento entre as cultivares Villa Sarchi e híbrido do timor CIFIC 832/2. Apresenta boa produtividade, porte baixo, resistência a nematoides e é bem adaptada às regiões quentes e solos de baixa fertilidade. A IPR 105 apresenta características das cultivares “Catuaí”, como cor e tamanho dos frutos, arquitetura média compacta com ramificação abundante. Apresenta resistência moderada a doenças no campo e suscetibilidade a fatores edafoclimáticos.

3 ARTIGO A

TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE CAFÉ A BAIXAS TEMPERATURAS

Juliandra Rodrigues Rosisca

ROSISCA, Juliandra Rodrigues. **Tolerância de genótipos de café a baixas temperaturas**. 2017. 57. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O cafeeiro é uma planta muito sensível às temperaturas extremas, principalmente durante os estágios iniciais de sua formação, sendo a geada um dos fatores mais limitantes da cultura. As geadas provocam danos nos cafeeiros que podem variar de acordo com intensidade, tempo de exposição, idade, status nutricional da planta e genótipos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância a temperaturas negativas em diferentes genótipos de café em ambiente controlado. O estudo foi realizado no campo experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), em Londrina. Foram avaliados dez genótipos de cafeeiros com sete meses de idade, provenientes de cruzamentos entre portadores dos genes da espécie *Coffea arabica* com *Coffea racemosa* e *Coffea liberica*, além das cultivares Mundo Novo e Catuaí e da espécie *C. racemosa*. As avaliações foram feitas pelo critério visual pós teste e por métodos quantitativos, por meio da medição antes e após a exposição às temperaturas mínimas de -2°C, -3°C, -4°C e -5°C de fotossíntese, razão entre a fluorescência variável e fluorescência máxima do fotossistema II (Fv/Fm), condutividade elétrica de solução embebida com discos de folha e análise de proteína. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, sendo 5 níveis de temperaturas e 10 genótipos, com 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias dos dados foram comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os resultados das diferentes avaliações foram consistentes, fornecendo critérios seguros para a avaliação dos genótipos tolerantes ao frio. Os danos foram detectados visualmente a partir de -3°C, com tolerância observada somente para a espécie *C. racemosa*. Não foram identificadas fontes de tolerância ao frio nos genótipos de cruzamentos entre *C. arabica* com *C. racemosa* e *C. liberica*. Temperaturas mínimas entre -3 e -4°C são as mais adequadas para testar tolerância ao frio em genótipos de café.

Palavras-chave: *Coffea*, geada, tolerância ao frio, avaliação visual, análises fisiológicas

ROSISCA, Juliandra Rogues. **Tolerância de genótipos de café a baixas temperaturas**. 2017. 57. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF COFFEE GENOTYPES TOLERANTS TO LOW TEMPERATURES

The coffee plant is very sensitive to extreme temperatures, especially during the early stages of its formation. Frost is one of the most limiting factors of the crop. Frosts cause damage to coffee trees that vary according to intensity, plant age, nutritional status, and duration of exposure. The objective of this work was to identify the tolerance to negative temperatures of selected genotypes of coffee in a controlled environment. The study was carried out in the experimental field of the Agronomic Institute of Paraná (IAPAR), in Londrina. Ten genotypes of seven - month - old coffee trees from crosses between *Coffea arabica* and *Coffea racemosa* and *Coffea liberica* genes, as well as the cultivars Mundo Novo and Catuaí and *Coffea racemosa* were evaluated. The evaluations consisted on post-test visual criterion, and quantitative methods, by means of the measurement before and after exposure to temperatures of -2°C, -3°C, -4°C and -5°C of photosynthesis, the ratio between the variable fluorescence and maximum fluorescence of photosystem II (Fv/Fm), electrical conductivity of solution soaked with leaf disks, and protein analysis. The experimental design was a completely randomized in a factorial scheme built with 5 temperature levels and 10 genotypes, with 4 replicates. Data were submitted to analysis of variance. The means were compared by the Scott-Knott test at 5% probability. The results of the different evaluations were consistent, providing reliable criteria for the evaluation of cold tolerant genotypes. Damage was detected visually from -3°C, with tolerance observed only for *C. racemosa* species. No sources of cold tolerance were identified in the genotypes of crosses between *C. arabica* and *C. racemosa* and *C. liberica*. Minimum temperatures between -3°C and -4°C are the most suitable for testing cold tolerance in coffee genotypes.

Key words: *Coffea*, frost, cold tolerance, visual evaluation, physiological analyses.

3.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café e o segundo maior consumidor do produto. Devido à sua importância para a economia brasileira, o uso de tecnologias adequadas para produção da cultura é de grande interesse dos setores público e privado.

As condições climáticas favorecem o cultivo do café em grande parte do país. Dentre os fatores abióticos que exercem maior influência na fisiologia do cafeeiro, destaca-se a temperatura. O café é particularmente sensível a temperaturas extremas, principalmente durante os estágios iniciais de sua formação.

Baixas temperaturas provocam danos nos cafeeiros que variam de acordo com intensidade, idade da planta, status nutricional e o tempo de exposição. Além disso, componentes do sistema fotossintético são afetados quando a planta é exposta a baixas temperaturas.

Os danos celulares nas plantas são causados pelo congelamento do líquido presente nos espaços intracelulares, com ruptura de membranas por compressão e extravasamento irreversível do citoplasma.

Diversos testes podem ser utilizados na avaliação da tolerância às baixas temperaturas em diversas espécies vegetais, principalmente associando métodos que avaliam diferentes respostas fisiológicas das plantas.

Assim, muitos trabalhos têm explorado a relação existente entre a tolerância ao estresse de plantas sob baixas temperaturas com atividades enzimáticas dos sistemas antioxidantes nos tecidos vegetais, e têm revelado que o reforço dessa defesa antioxidante confere melhor tolerância ao estresse oxidativo.

A tolerância ao frio pode ser uma característica genética, em que as plantas desenvolveram mecanismos com a finalidade de sobrevivência em ambientes de estresses abióticos, como o de baixas temperaturas.

As cultivares da espécie *Coffea arabica* plantadas no sul do Brasil apresentam baixa variabilidade genética para tolerância ao frio, devido a sua origem nas regiões tropicais da África. Entretanto, dentro do gênero *Coffea* existe variabilidade genética para tolerância ao frio, sendo espécies como *Coffea liberica* Var. Dewevrei e o *Coffea racemosa* referidas como muito promissoras.

O Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) possui cruzamentos avançados dessas espécies com cultivares de *Coffea arabica*, que estão em fase de

seleção em condições de campo. Há possibilidade de que genes para tolerância ao frio estejam incorporadas nessas linhagens em seleção. Assim, os objetivos deste trabalho foram avaliar as respostas foliares provocados por temperaturas negativas, avaliar alterações fisiológicas e bioquímicas decorrentes da exposição às temperaturas negativas e determinar a temperatura mínima letal para os diferentes genótipos avaliados.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Localização e Instalação do experimento

O experimento foi conduzido no campo experimental do Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR em Londrina, PR (23°23'S; 51°11'W, 585 m de altitude). O clima da região é do tipo Cfa, descrito como clima subtropical úmido com verão quente, segundo a classificação de Köppen. A temperatura média anual é de 21,1°C, a média do mês mais quente é 23,9°C (janeiro e fevereiro) e a média do mês mais frio é 16,9°C (junho). A precipitação média anual é de 1626 mm (IAPAR, 2016). O solo é Latossolo Vermelho Eutroférico (EMBRAPA, 1999).

3.2.2 Produção das mudas

As mudas foram produzidas em viveiro acondicionadas em tubetes, utilizando como cobertura tela de sombreamento com atenuação de 50% da luz incidente. Ao atingirem sete meses de idade, as mudas foram transplantadas para copos plásticos com capacidade de 700 mL, para completar seu desenvolvimento, quando foram submetidas aos tratamentos por baixas temperaturas. (Figura 1).



Figura 1. Produção das mudas de café em viveiro protegidas por tela de sombreamento (Rosisca, 2014).

3.2.3 Genótipos

Foram avaliados dez genótipos de cafeeiros de 7 meses de idade, sendo quatro genótipos de *Coffea arabica* portadores de genes de *Coffea racemosa* (H0104-11-1, H0105-4-10, H0108-17-3, H0113-11-7); três genótipos de *Coffea arabica* portadores de genes de *Coffea liberica* (H147/1; IPR 100; IPR 105); *Coffea racemosa*; ‘Catuaí Vermelho IAC 81’ e ‘Mundo Novo IAC 376-4’.

O genótipo “H147/1” é um híbrido F1 do cruzamento “34/13 - S353 4/5” x “110/5 – S4 Agaro”, sendo “34/13 - S353 4/5” um híbrido tetraploide entre *Coffea arabica* e *Coffea liberica*. Os genótipos ‘IPR 100’ e ‘IPR 105’ são cultivares de café derivadas de “Catuaí” x (“Catuaí” x “BA10”), sendo “BA10” um cafeeiro arábico portador de genes de *Coffea liberica*.

Os quatro genótipos de *Coffea arabica* portadores de genes de *Coffea racemosa* são progênies F2RC5, derivadas de retrocruzamentos de diferentes genótipos de café arábica com uma planta F2 derivada da progênie F1RC2 denominada C1195-5-6-2 c.950 Ep209 no Instituto Agrônomo de

Campinas (IAC). Esse genótipo foi obtido no IAC a partir da identificação de um híbrido F1 natural (C1195-5) entre *Coffea arabica* cv. Blue Mountain e *Coffea racemosa* (C1195).

O híbrido C1195-5 foi retrocruzado, naturalmente, duas vezes com *Coffea arabica* originando as progênes F1RC2 denominadas C1195-5-6-1 e C1195-5-6-2 (MEDINAFILHO et al., 1977), as quais foram utilizadas nos programas de melhoramento do Brasil visando transferir a resistência ao bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) para cultivares de café arábica por meio de retrocruzamentos.

No IAPAR, uma planta F2 (IAPAR 81185) do genótipo F1RC2 (C1195-5-6-2 c.950 Ep209) foi identificada como sendo tolerante às baixas temperaturas (SERA, 2015 comunicação pessoal) e efetuados vários retrocruzamentos de diferentes cultivares, visando transferir tolerância ao frio, bem como tolerância à seca e resistência ao bicho-mineiro (Tabela 1).

Tabela 1 – Genótipos de café arábica e portadores de genes de *Coffea racemosa* e *Coffea liberica* avaliados para baixas temperaturas.

Genótipos	Descrição e Origem ⁽¹⁾
H0104-11-1	Linhagem F ₃ de 'Catuaí IAC 81' x ['Tupi' x (C1195-5-6-2 x 'Tupi')]
H0105-4-10	Linhagem F ₃ de 'Acaiaí' x ['Tupi' x (C1195-5-6-2 x 'Tupi')]
H0108-17-3	Linhagem F ₃ de 'IPR 108' x ['Tupi' x (C1195-5-6-2 x 'Tupi')]
H0113-11-7	Linhagem F ₃ de 'IPR 104' x ['Tupi' x (C1195-5-6-2 x 'Tupi')]
H147/1	Linhagem F ₂ de 34/13 S353 4/5 x 110/5 S4 Agaro (diferenciador de raças de ferrugem portador dos genes S _{H2} , S _{H3} , S _{H4} e S _{H5}) ⁽²⁾
IPR 100	Cultivar derivada de 'Catuaí IAC 81' x ('Catuaí IAC 81' x IAC 1110-8) ⁽²⁾
IPR 105	Cultivar derivada de 'Catuaí IAC 81' x ('Catuaí IAC 81' x IAC 1110-8) ⁽²⁾
<i>Coffea racemosa</i>	Uma planta do banco de germoplasma do IAPAR
Mundo Novo IAC 376-4	Cultivar derivada de Sumatra x Bourbon Vermelho
Catuaí Vermelho IAC 81	Cultivar derivada de Caturra Amarelo x Mundo Novo

⁽¹⁾ C1195-5-6-2 c.950 Ep209 = planta F₂ do cruzamento [(*Coffea arabica* x *C. racemosa* C1195) x *C. arabica*] x *C. arabica*; 'Tupi' = 'Tupi IAC 1669-33'; 'Catuaí IAC 81' = 'Catuaí Vermelho IAC 81'; 'Acaiaí' = 'Acaiaí 474/4'.

⁽²⁾ Genótipos de café arábica portadores de genes de *Coffea liberica*.

3.2.4 Avaliações

Para a simulação das temperaturas mínimas, foi utilizado uma câmara de crescimento (referência comercial S.S. Cientific), localizada no Laboratório de Simulação de Ambientes, do setor de Ecofisiologia do IAPAR. As plantas foram acondicionadas na área útil de teste da câmara e submetidas às seguintes temperaturas mínimas: -2°C, -3°C, -4°C e -5°C. (Figura 2 e 3).

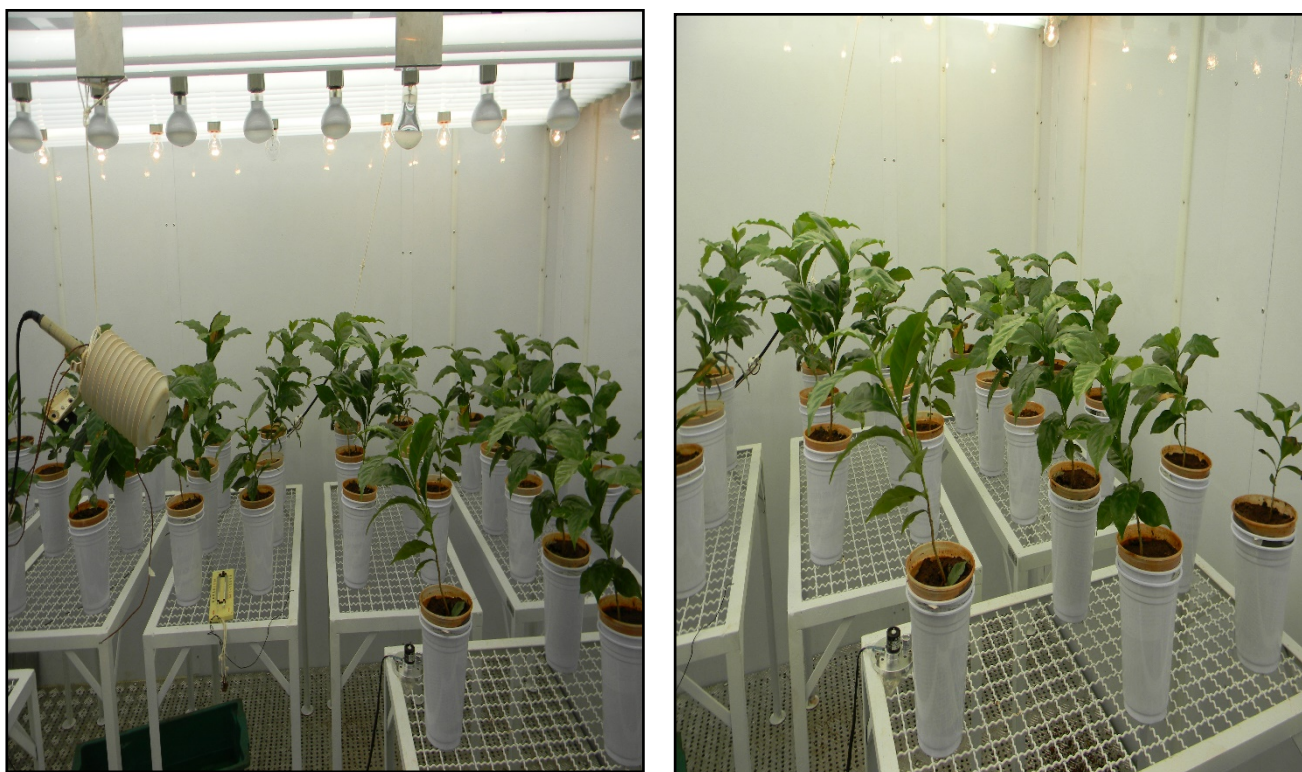


Figura 2. Disposição das plantas na área útil de teste da câmara de crescimento (Rosisca, 2014).

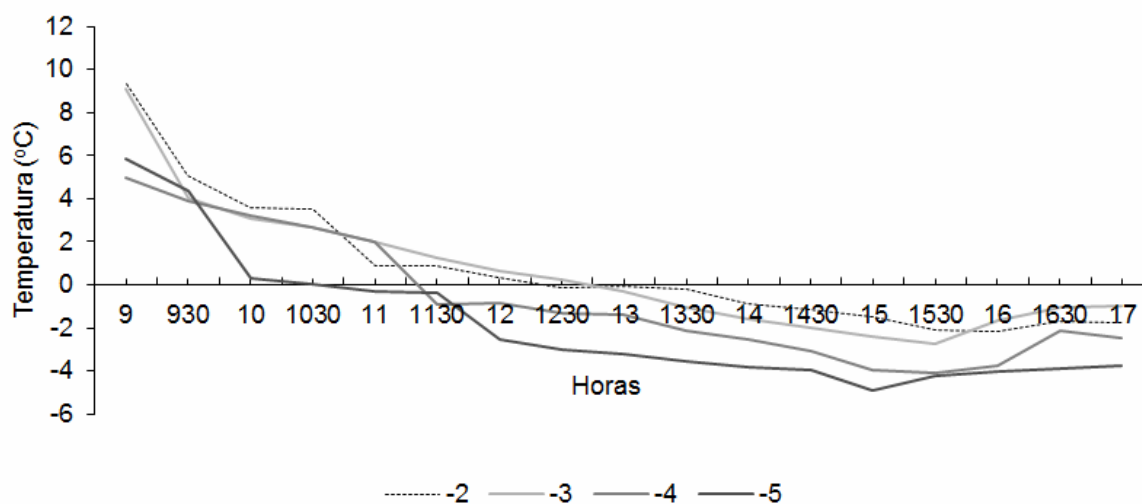


Figura 3. Temperaturas obtidas na câmara de crescimento (Referência comercial S.S. Cientific). (Rosisca, 2017).

A programação da câmara foi realizada de forma que reproduzisse as condições naturais de queda de temperatura, baseando-se em uma situação real de geada. A luminosidade no interior da câmara foi programada para simular um dia de aproximadamente 12 horas. A irradiância fotossintética foi programada para atingir zero às 6 horas e $123 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ às 6:30h, $429 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ às 10 horas, $573 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ às 12 horas e manter este valor até as 14 horas, decrescendo a partir de então até atingir o valor zero por volta das 18 horas. As mudas foram submetidas por um período de aclimatação de 24h, com temperatura mínima de 5°C e 60% de umidade relativa. Após esse período, a temperatura foi reduzida linearmente até atingir as temperaturas mínimas.

3.2.4.1 Análise de Danos Visuais

Os danos visuais causados pelas temperaturas mínimas foram avaliados 24 horas e 15 dias após a exposição às baixas temperaturas, utilizando uma escala de notas de 1 a 5, na qual: 1 = ausência de dano; 2 = dano leve (25% da área foliar danificada); 3 = dano moderado (50% da área foliar danificada); 4 = dano severo (75% da área foliar danificada) e 5 = morte (100% da área foliar danificada) (MANETI FILHO; CARAMORI, 1986; CARAMORI et al., 2002).

3.2.4.2 Análise de Fotossíntese

Foram realizadas avaliações de fotossíntese medidas por meio de um analisador de gás portátil IRGA, modelo comercial LC pro-SD, utilizando luz artificial com radiação fotossinteticamente ativa incidente na superfície foliar de $869 \mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. As avaliações foram realizadas após as plantas serem submetidas às temperaturas negativas, no terceiro par de folhas desenvolvidas.

3.2.4.3 Análise de Fluorescência

Avaliou-se a eficiência do fotossistema II por meio da razão entre a fluorescência variável e fluorescência máxima (F_v/F_m), utilizando um fluorômetro modelo comercial OS5p. A fluorescência inicial (F_0) foi obtida a uma saturação luminosa baixa ($<0,1 \mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e a fluorescência máxima foi determinada com um

pulso de fótons saturante de $4.000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ durante 0,3 segundos ajustado para frequência de 600 Hz. As avaliações foram realizadas após as plantas serem submetidas às baixas temperaturas, no terceiro par de folhas desenvolvidas.

3.2.4.4 Análise de Condutividade Elétrica Foliar

Para a realização do teste de condutividade elétrica extraíram-se dois discos foliares de $1,2 \text{ cm}^2$ das plantas de café submetidas às temperaturas negativas e testemunha que foram imersos em 30 ml de água destilada. A leitura da condutividade elétrica da solução, foi realizada em condutivímetro digital, em dois momentos: logo após a coleta dos discos e 24 horas após, mantidos a 25°C . Os dados foram expressos em $\mu\text{mhos cm}^{-1}$.

3.2.5 Análises Bioquímicas

3.2.5.1 Coleta e Armazenamento do Material Vegetal

Para a realização das análises bioquímicas foram retiradas amostras foliares das quatro repetições de cada genótipo após a exposição às baixas temperaturas, as quais foram armazenadas em saco de papel em freezer -80°C até o momento das análises.

3.2.5.2 Procedimentos para obtenção do extrato bruto

Pesou-se 0,250 g de tecido foliar de cada amostra, o qual foi macerado em 5 ml tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), PVP 4% (p/v), previamente resfriado a 4°C . Centrifugou-se por 10 min a 4°C em 7500 rpm, e o sobrenadante foi transferido para eppendorfs de 2 ml e mantidos em freezer -14°C até o momento das análises.

3.2.5.3 Determinação do teor de proteína solúvel total

A concentração de proteína solúvel presente nos extratos foi determinada em triplicata, utilizando-se o método Bradford (1976), o qual é baseado na mudança da coloração do reagente Coomassie Brilliant Blue G-250 quando

ligado a proteína. Para tanto foi realizada a curva de calibração do reagente, utilizando albumina de soro bovino (BSA 0 – 15 $\mu\text{g. } \mu\text{L}^{-1}$) como padrão. A concentração de proteínas totais foi calculada pela comparação das leituras dos materiais com as obtidas na curva padrão, e expressa em mg de proteína g^{-1} de matéria fresca.

3.2.6 Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, sendo 5 níveis de temperaturas e 10 genótipos, com 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias dos dados foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise visual mostraram que não houve diferença estatística entre os genótipos testados na temperatura ambiente e na temperatura de -2°C , quando avaliados 24 horas após a exposição às baixas temperaturas (Tabela 2). Na temperatura de -3°C , o genótipo H147 1-13, foi mais sensível ao frio do que os demais, embora todos apresentassem danos leves.

Tabela 2 – Valores médios dos danos visuais avaliados 24 horas e 15 dias após as plantas serem submetidas às temperaturas mínimas de -2, -3, -4, e -5°C .

Genótipos	Após 24h									
	Temperaturas ($^{\circ}\text{C}$)									
	Ambiente		-2		-3		-4		-5	
Mundo novo	1,00	Ba	1,00	Ba	1,00	Bb	3,50	Aa	4,00	Aa
Catuaí vermelho	1,00	Ca	1,00	Ca	1,00	Cb	3,25	Ba	4,00	Aa
H147 1-13	1,00	Ca	1,00	Ca	1,75	Ba	3,50	Aa	4,00	Aa
H0706 5-1-1	1,00	Ba	1,00	Ba	1,00	Bb	3,50	Aa	4,00	Aa
H0706 9-1-10	1,00	Ba	1,00	Ba	1,00	Bb	4,00	Aa	4,00	Aa
H0706 13-1-3	1,00	Ba	1,00	Ba	1,00	Bb	3,50	Aa	4,00	Aa
H0706 27-2-2	1,00	Ba	1,00	Ba	1,00	Bb	3,75	Aa	4,00	Aa
<i>C. racemosa</i>	1,00	Ba	1,00	Ba	1,00	Bb	1,50	Bb	3,00	Ab
IPR 105	1,00	Ca	1,00	Ca	1,00	Cb	3,25	Ba	4,00	Aa
IPR 100	1,00	Ba	1,00	Ba	1,00	Bb	3,00	Aa	4,00	Aa
CV: 17,28										
Genótipos	Após 15 dias									
	Temperaturas ($^{\circ}\text{C}$)									
	Ambiente		-2		-3		-4		-5	
Mundo novo	1,00	Da	2,50	Cb	1,00	Dc	3,50	Bb	5,00	Aa
Catuaí vermelho	1,00	Da	2,25	Cb	1,00	Dc	3,75	Bb	5,00	Aa
H147 1-13	1,00	Ca	3,00	Ba	2,75	Ba	4,50	Aa	5,00	Aa
H0706 5-1-1	1,00	Ea	3,00	Ca	2,00	Db	3,75	Bb	5,00	Aa
H0706 9-1-10	1,00	Da	2,50	Cb	1,00	Dc	4,00	Ba	5,00	Aa
H0706 13-1-3	1,00	Da	3,00	Ba	2,00	Cb	3,50	Bb	5,00	Aa
H0706 27-2-2	1,00	Ea	3,00	Ca	2,00	Db	3,75	Bb	5,00	Aa
<i>C. racemosa</i>	1,00	Ca	3,00	Aa	2,00	Bb	1,50	Bc	3,00	Ab
IPR 105	1,00	Da	3,00	Ba	2,00	Cb	3,50	Bb	5,00	Aa
IPR 100	1,00	Ea	3,00	Ca	2,00	Db	4,00	Ba	5,00	Aa
CV: 14,43										

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% probabilidade.

Quando os cafeeiros foram testados a -4°C , tanto na avaliação 24 horas quanto 15 dias após a exposição as baixas temperaturas, *Coffea racemosa* foi

o que apresentou as melhores notas, mostrando ser o mais tolerante dentre todos os genótipos avaliados. O mesmo aconteceu nos dois períodos de avaliação na temperatura de -5°C .

Foi observado que as notas médias dos danos foliares foram maiores nas avaliações após 15 dias do estresse do que após 24 horas. Nas temperaturas de -2°C e -3°C , os genótipos não foram danificados quando avaliados após 24 horas. Entretanto, nas avaliações após 15 dias, foram evidenciados danos foliares leves a moderados nas mesmas temperaturas.

Os danos foram severos somente a partir de -4°C , sendo que a -5°C os danos foram muitos severos, com exceção de *Coffea racemosa* que tolerou as temperaturas mais negativas.

Resultados similares foram obtidos por Manetti Filho e Caramori (1986), que observaram, em 'Catuaí Vermelho IAC 81', danos leves a moderados na temperatura -2°C , moderados a severos no -3°C e severos no -4°C .

Os resultados dessas análises demonstraram que temperaturas mínimas entre -3°C e -4°C poderiam ser utilizadas para melhor selecionar genótipos tolerantes, pois os danos foliares foram severos e mesmo assim foi possível destacar que *Coffea racemosa* como sendo mais tolerante do que os outros cafeeiros.

Já na temperatura de -5°C , os danos foram muito severos nos cafeeiros arábicos e moderados em *Coffea racemosa*, podendo fazer com que genótipos menos tolerantes sejam descartados no processo de seleção dos cafeeiros.

Ao serem avaliadas 15 dias após serem submetidas as temperaturas negativas de -4°C e -5°C , com exceção de *Coffea racemosa*, todos os genótipos foram sensíveis, incluindo H0104-11-1, H0105-4-10, H0108-17-3 e H0113-11-7 que são cafeeiros arábicos portadores de genes de *Coffea racemosa*.

Os genótipos H 147/1, IPR 100 e IPR 105, todos cafeeiros arábicos portadores de genes de *Coffea liberica* var. *liberica*, foram sensíveis ao frio, com destaque para "H 147/1" que apresentou uma tendência de ser mais sensível. É possível que *Coffea liberica* var. *liberica* seja sensível ao frio, ao contrário de *Coffea liberica* var. *dewevrei*, que mostrou tolerância em outros estudos (PETEK et al., 2005).

Neste estudo *Coffea racemosa* apresentou tolerância às temperaturas negativas, sendo que essa tolerância foi melhor observada na temperatura de -4°C , quando os danos foram severos em todos cafeeiros arábicos e nessa espécie os danos foram leves. Esses resultados corroboram com os observados em avaliações de campo efetuadas em julho de 2000, quando ocorreu uma geada severa (temperatura mínima no abrigo meteorológico de $-1,3^{\circ}\text{C}$) em Londrina-PR, em que *Coffea racemosa* e um híbrido triploide (*Coffea arabica* x *Coffea racemosa*) mostraram tolerância ao frio (SERA et al., 2001).

Os resultados da fotossíntese (Tabela 3) mostraram que na temperatura -2°C , o genótipo HO706 9-1-10 e a espécie *Coffea racemosa* não sofreram estresse com a diminuição da temperatura, apresentando valores estatisticamente iguais às análises de temperatura ambiente. Além disso, após exposição à temperatura de -3°C , apenas a espécie *Coffea racemosa* apresentou atividade fotossintética diferindo dos demais genótipos.

Já nas temperaturas de -4°C e -5°C não foi possível observar diferenças estatísticas entre os genótipos, pois eles já não estavam mais realizando fotossíntese. Esses resultados concordam com os obtidos por Damatta (2003), que observou que para a cultura do café as temperaturas entre -3°C e -4°C causam a morte dos tecidos, que pode se iniciar a partir de -2°C .

Tabela 3 – Valores médios de fotossíntese líquida ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) avaliados após as plantas serem submetidas às temperaturas mínimas de -2 , -3 , -4 , e -5°C .

Genótipos	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)									
	Ambiente		-2		-3		-4		-5	
Mundo novo	8,11	Aa	5,50	Bc	0,49	Cb	0,00	Ca	0,00	Ca
Catuaí vermelho	7,64	Ab	4,48	Bd	0,47	Cb	0,00	Ca	0,00	Ca
H147 1-13	7,39	Ab	5,69	Bc	0,52	Cb	0,00	Ca	0,00	Ca
H0706 5-1-1	8,26	Aa	5,79	Bc	0,49	Cb	0,00	Ca	0,00	Ca
H0706 9-1-10	8,10	Aa	7,70	Aa	0,43	Cb	0,00	Ca	0,00	Ca
H0706 13-1-3	7,60	Ab	6,48	Bb	0,38	Cb	0,00	Ca	0,04	Ca
H0706 27-2-2	8,61	Aa	6,83	Bb	0,72	Cb	0,00	Ca	0,03	Ca
C. racemosa	8,39	Aa	7,35	Aa	3,73	Ba	0,00	Ca	0,09	Ca
IPR 105	7,51	Ab	6,48	Bb	0,60	Cb	0,00	Ca	0,13	Ca
IPR 100	7,14	Ab	6,20	Bb	0,32	Cb	0,00	Ca	0,08	Ca
CV: 15,52										

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% probabilidade.

Resultados semelhantes obtidos neste trabalho são comparáveis também com os obtidos por Siebeneichler et al (1998), que observaram decréscimo da fotossíntese líquida em função do estresse por baixas temperaturas em duas cultivares de feijão. Segundo Bagnall et al. (1988), a fotossíntese em plantas submetidas a baixas temperaturas poderia ser inibida pelo acúmulo de carboidratos nas folhas, por um mecanismo de retroalimentação, em função da redução da sua atividade mitocondrial, ou ainda em virtude das baixas condutâncias difusivas (DAMATTA et al., 2001; SILVA et al., 2004).

Alguns autores afirmam que o estresse por frio proporciona maior eficiência da atividade da rubisco, devido haver maior incremento na solubilidade do CO₂ comparado ao O₂ (DOUCE; HELDT, 2000). Todavia, Hendrickson et al. (2004) observaram que em videiras sob estresse de frio houve ineficiência da atividade da rubisco na carboxilação. Em um trabalho posterior Hendrickson et al. (2004b) voltaram a confirmar que baixas temperaturas em videiras reduzem a fotossíntese devido aos fatores bioquímicos.

Os resultados da fluorescência mostraram que os valores da eficiência fotoquímica da razão entre a fluorescência variável e fluorescência máxima do PSII (F_v/F_m) foram estatisticamente iguais nos tratamentos de temperatura ambiente, -2°C e -3°C, variando entre 0,72 e 0,76, indicando ausência de fotoinibição, conforme também relatado por Ribeiro et al. (2009) que trabalhou com estresse hídrico em plantas de citrus (Tabela 4).

As respostas dos genótipos ficaram evidentes a partir da temperatura -4°C, com decréscimo da relação F_v/F_m , com exceção do genótipo H0706 9-1-10, que só apresentou diminuição significativa da razão F_v/F_m sob -5°C. Conforme relatado por Björkman e Demming (1987) a razão F_v/F_m de uma planta com seu aparelho fotossintético intacto varia entre 0,75 e 0,85, sendo que a diminuição desta relação é um indicativo de dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII.

Tabela 4 - Valores médios da razão entre a fluorescência variável e fluorescência máxima (Fv/Fm) avaliados após as plantas serem submetidas às temperaturas mínimas de -2, -3, -4 e -5°C.

Genótipos	Temperatura (°C)									
	Ambiente		-2		-3		-4		-5	
Mundo novo	0,750	Aa	0,730	Aa	0,730	Aa	0,660	Ba	0,600	Cb
Catuaí vermelho	0,750	Aa	0,730	Aa	0,740	Aa	0,650	Ba	0,680	Ba
H147 1-13	0,730	Aa	0,740	Aa	0,720	Aa	0,630	Ba	0,670	Ba
H0706 5-1-1	0,750	Aa	0,730	Aa	0,740	Aa	0,620	Ba	0,610	Ba
H0706 9-1-10	0,740	Aa	0,750	Aa	0,740	Aa	0,690	Aa	0,550	Cb
H0706 13-1-3	0,730	Aa	0,750	Aa	0,730	Aa	0,660	Ba	0,660	Ba
H0706 27-2-2	0,740	Aa	0,730	Aa	0,740	Aa	0,620	Ba	0,620	Ba
<i>C. racemosa</i>	0,740	Aa	0,750	Aa	0,730	Aa	0,600	Ba	0,600	Ba
IPR 105	0,740	Aa	0,750	Aa	0,720	Aa	0,640	Ba	0,560	Cb
IPR 100	0,760	Aa	0,750	Aa	0,740	Aa	0,630	Ba	0,640	Ba
CV: 6,29										

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% probabilidade.

Resultados semelhantes foram obtidos por Yusuf et al. (2010) avaliando estresse abiótico em plantas de *Brassica juncea*, e Rapacz et al. (2007) com plantas de trigo, que também indicaram que a resposta da fluorescência das clorofilas foi manifestada pela redução de Fv/Fm quando submetidas ao estresse por baixas temperaturas.

Para a condutividade elétrica, o material *Coffea racemosa* não está incluso neste teste, assim, foi possível observar que na condutividade inicial, o genótipo E0706 9-1-10 e Catuaí vermelho não diferiram estatisticamente entre as temperaturas ambiente, -2°C, -3°C e -4°C, mas diferiram dos demais genótipos, na temperatura -5°C apresentando as menores leituras de condutividade inicial, indicando menor grau de estresse em relação aos demais (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{mhos}^{-1}/\text{cm}$) dos discos foliares imersos em água destilada, realizado após as plantas serem submetidas às temperaturas mínimas de -2, -3, -4, e -5°C.

Genótipos	Condutividade elétrica inicial									
	Ambiente		Temperatura							
			-2	-3	-4	-5				
Mundo novo	3,14	Ac	4,67	Ab	4,29	Ab	4,29	Ab	3,54	Ae
Catuaí vermelho	3,52	Bc	4,02	Bb	4,35	Bb	4,34	Bb	6,16	Ad
H147 1-13	3,83	Bc	3,83	Bb	4,89	Bb	4,31	Bb	7,66	Ac
H0706 5-1-1	5,52	Bb	5,52	Ba	4,72	Bb	5,47	Ba	8,88	Ac
H0706 9-1-10	7,85	Ba	5,85	Ca	4,22	Db	4,45	Db	12,54	Aa
H0706 13-1-3	3,85	Bc	3,85	Bb	4,44	Bb	3,44	Bb	10,70	Ab
H0706 27-2-2	5,20	Bb	5,20	Ba	6,62	Ba	5,62	Ba	12,71	Ab
IPR 105	4,62	Bc	4,62	Bb	4,55	Bb	4,47	Bb	13,15	Aa
IPR 100	6,15	Bb	4,90	Ca	4,54	Cb	5,85	Ba	12,33	Aa
CV: 17,32										
	24 horas após									
	Ambiente		Temperatura							
			-2	-3	-4	-5				
Mundo novo	9,83	Bb	9,67	Bb	9,94	Bb	9,41	Ba	18,89	Ab
Catuaí vermelho	12,19	Bb	12,19	Bb	11,83	Ba	11,20	Ba	22,28	Aa
H147 1-13	11,88	Bb	12,88	Bb	11,60	Ba	10,34	Ba	17,00	Ab
H0706 5-1-1	12,94	Bb	12,94	Bb	10,11	Bb	12,64	Ba	18,14	Ab
H0706 9-1-10	18,52	Ba	17,08	Ba	11,45	Ca	10,45	Ca	22,52	Aa
H0706 13-1-3	11,91	Bb	11,97	Bb	10,31	Bb	10,75	Ba	18,22	Ab
H0706 27-2-2	12,09	Bb	12,09	Bb	13,29	Ba	13,54	Ba	18,70	Ab
IPR 105	13,19	Bb	12,74	Bb	12,66	Cb	10,43	Ca	22,15	Aa
IPR 100	17,79	Ba	17,90	Ba	13,51	Cb	14,68	Ca	22,84	Aa
CV: 15,10										

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% probabilidade.

No teste de condutividade realizado 24 horas após a exposição às baixas temperaturas verificaram-se valores elevados de condutividade inicial a -2°C para o genótipo H0706 9-1-10. Como esse método é destrutivo, pode ter havido danos mais acentuados na retirada dos discos de folhas que fizeram com que houvesse maior troca com a solução. Somente sob a temperatura de -5°C ficaram evidentes as diferenças, indicando danos severos aos tecidos dos discos de folhas.

A análise de correlação entre os testes para a variável temperatura, independente do genótipo, revelou que houve correlações significativas, indicando que os mesmos são válidos para avaliar respostas a temperatura para o café (Tabela 6).

Correlações significativas e positivas foram observadas entre a avaliação visual com a condutividade elétrica inicial, bem como entre fotossíntese e fluorescência da clorofila indicando que quanto maior as notas visuais com o aumento do estresse, maior foi também a condutividade elétrica, e quanto menor a fotossíntese menor foi a fluorescência.

Correlações significativas e negativas foram observadas entre fotossíntese e avaliação visual, e fluorescência da clorofila e avaliação visual, indicando que com a diminuição da temperatura e aumento do estresse pelas plantas, menor foi a atividade fotossintética e de fluorescência e maior as notas observadas dos danos visuais as plantas. Portanto, esses critérios podem ser utilizados para identificação de temperaturas mínimas associadas a danos em genótipos de café.

Tabela 6 – Correlação entre os testes de fluorescência variável e máxima (Fv/Fm), teste de condutividade inicial e 24 horas após, análise visual 24 horas e 15 dias após e fotossíntese nos genótipos de café submetidos às temperaturas negativas de (-2, -3, -4, e -5°C).

	Condutividade		Análise Visual		Fluorescência
	Inicial	24 Hrs	24 Hrs	15 Dias	Fv/Fm
C 24 Hrs	0,94*				
V 24 Hrs	0,71*	0,58			
V 15 Dias	0,74*	0,64	0,88*		
Fv/Fm	-0,68	-0,53	-0,99*	-0,87*	
Fotossíntese	-0,43	-0,14	-0,75*	-0,68	0,78*

*Significativo ao nível de 5% probabilidade.

De acordo com Stirbet e Govindjee (2011), a fluorescência da clorofila tem sido amplamente utilizada para a avaliação dos danos no metabolismo fotossintético mediante condições de estresse, uma vez que o fotossistema II (FSII) é um dos principais alvos do estresse por baixas temperaturas (BERTAMINI et al., 2007; BRESTICA et al., 2012).

A emissão da fluorescência avalia o funcionamento do fotossistema II, indicando possíveis níveis do estresse. A medição da fluorescência da clorofila detecta o desequilíbrio energético e metabólico da fotossíntese (ARAUS et al., 1998). Segundo Bolhar-NordenKampf et al. (1989), em geral o rendimento quântico

máximo do fotossistema II pode variar em uma faixa de 0,75 a 0,85 em plantas não submetidas a estresses. Essa relação é altamente correlacionada com o rendimento fotossintético das folhas, em que a diminuição da relação F_v/F_m é um excelente indicador de efeito fotoinibitório quando as plantas estão submetidas a qualquer tipo de estresse (YANG et al., 1996).

A medição da fluorescência pode ser considerada como uma medida complementar às medições do processo fotossintético. A emissão da fluorescência mostra o nível da energia de excitação nos complexos pigmentos/proteínas, energia esta que controla a fotossíntese. Por meio da fluorescência, é possível obter informações detalhadas sobre a estrutura, a distribuição de energia e função do aparato fotossintético, em especial o fotossistema II (SCHOLLES; HORTON, 1993; STRASSER et al., 2000).

Critchley et al. (1998) atribuiu valores de F_v/F_m inferiores a 0,72 ao fenômeno da fotoinibição devido a exposição das plantas a baixas temperaturas. Nessa situação as plantas reduzem a capacidade fotossintética, aumentam a probabilidade de excitação do PSII e reduzem a capacidade de sua recuperação. Há menor eficiência na síntese da proteína D1 nos centros de reação, o que reduz a proteção contra a fotoinibição.

Baixas temperaturas levam a formação de radicais superóxidos nos cloroplastos, alterando as membranas pela peroxidação lipídica, como no caso das cadeias de ácidos graxos das membranas dos tilacóides, ricas em poli-insaturados, altamente vulneráveis à peroxidação (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009). Compostos formados da peroxidação induzem a rigidez das membranas, podendo ocasionar a morte das células (STEPONKUS, 1984).

A análise bioquímica mostrou que houve aumento de proteína para a temperatura -2°C para o genótipo H0706 5-1-1, na temperatura -3°C para o genótipo H147 1-13 e na temperatura -5°C para a espécie *Coffea racemosa*. Esse aumento de proteína nos genótipos avaliados pode indicar um mecanismo de tolerância às baixas temperaturas, pois, ao aumentar o teor de proteína das células, o potencial osmótico do citoplasma aumenta, diminuindo a temperatura de congelamento da célula (TAIZ; ZEIGER, 2006). Além disso, diversos autores também observaram mudanças nas proteínas como sendo uma característica inerente da tolerância ao frio (GUY; HASKELL, 1988; TSENG; LI, 1990) (Tabela 7).

Como observado no presente estudo, o aumento da produção de proteína pode ser um indicativo de proteção celular ao resfriamento e que pode ser expresso pelo aumento de carboidratos e algumas proteínas específicas, crioprotetores que estabilizam proteínas e lipídios das membranas durante a desidratação induzida por temperaturas baixas. (Taiz & Zeiger 2004).

Tabela 7 – Valores médios de proteína (mg proteína g⁻¹ de matéria fresca), em genótipos de café após as plantas serem submetidas às temperaturas mínimas de de -2, -3, -4, e -5°C.

Genótipos	Temperatura (°C)									
	Ambiente		-2		-3		-4		-5	
Mundo novo	5,27	Aa	3,57	Ba	3,71	Bb	2,37	Ca	1,99	Cb
Catuaí vermelho	4,11	Ab	3,90	Aa	4,10	Ab	2,53	Ba	0,67	Cc
H147 1-13	4,60	Aa	3,32	Ba	5,39	Aa	2,69	Ba	1,42	Cc
H0706 5-1-1	3,23	Bb	4,37	Aa	2,50	Cc	1,99	Cb	1,64	Cb
H0706 9-1-10	4,93	Aa	3,91	Aa	4,37	Ab	2,67	Ba	0,45	Cc
H0706 13-1-3	5,52	Aa	3,94	Ba	4,38	Bb	2,74	Ca	1,22	Dc
H0706 27-2-2	3,94	Ab	4,05	Aa	4,36	Ab	1,47	Bb	1,67	Bb
<i>C. racemosa</i>	4,05	Ab	3,49	Aa	3,95	Ab	1,19	Cb	2,87	Ba
IPR 105	3,76	Ab	3,91	Aa	4,20	Ab	1,90	Bb	0,96	Cc
IPR 100	3,92	Ab	3,57	Aa	4,10	Ab	2,88	Ba	1,18	Cc
CV: 18,70										

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% probabilidade.

3.4 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

Os danos foram observados pelo critério visual a partir de -3°C , com tolerância somente para a espécie *Coffea racemosa* à temperatura de -4°C ;

As avaliações por meio de métodos quantitativos não identificaram fontes de tolerância ao frio nos genótipos avaliados com exceção de *Coffea racemosa*;

Temperaturas negativas entre -3°C e -4°C são as mais adequadas para testar tolerância ao frio em genótipos de café.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL - ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. Café. São Paulo: Instituto FNP, p.202-205, 2011.

ANDROCIOLI-FILHO, A.; SIQUEIRA, R.; CARAMORI, P. H.; PAVAN, M. A.; SERA, T.; SODERHOLM, P. K. Frost injury and performance of coffee at 23°S in Brazil. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 22, p. 71-74, 1986.

ANTHONY, F. et al. Detection by simple sequence repeat markers of introgression from *Coffea canephora* in *Coffea arabica* varieties. *Plant Breeding*, Berlin, v. 121, n. 6, P. 542-544, 2002.

BATISTA-SANTOS, P.; LIDON, F.C.; FORTUNATO, A.; LEITÃO, A. E.; LOPES, E.; F. PARTELLI, F. L.; RIBEIRO, A. I.; RAMALHO, J. C. The impact of cold on photosynthesis in genotypes of *Coffea* spp.—Photosystem sensitivity, photoprotective mechanisms and gene expression. **Journal of Plant Physiology**, Amsterdam, v. 168, n. 1, p. 792-806, 2011.

BAUER, H., WIERER, R., HATHEWAY, W. H., LARCHER, W. Photosynthesis of *Coffea arabica* after chilling. **Physiologia Plantarum**, Londres, v. 64, n.4, p. 449-454, 1985.

BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M.A.; SANTOS, O.S. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 8, p. 1531-1540, 2000.

BERGONCI, J.I.; PEREIRA, P.G. Comportamento do potencial da água na folha e da condutância estomática do milho em função da fração de água disponível no solo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 10, n. 2, p. 229-235, 2002.

CARAMORI, P. H; SERA, T. Influência do porte do cafeeiro no dano provocado por geada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 7, 1979. **Anais...** Rio de Janeiro: IBC, 1979. p. 133-134.

CAMARGO, A. P. Zoneamento de aptidão climática para a cafeicultura de arabica e robusta no Brasil. In: Fundação IBGE, Recursos, **Meio Ambiente e poluição**, 1977, p. 68-76.

CAMARGO, P.; SALATI, E. Determinação da temperatura letal de folhagem de cafeeiro em noite de geada. **Bragantia**, Campinas, v. 25, p. 61-63, 1966.

CONAB: Convênio Ministério da Agricultura – Secretaria da Produção e Comercialização. **Acompanhamento da safra brasileira de café**, safra 2016, Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_01_09_17_43_49_boletim_cafe_janeiro_2016.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2017.

CARAMORI, P. H.; CAVICLIONI, J. H.; WHEGE, M. S.; GONÇALVES, S. L.; FARIA R. T.; ANDROCIOLI FILHO, A.; SERA, T.; CHAVES, J. C. D.; KOGUISHI, M. S. Zoneamento de riscos climáticos para a cultura do café (*Coffea arabica* L.) no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v. 9, Número especial: Zoneamento Agrícola. p. 486-494, 2001.

CARAMORI, L. P. C.; CARAMORI, P. H.; MANETTI FILHO, J. Effect of leaf water potential on cold tolerance of *Coffea arabica* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 4, p. 439-443, 2002.

CAMARGO, A. P. **Clima. In: Cultura do café no Brasil**. Manual de recomendações. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro do Café, P. 20-35. 1974.

CARAMORI, P. H.; MANETTI FILHO, J. **Proteção dos cafeeiros contra geadas**: Circular técnica, 79. Londrina, IAPAR, 1993. 28p.

CARVALHO, C.H.S.; FAZUOLI, L.C.; CARVALHO, G.R.; GUERREIRO FILHO, O.; PEREIRA, A.A.; ALMEIDA, S.R. de; MATIELLO, J.B.; BARTHOLO, G.F; SERA, T.; MOURA, W.M.; MENDES, A.N.G.; REZENDE, J.C.; FONSECA, A.F.A. da; FERRÃO, M.A.G.; FERRÃO, R.G.; NACIF, A.P.; SILVAROLLA, M.B.; BRAGHINI, M.T. Cultivares de café arábica de porte baixo. In: CARVALHO, C.H.S. 31 de. (Ed.). **Cultivares de café**: origem, características e recomendações. Brasília: Embrapa Café, p.155-252. v.1. 2008.

DAMATTA, F. M.; LOOS, R. A.; RODRIGUES, R.; BARROS, R. S. Actual and Photosynthetic rates of tropical crops species. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 24-32, 2001.

DAMATTA, F.M. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 86, n. 2-3, p. 99-114, 2004.

DAMATTA, F. M.; MAESTRI, M.; MOSQUIM, P. R.; BARROS, R. S. Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*) as affected by winter and summer conditions. **Plant Science**, Amsterdam, v. 128, n. 1, p. 43-50, 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, n. 1, p. 55-81, 2006.

DAMATTA, F. M.; RENA, A. B. Relações hídricas no cafeeiro. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1, 2000, Poços de Caldas. Palestras. Brasília, DF: Embrapa Café, p. 9 – 44, 2000.

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, n.1, p.55- 81, 2006.

DAMATTA, F.M.; RENA, A.B. Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. In: ZAMBOLIM, L. **O estado da arte de tecnologias na produção do café**. Viçosa: UFV, 2002. p.93-135.

DAMATTA, F.M.; RONCHI, C.P.; MAESTRI, M.; BARROS, R.S. Ecophysiology of coffee growth and production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v.19, n.4, p.485-510, 2007.

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, n. 1, p. 55-81, 2006.

DAVIS, A. P. et al. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 152, n. 4, p. 465-512, 2006.

DIAS, P. C. et al. Morphological and Physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 12, p. 1639-1647, 2007.

EMBRAPA CAFÉ. Histórico. 2004. Disponível em: <<http://www22.sede.embrapa.br/cafe/unidade/historico.htm>>. Acesso em: 15 de Nov. 2016.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. O agronegócio café no Brasil e no mundo. Brasília, DF. 2004. <http://www.cenargen.embrapa.br/biotec/genomacafe/historico.html>. Acesso em: 15 de Nov. 2016).

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FORTUNATO, A. S., LIDON, F. C., BATISTA-SANTOS, P., LEITÃO, A. E., PAIS, I. P., RIBEIRO, A. I., RAMALHO, J. C. Biochemical and molecular characterization of the antioxidative system of *Coffea* sp. under cold conditions in genotypes with contrasting tolerance. **Journal of Plant Physiology**, Amsterdam, v. 167, n. 1, p. 333-342, 2010.

GUY, C.; HASKELL, D. Detection of polypeptides associated with the cold acclimation process in spinach. **Electrophoresis**, Londres, v.9, p.787-796, 1988.
GRODZKI, L.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D.; GOMES, J. Riscos de ocorrência de geada no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 4, n. 1, p. 93-99, 1996.

ICO - INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION, London. Exports by exporting countries to all destinations. Disponível em: <http://www.ico.org/prices/m1.htm>. Acesso em: 20 nov. 2016.

JOUBE, L.; ENGELMANN, F.; NOIROT, M.; CHARRIER, A. Evaluation of biochemical markers (sugar, proline, malonaldehyde and ethylene) for cold

sensitivity in microcuttings of two coffee species. **Plant Science**, Amsterdam, v. 91, p. 109-116, 1993.

KASPRZEWSKA, A. Plant chitinases - regulation and function. **Cellular and Molecular Biology Letters**, Wrocław, v. 8, n. 2, p. 809-824, 2003.

LARCHER, W. Effects of low temperature stress and frostinjury on plant productivity. In: Johnson CB (ed). **Physiological Processes Limiting Plant Productivity**. London: Butterworths, p.253-269, 1981.

LARCHER, W. (2004) **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 531 p.

<http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/cafe/centrocafe4.php> acessado 20/11/2016

MANETTI FILHO, J.; CARAMORI, P. H. Desenvolvimento de uma câmara para simulação de temperaturas baixas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 10, p. 1005-1008. 1986.

MATIELO, J.B. **O Café: do cultivo ao consumo**. São Paulo: Globo, 1991.

MEDINA FILHO, H. P.; CARVALHO, A.; MONACO, L. C. Melhoramento do cafeeiro: XXXVII. Observações sobre a resistência do cafeeiro ao bicho mineiro. **Bragantia**, Campinas, v. 36, p. 131-137, 1977.

MENDES, A. N. G.; GUIMARAES, R. J. Genética e Melhoramento do cafeeiro. Lavras: **UFLA/FAEPE**, P. 99. 1998.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Agronegócio café**: relatórios e estatísticas. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: Jun. 2016.

MOREIRA, M.A.; ADAMI, M.; RUDORFE, B.F.T.; Análise espectral e temporal da cultura do café em imagens landsat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, C, v. 39, n.3, p. 223-231, mar 2008.

PARTELLI, F. L.; VIEIRA, H. D.; VIANA, A. P.; BATISTASANTOS, P. RODRIGUES, A. P.; LEITÃO, A. E.; RAMALHO, J. C. Low temperature impact on photosynthetic parameters of coffee genotypes, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 11, p. 1404-1415, nov. 2009.

PARTELLI, F. L.; VIEIRA, H. D.; VIANA, A. P.; BATISTASANTOS, P. RODRIGUES, A. P.; LEITÃO, A. E.; RAMALHO, J. C. Low temperature impact on photosynthetic parameters of coffee genotypes, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 11, p. 1404-1415, nov. 2009.

PETEK, M. R.; SERA, T.; ALTEIA, M. Z. Selection for frost resistance in *Coffea arabica* progenies carrying *C. liberica* var. *dewevrei* genes. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 5, p. 355-362, 2005.

PEREIRA, A.R. MENDONÇA, L. M. V. L.; MENDES, R. G. F. A.; BOREM, F. M.; MARQUES, E. R. Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arabica* L. Suscetíveis e resistentes à *Hemileia vastatrix* Berg et BR. **Ciência e Agrometeorologia**, Lavras, v 31, n. 2 mar./abr. 2001.

PETEK, M. R.; SERA, T.; ALTEIA, M. Z. Genetic variability for frost resistance among *Coffea* accessions assessed in the field and in a cold chamber. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 1, p. 15-21. 2005b.

PETEK, M. R.; SERA, T.; ALTEIA, M. Z. Selection for frost resistance in *Coffea arabica* progenies carrying *Coffea liberica* var. *Coffea dewevrei* genes. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 5, p. 355-362, 2005.

PETEK, M. R.; SERA, T.; ALTEIA, M. Z. Genetic variability for frost resistance among *Coffea* accessions assessed in the field and in a cold chamber. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 1, p. 15-21. 2005.

PRAXEDES, S. C. et al. 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**, Amsterdam, v. 56, n. 3, p. 263-273, 2006.

SEAB – Secretaria da Agricultura e Abastecimento – Departamento de Economia Rural. Estimativa de safra: **Comparativo de área, produção e produtividade no Paraná nas safras 12/13 - 13/14**. Disponível em: <<http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=74>>. Acesso em: 22 ago. 2016.

SMITH, A. W. **Introduction**. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Eds), *Coffee*, Chemistry. Londres: Elsevier, 1989 v. 1. p. 1-41.

SMITH, A. W. Introduction. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. *Coffee*, v. 1. **Chemistry**. Londres: Elsevier, 1989. p. 1-41.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia do Estresse: resfriamento e congelamento. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. (Eds). **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 738-774.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2006. p.449-484.

TSENG, M.J.; Li, P.H. Changes in protein synthesis and translatable messenger RNA populations associated with ABA induced cold hardiness in potato (*Solanum commersonii*). **Physiologia Plantarum**, Londres, v. 81, p. 349-358, 1991.
WRIGLEY, G. *Coffee*. New York: **Longman Scientific e Technical**, 1988. 639p.