

FELIPE RODRIGUES MIRANDA

**POTENCIAL DE CAFEIROS HÍBRIDOS DE TIMOR PARA TOLERÂNCIA À
DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Fábio Murilo DaMatta
Coorientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M672p
2023

Miranda, Felipe Rodrigues, 1998-

Potencial de cafeeiros híbridos de Timor para tolerância à
deficiência hídrica / Felipe Rodrigues Miranda. – Viçosa, MG,
2023.

1 dissertação eletrônica (32 f.): il.

Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Vegetal, 2023.

Referências bibliográficas: f. 29-32.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.658>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Café - Resistência à seca. 2. Café - Melhoramento
genético. I. DaMatta, Fábio Murilo, 1966-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa
de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 581.754

Bibliotecário(a) responsável: Euzébio Luiz Pinto CRB-6/3317

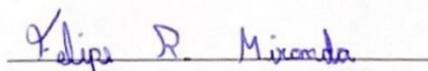
FELIPE RODRIGUES MIRANDA

POTENCIAL DE CAFEEIROS HÍBRIDOS DE TIMOR PARA TOLERÂNCIA À
DEFICIÊNCIA HÍDRICA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 20 de julho de 2023

Assentimento:



Felipe Rodrigues Miranda
Autor



Fábio Murilo DaMatta
Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

A Deus, por tudo.

Aos meus pais Lilian e Wagner, pela ajuda em todos os momentos da minha vida.

Aos meus irmãos Lucas e Mateus, pelo companheirismo e amizade.

À minha namorada Bárbara, pelo apoio em todos os momentos.

Aos meus colegas e amigos que fiz nessa jornada, um grande presente da UFV.

Ao meu orientador, professor e amigo Fábio Murilo DaMatta.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização do mestrado e estrutura disponibilizada.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão de apoio financeiro para a execução do projeto (APQ-01840-18) e bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

MIRANDA, Felipe Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2023. **Potencial de cafeeiros híbridos de Timor para tolerância à deficiência hídrica.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta. Coorientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins.

As mudanças climáticas globais causam incertezas para a agricultura atual. As previsões apontam que secas, o principal estresse a prejudicar as plantas, se tornarão cada vez mais presentes e impactantes. Isso causa preocupações quanto ao futuro de culturas de extrema importância socioeconômica no Brasil, como o café. Nesse cenário, abordagens que favoreçam a produção mesmo em condições de restrição hídrica ganham um destaque ainda maior, dentre elas, o melhoramento genético. Trabalhos recentes verificaram genes relacionados à resistência a doenças serem coexpressos em cafeeiros tolerantes à seca. Em decorrência de tais observações se suscitou o presente trabalho. Quatro genótipos de cafeeiro (Catiguá MG2 e três genótipos de Híbridos de Timor) foram submetidos ao déficit hídrico, imposto de forma lenta, para avaliar características fisiológicas e verificar se existe uma diferença genotípica de tolerância à seca. O status hídrico das plantas sob seca, avaliado pelo potencial hídrico de antemanhã, foi essencialmente similar entre os genótipos testados. De forma geral, impactos nas trocas gasosas foram observados em todos os genótipos após a imposição da deficiência hídrica, como decréscimos na taxa fotossintética líquida em paralelo a reduções na condutância estomática. Sugere-se que as reduções na performance fotossintética estiveram associadas a limitações estomáticas e não-estomáticas à fotossíntese. As plantas sob seca responderam, ainda, via aumentos na temperatura da copa e reduções na transpiração da planta inteira. Foi observado ajustamento osmótico nos genótipos H.T. 376-31 e H.T. 408-11, em condições de seca. Além da mudança ativa em seu potencial osmótico, o genótipo H.T. 376-31, juntamente com o Catiguá MG2, exibiu reduções no módulo global de elasticidade e aumentos na capacitância foliar. De modo geral, houve aumento na expressão do sistema antioxidante enzimático de todos os genótipos, e apenas no genótipo H.T. 408-11 houve danos oxidativos, a julgar-se pelas maiores concentrações de peróxido de hidrogênio e aldeído malônico. À luz dos dados apresentados e nas presentes condições experimentais, não houve diferenças claras entre os genótipos testados no que respeita à tolerância diferencial à seca.

Palavras-chave: *Coffea* sp.. Fotossíntese. Restrição hídrica. Tolerância à seca.

ABSTRACT

MIRANDA, Felipe Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2023. **Potential of Timor coffee trees for water deficit tolerance.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta. Co-adviser: Samuel Cordeiro Vitor Martins.

Global climate change causes uncertainties for current agriculture. Forecasts indicate that droughts, the main stress that harms plants, will become increasingly frequent and impactful. This raises concerns about the future of crops of marked socioeconomic importance in Brazil, such as coffee. In this scenario, approaches that favor production even in conditions of water restriction are of paramount prominence, among them, genetic breeding. Recent work has reported genes related to disease resistance to be co-expressed in drought tolerant coffee plants. As a result of such observations, the present work was planned. Four genotypes of coffee plants (Catiguá MG2 and three genotypes of Timor Hybrids) were submitted to a slowly imposed water deficit to evaluate physiological characteristics and to verify if there is a genotypic difference regarding drought tolerance. The plant water status under drought, as assessed by predawn water potential, was essentially similar among genotypes. In general, impacts on gas exchange were observed in all genotypes upon imposing water deficit, such as decreases in net photosynthetic rate in parallel with reductions in stomatal conductance. Decreases in photosynthetic performance were associated with stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis. Plants further responded to drought stress via increases in canopy temperature and reductions in whole-plant transpiration. Osmotic adjustment was observed in H.T. 376-31 and H.T. 408-11 hybrids under drought conditions. In addition to the active changes in its osmotic potential, the H.T. 376-31 hybrid, together with Catiguá MG2, exhibited reductions in the global modulus of elasticity and increases in leaf capacitance. In general, there was an increased expression of the enzymatic antioxidant system in all genotypes, and oxidative damage was only observed in the H.T. 408-11 hybrid, as judged by the higher concentrations of hydrogen peroxide and malonic dialdehyde. In light of the data presented and under the present experimental conditions, there were no clear differences between the tested genotypes with regard to differential tolerance to drought.

Keywords: *Coffea* sp.. Drought tolerance. Photosynthesis. Water restriction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: Potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{am}) (A), potencial hídrico ao meio-dia (Ψ_{md}) (B), taxa de transpiração da planta inteira (Transp) (C) e condutividade hidráulica da planta (K_{planta}) (D) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico.....17
- Figura 2: Taxa de assimilação líquida do carbono (A) (A), condutância estomática (g_s) (B), concentração interna de CO_2 (C_i) (C), taxa de transpiração (E) (D) e eficiência do uso da água (E_A) (E) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico.....19
- Figura 3: Temperatura foliar (T_F) (A) e temperatura da copa (T_c) (B) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico.....20
- Figura 4: Potencial osmótico em turgescência plena ($\Psi_{\pi(100)}$) (A) e no ponto de perda de turgescência ($\Psi_{\pi(0)}$) (B), módulo global elasticidade (ϵ) (C), capacitância foliar em turgescência plena ($C_{(100)}$) (D) e no ponto de perda de turgescência ($C_{(0)}$) (E) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico.....21
- Figura 5: Atividade da superóxido dismutase (SOD) (A), peroxidases totais (POX) (B), ascorbato peroxidase (APX) (C), catalase (CAT) (D), concentrações de aldeído malônico (MDA) (E) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (F) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico.....23

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 8 |
| 2. MATERIAIS E MÉTODOS | 13 |
| 2.1. Generalidades..... | 13 |
| 2.2. Relações hídricas | 14 |
| 2.3. Trocas gasosas..... | 14 |
| 2.4. Temperatura da copa e transpiração de planta inteira | 14 |
| 2.5. Ensaio enzimáticos | 15 |
| 2.6. Peróxido de hidrogênio e danos celulares..... | 16 |
| 2.7. Análises estatísticas..... | 16 |
| 3. RESULTADOS..... | 17 |
| 4. DISCUSSÃO | 24 |
| 5. CONCLUSÕES | 28 |
| REFERÊNCIAS | 29 |

1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas globais vêm preocupando estudiosos no mundo todo e gerando incertezas quanto aos impactos que causarão às plantas de modo geral e às culturas agrícolas em particular. De acordo com o IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change (2019), apesar dos aumentos na concentração atmosférica de CO₂ beneficiarem as plantas, o aumento na temperatura, as mudanças no padrão de chuvas e a diminuição na disponibilidade de água doce têm levado a uma redução regional na produção de algumas lavouras e aumentos nas perturbações à biodiversidade, elevando a mortalidade de árvores. O contraste entre regiões úmidas e secas deve ser intensificado e, pois, a extensão das regiões que sofrem de restrição hídrica deverá se expandir; quando ocorrentes, os eventos de seca deverão se estabelecer mais rapidamente, com maior intensidade e duração (Trenberth *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2018). Ademais, o déficit de pressão de vapor do ar (DPV) tem aumentado ao longo das décadas e as previsões são que o aumento continue (Ficklin e Novick, 2017; Grossiord *et al.*, 2020), o que pode agravar os impactos de secas.

A seca é o estresse abiótico que mais prejudica o crescimento e o desenvolvimento das plantas (Fleta-Soriano e Munné-Bosch, 2016). Seus efeitos variam em função de diversos fatores, como a intensidade e duração do estresse, o genótipo, a fase de desenvolvimento (Mukarram *et al.*, 2021) e as impressões que episódios anteriores de seca deixam na planta (Fleta-Soriano e Munné-Bosch, 2016; Menezes-Silva *et al.*, 2017). Um dos processos fisiológicos mais precocemente afetados pela seca é a expansão celular, em função da menor pressão de turgescência (Shao *et al.*, 2008). Com efeito, o déficit hídrico, além de poder atrasar a germinação, pode também induzir um maior crescimento parcial da raiz, reduzir a área foliar e o tamanho da planta como um todo, acarretando ainda uma senescência precoce (Dietz *et al.*, 2021). Para minimizar a perda de água, uma redução da abertura estomática é uma resposta comumente observada em plantas sob déficit hídrico (Dietz *et al.*, 2021). Apesar de a redução da condutância estomática limitar a transpiração, ela também reduz o influxo de CO₂, podendo, assim, comprometer a fotossíntese (Dietz *et al.*, 2021; Mukarram *et al.*, 2021). Em casos de secas muito intensas, o comprometimento da fotossíntese pode ocorrer em função de limitações não-estomáticas e pode ainda levar a uma depleção muito severa de fotoassimilados, a ponto de acarretar a morte da planta (McDowell *et al.*, 2022).

O conteúdo de água dos órgãos e tecidos das plantas é determinado pelo balanço entre a absorção e a perda de água (Mantova *et al.*, 2022), que guarda estreita associação com a condutividade hidráulica da planta. Maior condutividade hidráulica implica em maior

velocidade de reposição da água perdida pelos órgãos, i.e., maior eficiência do sistema condutor (Brodersen *et al.*, 2019). Durante a seca, o potencial hídrico (Ψ_w) das plantas vai-se reduzindo, podendo ocasionar cavitações e, conseqüentemente, embolismo. O acúmulo de condutos embolisados prejudica a condução de seiva e aumenta a tensão dos demais condutos, podendo levar à falha hidráulica, quando a planta morre por insuficiência em repor a água perdida em seus tecidos (McDowell *et al.*, 2022). Não obstante, as plantas dispõem de mecanismos fisiológicos de regulação do Ψ_w , a exemplo dos ajustamentos elástico e osmótico (Lambers e Oliveira, 2019), que visam à manutenção de um status hídrico mais favorável. O emprego dos ajustamentos e/ou a sua extensão influencia diretamente no quanto a planta é capaz de tolerar a seca.

O ajuste osmótico refere-se ao aumento ativo da concentração do suco celular via acúmulo de solutos que reduzem o potencial osmótico da célula (Zivcak *et al.*, 2016). Além de íons e ácidos orgânicos do vacúolo serem transportados para o citosol, tem-se a produção de solutos compatíveis, compostos orgânicos que, em geral, possuem carga elétrica nula, são altamente solúveis e possuem elevada capacidade de hidratação (Lambers e Oliveira, 2019). Tal acúmulo auxilia a manter a turgescência mesmo a menores Ψ_w (Zivcak *et al.*, 2016); ademais, a redução do potencial osmótico das células, e, conseqüentemente, do Ψ_w , permite uma maior capacidade de absorção de água do solo (Blum, 2016). Além disso, uma alta capacidade de ajuste osmótico pode ser benéfica às plantas após o estresse, durante a recuperação, ao permitir uma maior pressão de turgor uma vez que as células estejam em turgescência plena, em função do menor potencial osmótico (Zivcak *et al.*, 2016). Já o ajuste elástico está relacionado com as propriedades mecânicas da parede celular, e é expresso por variações no módulo global de elasticidade (ϵ). Quanto maior o ϵ , mais rígida é a parede, tendo assim maiores variações na pressão de turgescência para uma mesma variação no volume celular que uma célula com um ϵ menor, de paredes mais elásticas (Lambers e Oliveira, 2019). Dessa forma, plantas com maiores ϵ tendem a conservar água mais facilmente, pois pequenas perdas de água já proporcionam um fechamento estomático mais rápido e uma maior redução em seu Ψ_w , favorecendo a absorção de água do solo. Em contrapartida com menores ϵ tende-se a ter um maior crescimento, tendo em vista que a perda de turgor é retardada, na medida em que o processo de desidratação ocorre (Lambers e Oliveira, 2019).

Durante a seca, além da escassez de água, outras condições ambientais podem prejudicar as plantas. A elevada irradiância, por exemplo, é frequentemente observada e gera um excesso de energia disponível para aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que pode elevar ao estresse oxidativo e prejudicar o desempenho da planta (DaMatta *et al.*, 2018).

Como consequência do estresse oxidativo, a homeostase osmótica e iônica é comprometida; além disso, proteínas e membranas podem ser danificadas (DaMatta e Ramalho, 2006). O sistema antioxidante é o principal mecanismo protegendo as plantas contra as EROs (Dumanović *et al.*, 2021), eliminando o seu excesso para que os níveis sejam adequados para o ambiente celular (Laxa *et al.*, 2019). Desta forma, as plantas tendem a ser ricas em compostos com atividade antioxidante, como ascorbato, glutatona e fenóis, que podem reagir diretamente com as EROs ou terem uma ação potencializada por enzimas (Dumanović *et al.*, 2021). Comumente, plantas que apresentam maior tolerância à seca apresentam maiores níveis de antioxidantes e conseguem reprogramar suas atividades metabólicas de forma a ter uma maior capacidade antioxidante (Laxa *et al.*, 2019).

O café, uma planta lenhosa de metabolismo C3 com importância mundial, é uma cultura fundamental como meio de subsistência de milhões de pessoas (DaMatta *et al.*, 2018). Segundo a Conab (2023), o Brasil se destaca no cenário mundial como maior produtor, sendo previsto, para a safra de 2023, um total de aproximadamente 54,7 milhões de sacas de café beneficiado, o que equivale a cerca de 31,7% da produção mundial de café. Apesar de ser um ano de bialidade negativa, que tende a ter menores produções, a expectativa da safra está 7,5% acima do que foi colhido em 2022, em função de as adversidades climáticas (e.g., secas e geadas) terem sido mais severas nos últimos dois anos (Conab, 2023). Dentre as adversidades climáticas que assolaram regiões produtoras brasileiras, a seca é considerada a limitação mais importante para o café, em função da sua elevada recorrência nas áreas de plantio (DaMatta e Ramalho, 2006). A seca impacta o cafeeiro em todas as fases de desenvolvimento (DaMatta *et al.*, 2018), podendo causar danos como morte de ramos (Almeida *et al.*, 2021) e impactos na fotossíntese principalmente por limitações difusionais (Avila *et al.*, 2020; Dubberstein *et al.*, 2020). Todavia, a fase de enchimento de grãos é particularmente mais sensível (DaMatta *et al.*, 2018). Diante de tal cenário, pode-se inferir que as mudanças climáticas globais trarão novos desafios a diversas atividades, dentre elas a cafeicultura. Assim, técnicas agrícolas que favoreçam a produção mesmo em condições de restrição hídrica ganham um destaque ainda maior.

O melhoramento e a seleção de plantas são estratégias fundamentais para a produção de novas cultivares, com melhor tolerância a estresses (a)bióticos, mantendo rendimentos aceitáveis num cenário de aumentos crescentes na severidade desses estresses (DaMatta *et al.*, 2018). A seleção de novas linhagens, mais resilientes, pode garantir a sustentabilidade da cafeicultura (Fernandes *et al.*, 2021). O desenvolvimento de novos materiais é moroso, estendendo-se por anos (DaMatta *et al.*, 2018), acentuando a importância de se terem parâmetros úteis que permitam discriminar linhagens mais promissoras, ainda na fase de muda,

no que respeita à tolerância à seca (Silva *et al.*, 2013). Trabalhos vêm apontando algumas características úteis nesse contexto. Semedo *et al.* (2021), por exemplo, destacaram a atividade da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) como um componente fotossintético sensível à falta de água no genótipo menos tolerante à seca. Características que impactam na hidráulica da planta, como raízes mais profundas, maior condutância hidráulica e uma maior sensibilidade estomática à demanda evaporativa foram associadas a linhagens mais tolerantes à seca por Pinheiro *et al.* (2005). O perfil transcriptômico das plantas é outro parâmetro que pode auxiliar na seleção de linhagens mais resilientes ao déficit hídrico, como visto por Fernandes *et al.* (2021). Os autores apontam que o déficit hídrico altera o perfil transcriptômico de forma diferente em função do genótipo, de acordo com a capacidade de resposta da planta, modulando a expressão de genes relacionados à aclimação genotípica ao déficit hídrico.

O Germoplasma do Híbrido de Timor se iniciou na década de 1950 na Ilha de Timor, com acesso de uma população heterogênea, de diferentes origens (Capucho *et al.*, 2009), proveniente de um cruzamento natural entre *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre (Viana *et al.*, 2018), possuindo assim materiais gênicos de ambas as espécies. A sua variabilidade de genes faz do Germoplasma do Híbrido de Timor uma importante fonte gênica para programas de melhoramento pelo mundo, principalmente para resistência a doenças (Setotaw *et al.*, 2010). Em face de sua boa adaptação a diferentes condições ambientais, boa capacidade de hibridização (Rezende *et al.*, 2014), variabilidade e resistência a doenças, o Híbrido de Timor vem sendo utilizado extensivamente em programas de melhoramento no Brasil (Setotaw *et al.*, 2010). Investigando a expressão gênica de dois clones de *Coffea canephora* (com sensibilidades diferenciais à seca) submetidos a déficit hídrico, Guedes *et al.* (2018) encontraram um conjunto de genes ligados que são respondentes à resistência a doenças e exclusivamente coexpressos no clone tolerante à seca. Essas informações suscitam a seguinte questão: os genótipos de Híbrido de Timor, possuindo genes provenientes de *C. canephora*, que apresentam resistência à ferrugem e à bacteriose, podem coexpressar genes associados à tolerância à seca e, em decorrência, exibirem maior tolerância à seca? Para responder a esta pergunta, foram investigados Híbridos de Timor (selecionados por melhoristas da EPAMIG) que, além de boa capacidade produtiva, também apresentam resistência à ferrugem e à cercosporiose. O presente estudo foi realizado em casa de vegetação, impondo-se o déficit hídrico de forma lenta, de modo a simular as condições de campo, onde as secas também se desenvolvem lentamente. Foram então avaliadas respostas fisiológicas de diferentes materiais genéticos: a cultivar Catiguá MG2 e três genótipos de Híbrido de Timor resistentes à ferrugem

e à cercosporiose simultaneamente. Isso permitiu a obtenção de uma amostragem comparativa para se explorar uma potencial relação entre tolerância à seca e nível de resistência a doenças não apenas em Híbridos de Timor, mas também no Catiguá, sendo este tolerante à ferrugem. Em última análise, objetivou-se avaliar se Híbridos de Timor, apresentariam uma tolerância diferencial ao déficit hídrico.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Generalidades

Este trabalho foi conduzido em casa de vegetação, em Viçosa (20°45'S, 42°51'W, 650 m altitude), Minas Gerais. Foram utilizados três genótipos de Híbrido de Timor (H.T.) resistentes à ferrugem e à cercosporiose simultaneamente, selecionados pela EPAMIG, sendo eles os genótipos H.T. 376-31, H.T. 437-06 e H.T. 408-11, e a cultivar Catiguá MG2, material com elevada produtividade e qualidade de bebida, resistente à ferrugem, e oriundo do cruzamento entre um cafeeiro da cultivar Catuaí Amarelo IAC 86 e um Híbrido de Timor (Carvalho, 2008). Mudanças com cinco pares de folhas foram plantadas (março de 2022) e cultivadas em vasos de polipropileno de 12 dm³, contendo substrato constituído de uma mistura de solo, areia e esterco bovino (3:1,5:1, v/v/v). A adubação e a correção do pH do substrato foram feitas de acordo com análise de solo e recomendações técnicas usuais para a cultura. Semanalmente, as plantas eram casualizadas sobre a bancada.

No final de outubro de 2022, as plantas foram submetidas a regimes hídricos diferenciais: um grupo de plantas foi irrigado continuamente, de forma que a umidade do solo permanecesse próxima à capacidade de campo (plantas-controle), enquanto o segundo grupo foi submetido à desidratação, imposta pela supressão parcial da irrigação. Foi imposto um déficit hídrico reduzindo-se o teor de água do solo para 40%, 30%, 20% e, finalmente, 10% da capacidade de campo do substrato, de forma a permitir a aclimatação das plantas ao estresse. As plantas foram submetidas a cada um desses teores de umidade por cerca de 10 dias. O controle dos níveis de umidade do substrato foi estabelecido mediante pesagem dos vasos para a irrigação, após mensuração dos pesos na capacidade de campo de cada vaso e conhecimento dos parâmetros físicos do substrato. Os tratamentos foram aplicados até dezembro de 2022, quando as plantas foram analisadas e o experimento desmontado.

As avaliações das trocas gasosas, relações hídricas e as coletas de material foliar para os ensaios bioquímicos foram feitas quando o experimento estava na iminência de ser desmontado (solo com 10% da capacidade de campo). Durante a desmontagem, a área foliar por planta foi obtida com o uso de um digitalizador de mesa, em combinação com o software ImageProPlus (Image Pro-Plus, version 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, USA). Todas as demais avaliações e amostragens foram realizadas nas folhas mais novas, totalmente expandidas, do terceiro ou quarto par, a partir do ápice de ramos plagiotrópicos. As metodologias utilizadas ao longo do experimento estão descritas abaixo:

2.2. Relações hídricas

O Ψ_w foliar foi mensurado em folhas individuais com uma bomba de pressão tipo Scholander, na antemanhã (4:30h – 5:30h) e ao meio-dia.

Para obtenção das curvas de pressão-volume, foram utilizadas folhas cujas bases dos pecíolos foram cortadas debaixo d'água, após os pecíolos serem mantidos imersos em água destilada por pelo menos 8 h. Em sequência, as folhas tiveram os pesos atuais e o Ψ_w aferidos periodicamente enquanto perdiam água livremente por transpiração, até que a obtenção de pontos suficientes para confecção da curva. Posteriormente, as folhas foram secas em estufa por 72 h e o peso seco mensurado, para assim estimar-se o teor relativo de água (TRA). As curvas pressão-volume foram obtidas traçando-se o inverso de Ψ_w contra o TRA (Tyree e Hammel, 1972). A partir dessas curvas, o potencial osmótico em turgescência plena ($\Psi_{\pi(100)}$) e no ponto de perda de turgescência ($\Psi_{(0)}$), capacitância foliar em turgescência plena ($C_{(100)}$), capacitância foliar no ponto de perda de turgescência ($C_{(0)}$) e módulo global elasticidade (ϵ) foram estimados. As capacitâncias foram calculadas a partir da curvatura da relação entre o inverso de Ψ_w e TRA, expresso em termos absolutos e normalizado pela área foliar, conforme descrito por Blackman e Brodribb (2011).

2.3. Trocas gasosas

A taxa de assimilação líquida do carbono (A), a condutância estomática ao vapor d'água (g_s), concentração interna de CO_2 (C_i), transpiração (E) e temperatura foliar (T_F) foram determinadas em sistema aberto, sob luz saturante ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração de $420 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$, com um analisador de gases a infravermelho (LI-6400, Li-Cor Inc., Nebraska, EUA), equipado com uma fonte de luz azul/vermelho modelo LI-6400-02B (LI-COR). As medições foram realizadas pela manhã, sob condições ambientes de temperatura e umidade relativa. Com os valores de A e E , a eficiência do uso da água (E_A) foi então calculada.

2.4. Temperatura da copa e transpiração de planta inteira

A temperatura da copa (T_c) foi aferida com o uso de imagens térmicas obtidas com uma câmera infravermelha (FLIR systems T360, Nashua, EUA). Todo processamento e análise de imagem foi realizado no software Flir Thermal Studio versão 1.9.

A transpiração da planta inteira (Transp) foi feita mediante a pesagem dos vasos, após vedação do substrato com um filme plástico, em diferentes momentos do dia; a diferença de peso obtida entre dois tempos consecutivos representou a taxa de transpiração da planta, a qual foi *a posteriori* normalizada pela área foliar. Mediante a taxa transpiratória, a condutividade da planta (K_{planta}) foi obtida dividindo-se o valor de Transp pela variação no potencial hídrico das plantas.

2.5. Ensaio enzimáticos

Para determinar as atividades enzimáticas, amostras liofilizadas com cerca de 35 mg foram homogeneizadas no seguinte meio: tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetanossulfonilfluoreto 1 mM (PMSF) e 1% (p/v) polivinilpolipirrolidona (PVPP) para as enzimas superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), catalase (CAT; EC 1.11.1.6), peroxidases totais (POX; EC 1.11.1.7) e ascorbato peroxidase (APX; EC 1.11.1.11) (Ribeiro et al. 2012). Após filtração, os homogenatos foram centrifugados a 12.000 g, por 15 min a 4° C, e os sobrenadantes foram utilizados como fonte de enzima.

As atividades enzimáticas foram determinadas pela adição de extrato enzimático bruto e alíquotas de 3 μL (CAT e APX) ou 4 μL (POX) aos seguintes meios de reação: tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H_2O_2 12,5 mM para CAT; tampão de fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, pirogalol 20 mM e H_2O_2 20 mM para POX; tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0, ascorbato 0,8 mM e H_2O_2 1 mM para APX. As atividades enzimáticas foram estimadas medindo-se a variação da absorbância no primeiro minuto da reação, a 30°C. As atividades enzimáticas foram estimadas usando os seguintes coeficientes de extinção molar: CAT (240 nm, $\epsilon = 36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); POX (420 nm; $\epsilon = 2.47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); APX (290 nm, $\epsilon = 2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

A atividade SOD foi determinada pela adição de 20 μL de extrato enzimático bruto a um meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 100 mM, pH 7,8, metionina 50 mM, cloreto de nitro azul de tetrazólio 1 mM (NBT), EDTA 5 mM e riboflavina 100 μM . A reação foi conduzida a 25° C em uma câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida por fotorredução do NBT foi medida a 560 nm (Giannopolitis e Ries 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir a fotorredução de NBT em 50%.

A concentração de proteínas solúveis dos extratos enzimáticos foi determinada conforme Bradford (1976) usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão.

2.6. Peróxido de hidrogênio e danos celulares

Para a determinação da concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), 35 mg de material vegetal liofilizado foram homogeneizados em meio de extração constituído de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% e polivinilpolipirrolidona (PVPP), e centrifugados a 12.000 g, por 15 min, a 4 °C. Alíquotas do sobrenadante foram adicionadas em meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 2,5 mM pH 7,0 e iodeto de potássio (KI) a 1 M, com leituras a 390 nm realizadas em espectrofotômetro (UV/Visível Multiskan GO®). As concentrações de peróxido de hidrogênio foram estimadas com base em curva de calibração preparada com padrões de H_2O_2 (Velikova *et al.* 2000).

A peroxidação de lipídios foi estimada via acúmulo de aldeído malônico (MDA) (Cakmak e Horst, 1991). Cerca de 35 mg de material vegetal liofilizado foram homogeneizados em 1,5 mL de TCA a 1% (p/v) e centrifugados a 12.000 g, por 15 min, a 4 °C. Alíquotas de 0,2 mL de sobrenadante foram adicionadas a 1,5 mL de uma solução de 0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) em 10% de TCA e incubadas em banho-maria, a 95° C. Após 30 min, a absorbância da amostra foi determinada a 532 e 600 nm. A concentração do complexo MDA-TBA foi estimada usando o coeficiente de absorvidade molar de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

2.7. Análises Estatísticas

O experimento foi instalado e analisado segundo um delineamento experimental completamente ao acaso, em esquema fatorial 4 x 2 (quatro genótipos x dois regimes hídricos), com sete repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando o software Sisvar. Os dados foram expressos como médias \pm erro padrão.

3. RESULTADOS

Sob déficit hídrico, o potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{AM}) de todos os genótipos se reduziu entre 0,46 e 0,58 MPa (Figura 1 A). Em contrapartida, o potencial hídrico ao meio-dia (Ψ_{MD}) não se alterou em relação ao das plantas-contrôle, exceto no genótipo H.T. 408-11, que foi 16,8 % menor que a média de suas contrapartes (Figura 1 B). Em paralelo, a transpiração da planta inteira (Transp) reduziu-se (45% em média) significativamente em todos os genótipos em resposta ao déficit hídrico (Figura 1 C), fato acompanhado por redução na condutividade hidráulica da planta (K_{planta}), mas apenas nos genótipos Catiguá MG2 e H.T. 408-11, com reduções de 31% em média (Figura 1D).

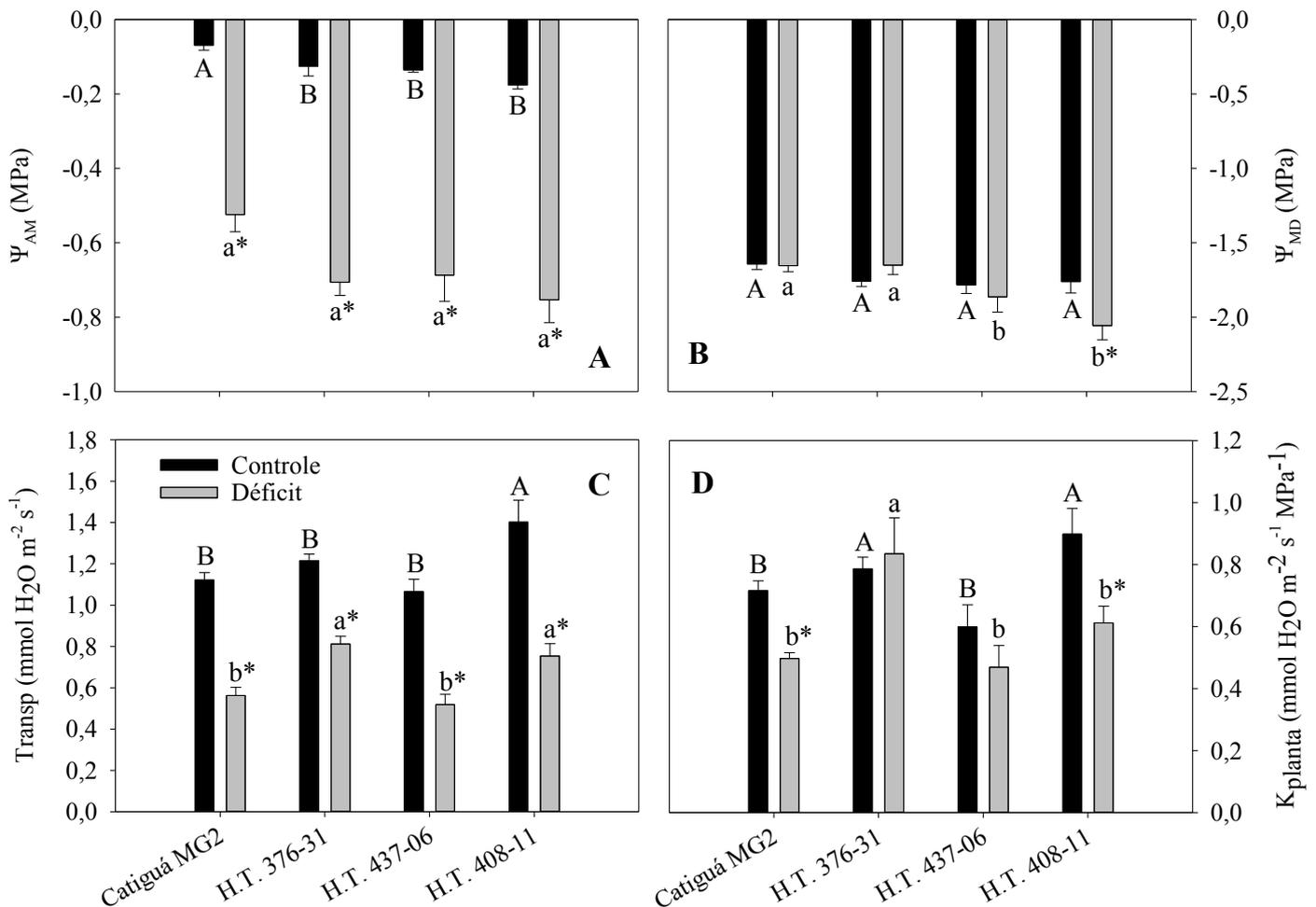


Figura 1: Potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{AM}) (A), potencial hídrico ao meio-dia (Ψ_{MD}) (B), transpiração de planta inteira (Transp) (C) e condutividade hidráulica da planta (K_{planta}) (D) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico. Genótipos com médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferem entre si sob irrigação ou déficit hídrico, respectivamente. Asteriscos, quando mostrados, indicam diferença significativa em resposta aos tratamentos hídricos, dentro de um mesmo genótipo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. $n = 7 \pm$ erro padrão.

Os genótipos Catiguá MG2, H.T. 437-06 e H.T. 408-11 apresentaram reduções significativas em A com a aplicação do déficit hídrico, 54% em média (Figura 2 A). No genótipo H.T. 376-31, a redução em A (27%) não alcançou significância estatística. Todos os genótipos apresentaram reduções em g_s , que variaram cerca de 80% nos genótipos Catiguá MG2 e H.T. 408-11 a cerca de 60% nos demais genótipos (H.T. 437-06 e H.T. 376-31) (Figura 2 B). Em paralelo às reduções em g_s , foram também observadas reduções significativas em E , mas com uma menor magnitude, com reduções mínimas de 45% verificadas no genótipo H.T. 408-11 e máximas de 54% em Catiguá MG2 (Figura 2 D). Em contrapartida, C_i não variou significativamente em resposta aos tratamentos aplicados, apesar de se ter verificado tendência de aumento de C_i em todos os genótipos, exceto no Catiguá MG2 (Figura 2 C). Registra-se que variações em A e em E levaram a alterações significativas em E_A sob seca, que aumentou (35%) no genótipo H.T. 376-31, mas se reduziu (6% em média) nos demais genótipos (Figura 2 E). T_F tendeu a ser maior sob seca, mas com significância estatística apenas em H.T. 437-06 (Figura 3 A). Em paralelo, T_C foi estatisticamente superior, em média 1°C, em todos os genótipos sob déficit hídrico em relação à temperatura das plantas-controle (Figura 3 B).

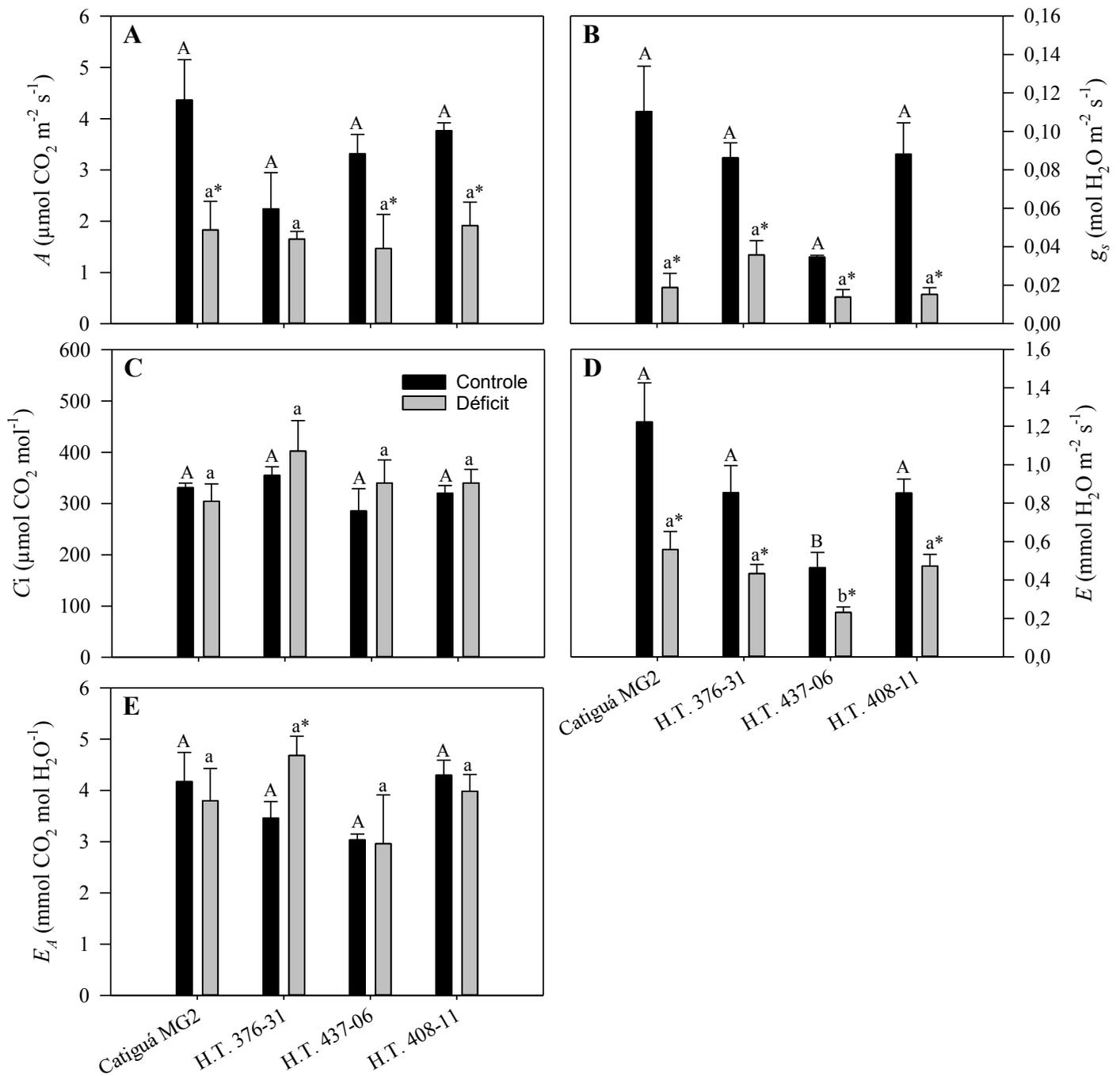


Figura 2: Taxa de assimilação líquida do carbono (*A*) (A), condutância estomática (*g_s*) (B), concentração interna de CO₂ (*C_i*) (C), transpiração (*E*) (D) e eficiência do uso da água (*E_A*) (E) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico. Genótipos com médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferem entre si sob irrigação ou déficit hídrico, respectivamente. Asteriscos, quando mostrados, indicam diferença significativa em resposta aos tratamentos hídricos, dentro de um mesmo genótipo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. $n = 7 \pm$ erro padrão.

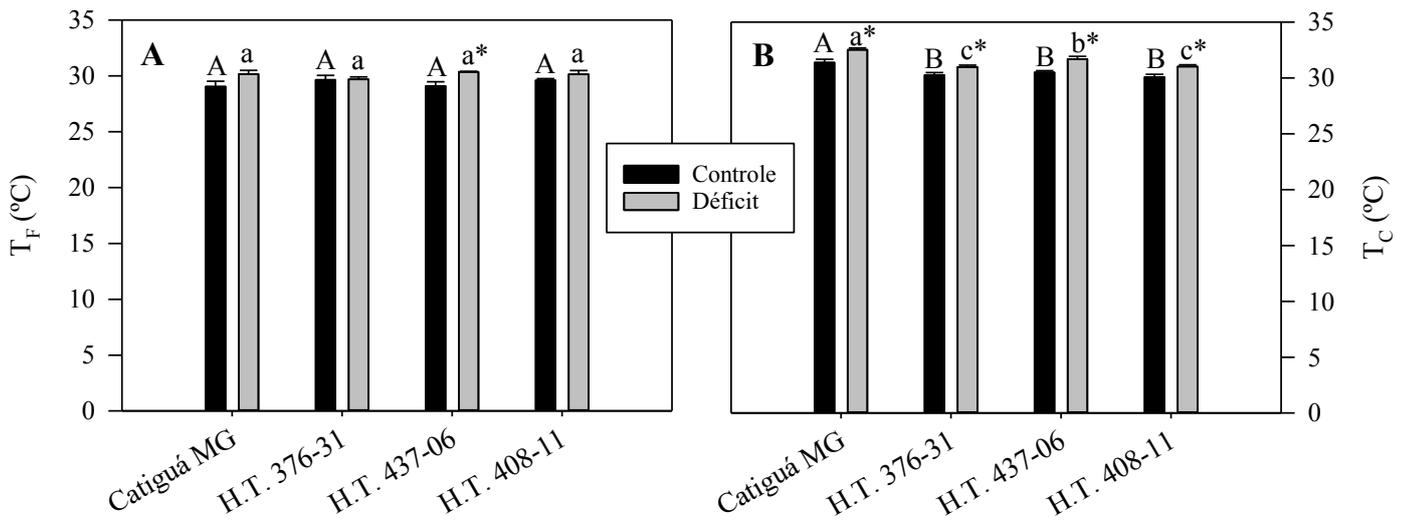


Figura 3: Temperatura foliar (T_F) (A) e temperatura da copa (T_C) (B) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico. Genótipos com médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferem entre si sob irrigação ou déficit hídrico, respectivamente. Asteriscos, quando mostrados, indicam diferença significativa em resposta aos tratamentos hídricos, dentro de um mesmo genótipo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. $n = 7 \pm$ erro padrão.

Conforme esperado, $\Psi_{\pi(100)}$ e o $\Psi_{\pi(0)}$ reduziram-se semelhantemente, em resposta ao déficit hídrico, porém com decréscimos significativos observados apenas nos genótipos H.T. 376-31 e H.T. 408-11, em média 0,15 e 0,25 MPa para $\Psi_{\pi(100)}$ e o $\Psi_{\pi(0)}$, respectivamente (Figura 4 A e B). Em paralelo, Catiguá MG2 e H.T. 376-31 exibiram reduções significativas em ε sob deficiência hídrica, 18% e 24%, respectivamente, observando-se invariabilidade desse parâmetro nos demais genótipos (Figura 4 C). Esses mesmos genótipos foram os únicos a apresentar incrementos significativos em $C_{(100)}$, 17 e 40% respectivamente, e $C_{(0)}$, 22 e 42% respectivamente, sob seca, quando comparados com as plantas-controle (Figura 4 D e E).

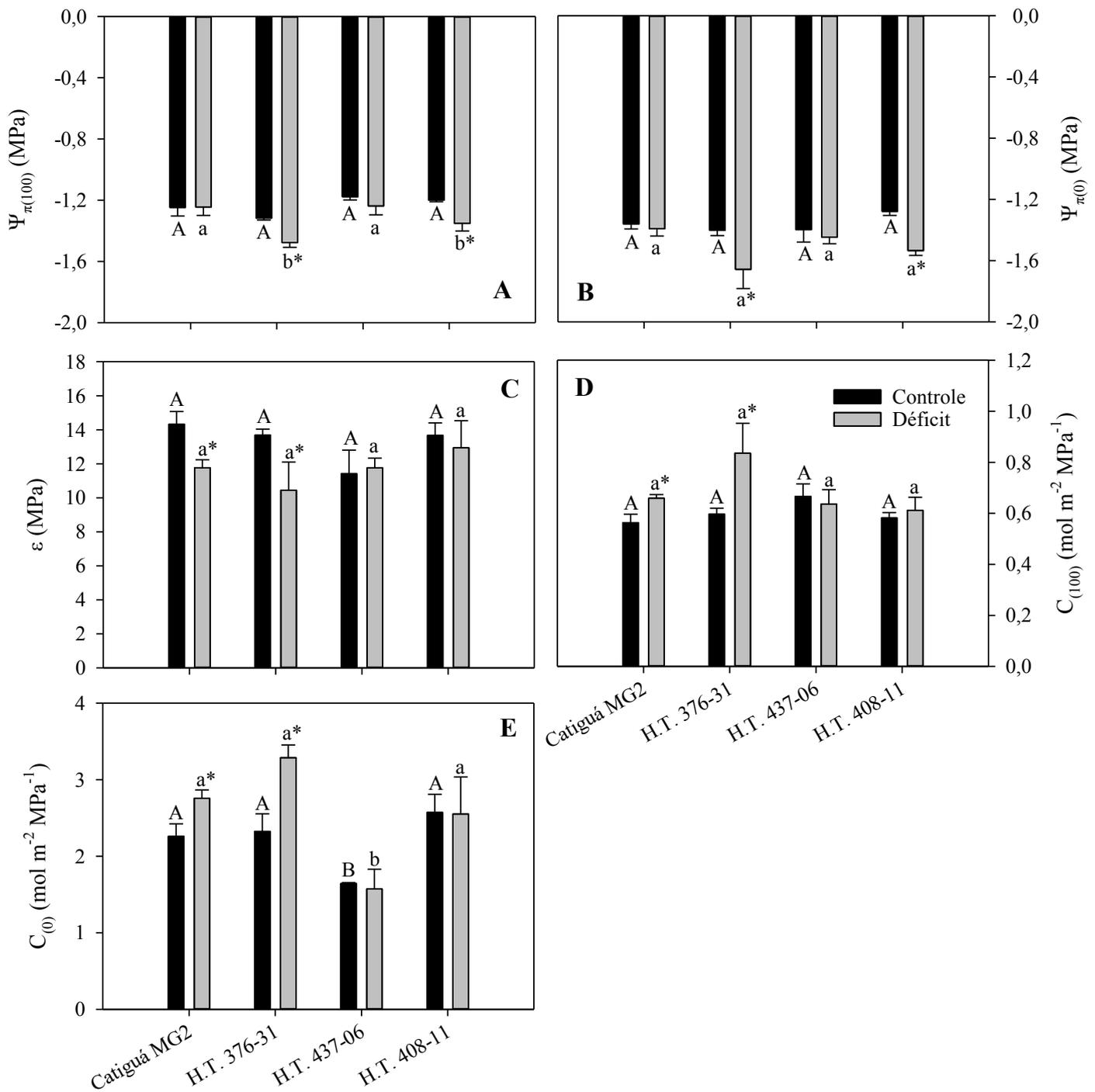


Figura 4: Potencial osmótico em turgescência plena ($\Psi_{\pi(100)}$) (A) e no ponto de perda de turgescência ($\Psi_{\pi(0)}$) (B), módulo global elasticidade (ε) (C), capacitância foliar em turgescência plena ($C_{(100)}$) (D) e no ponto de perda de turgescência ($C_{(0)}$) (E) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico. Genótipos com médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferem entre si sob irrigação ou déficit hídrico, respectivamente. Asteriscos, quando mostrados, indicam diferença significativa em resposta aos tratamentos hídricos, dentro de um mesmo genótipo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. $n = 7 \pm$ erro padrão.

De modo geral, houve aumento na atividade das enzimas antioxidantes avaliadas nas plantas sob deficiência hídrica em relação às suas contrapartes-controle, embora nem sempre esses aumentos tenham alcançado significância estatística. Todos os genótipos exibiram aumentos na atividade da SOD sob seca, mas apenas nos genótipos H.T. 437-06 e H.T. 408-11 esses incrementos foram significativos, 85% e 44%, respectivamente (Figura 5 A). A atividade das peroxidases foi estatisticamente maior em todos os genótipos sob seca, variando entre 19 a 49% (Figura 5 B). Para as enzimas catalase e APX, todos os genótipos apresentaram um aumento na atividade, mas sem significância estatística (Figura 5 C e D). Adicionalmente, foram avaliados danos oxidativos em resposta à deficiência hídrica, via quantificação de MDA e peróxido de hidrogênio; apenas em H.T. 408-11 houve incrementos significativos nos valores dessas variáveis, respectivamente 25 e 72% em relação aos das plantas-controle (Figura 5 E e F).

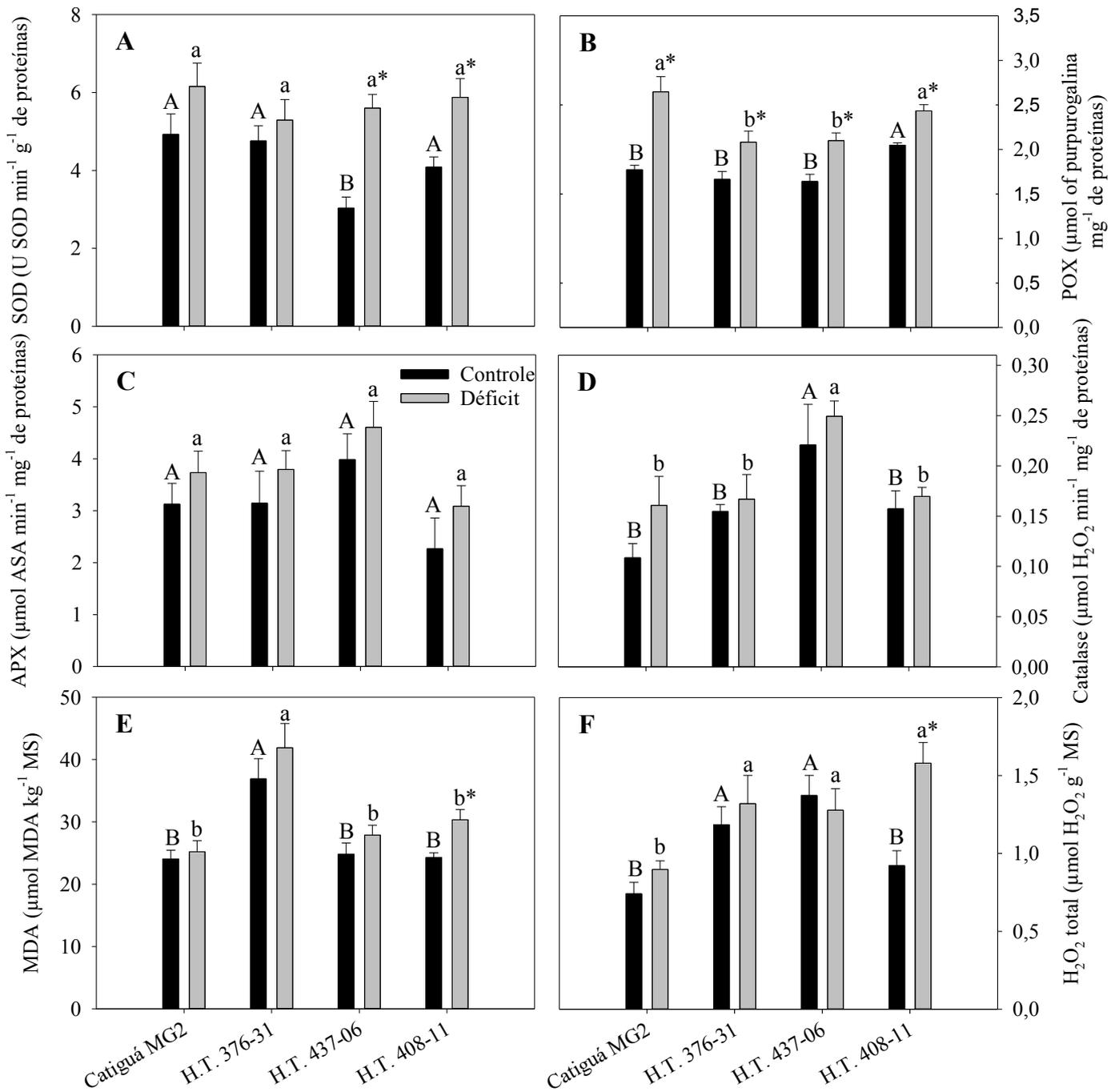


Figura 5: Atividade da superóxido dismutase (SOD) (A), peroxidases totais (POX) (B), ascorbato peroxidase (APX) (C), catalase (CAT) (D), concentrações de aldeído malônico (MDA) (E) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (F) em plantas de café sob irrigação plena (controle) e sob déficit hídrico. Genótipos com médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferem entre si sob irrigação ou déficit hídrico, respectivamente. Asteriscos, quando mostrados, indicam diferença significativa em resposta aos tratamentos hídricos, dentro de um mesmo genótipo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. $n = 7 \pm$ erro padrão.

4. DISCUSSÃO

O Ψ_{AM} se reduziu similarmente em todos os genótipos após a imposição da restrição hídrica (Figura 1 A). Em café, diversos trabalhos (e.g., DaMatta *et al.* 2003, Pinheiro *et al.* 2005, Silva *et al.* 2013, Menezes-Silva *et al.*, 2017) têm evidenciado, comparando-se genótipos com diferentes sensibilidades à seca, que aqueles com maiores valores de Ψ_{AM} exibem maior potencial de tolerância à deficiência hídrica, fato atribuído a uma maior capacidade de extração da água do solo e/ou maior controle estomático da transpiração (Pinheiro *et al.*, 2005). Isso posto, os valores similares de Ψ_{AM} entre os genótipos testados sugere, *a priori*, um grau de tolerância à seca similar entre eles. Não obstante, com o avançar do déficit hídrico, menores potenciais hídricos podem ocorrer no xilema, o que pode favorecer a ocorrência de embolismo em função da entrada de bolhas de ar, prejudicando a condutividade hidráulica (Creek *et al.*, 2018). Com efeito, foram observadas, nos genótipos Catiguá MG2 e H.T. 408-11, reduções em K_{planta} (Figura 1 D). Apesar dos baixos valores de Ψ_{MD} nos controles, indicando a ocorrência de embolismo nativo, a redução observada no genótipo H.T. 408-11 pode indicar que a redução no K_{plant} foi de tal magnitude que prejudicou a reposição de água na parte aérea da planta (Figura 1 B).

Um dos primeiros efeitos do déficit hídrico é o fechamento estomático, de forma a minimizar a perda de água via transpiração (Dietz *et al.*, 2021). Apesar do decréscimo em g_s , minimizar as perdas de água, limita também o influxo de CO_2 , levando a quedas nas taxas fotossintéticas (Mukarram *et al.*, 2021). Apesar de outros fatores, como danos no aparato fotossintético poderem reduzir a taxa fotossintética (Zargar *et al.*, 2017), sob déficits hídricos moderados, o fechamento estomático é o principal fator limitante, ou seja, limitações difusionais predominam (Martins *et al.*, 2019, Dubberstein *et al.*, 2020). De fato, nas plantas sob déficit hídrico, A e g_s se correlacionaram positivamente ($r = 0,42$ e $0,48$, $P < 0,05$, para plantas sob irrigação plena e sob déficit hídrico, respectivamente). Deve-se registrar que, no genótipo H.T. 376-31, apesar das reduções de g_s , as reduções em A não foram significativas nas plantas sob seca, mas isso pode ser mais o reflexo dos baixos valores de A mesmo nas plantas-controlado (Figura 2 A e B). Enfatize-se que não houve qualquer variação estatística em A (e g_s) entre os genótipos avaliados e, assim, suportando a sugestão supracitada de não ter havido diferenças de monta no que diz respeito a diferenças genotípicas em termos de tolerância à seca.

Com o avançar do déficit hídrico, outras limitações, como alterações no pool de pigmentos das folhas, danos a maquinaria fotossintética, redução no transporte de elétrons e da atividade de enzimas ligadas a fotossíntese passam a prejudicar a performance fotossintética

(Ramalho *et al.*, 2014; Fahad *et al.*, 2017), que podem então ter um papel maior que o das limitações difusionais (Vanlerberghe *et al.*, 2016). Nessa situação, comumente ocorre um aumento em C_i , como observado por Dubberstein *et al.* (2020) em café. A inalteração de C_i no presente trabalho indica que os efeitos negativos da seca sobre as reduções na etapa bioquímica da fotossíntese possam ter sido de maior magnitude que as limitações difusionais *per se*, embora não se possa descartar a ocorrência de limitações mesofílicas à fotossíntese. Com as reduções em g_s , E (em nível de folha) também foi menor nas plantas sob déficit hídrico, como era esperado, acompanhando as reduções na taxa de transpiração de planta inteira (Figuras 1 C e 2 D). A transpiração permite que a planta perca energia na forma de calor latente, sendo uma importante forma de redução da temperatura da planta (Lambers e Oliveira, 2019). Com maiores limitações difusionais, as resistências na rota transpiratória aumentaram, de modo que a capacidade de resfriamento das plantas diminuiu e assim elas apresentaram maiores temperaturas médias (Figura 3 A e B). Essas maiores temperaturas podem favorecer um aumento das taxas de respiração e de fotorrespiração, concorrendo para decréscimos adicionais em A (Lambers e Oliveira, 2019). Apesar das reduções das taxas transpiratórias de todos os genótipos, apenas H.T. 376-31 apresentou um aumento em E_A (Figura 2 E), isso provavelmente se deveu à queda expressiva em A nos demais genótipos sob seca. O mesmo foi observado por Dubberstein *et al.* (2020), que verificaram uma redução em E_A para cafeeiros submetidos ao déficit hídrico, uma vez que as plantas apresentaram maiores reduções em A do que em E .

Em espécies lenhosas, muitas vezes espera-se que, sob seca, ocorra aumento em ϵ , como observado em outros trabalhos (DaMatta *et al.*, 1993, Martins *et al.*, 2019), na medida em que maiores ϵ podem traduzir-se em maior capacidade de conservação de água. Maiores ϵ também implicam em maiores reduções de Ψ_w para uma dada redução no volume celular, proporcionando um fechamento estomático mais rápido e favorecendo a absorção de água do solo (Lambers e Oliveira, 2019). Todavia, em café, parece não haver um padrão consistente de variação de ϵ ; DaMatta e Ramalho (2006) destacam diversos trabalhos que verificaram aumentos, decréscimos e manutenção em ϵ em condições de seca, dependendo das condições de cultivo e do genótipo. Um menor ϵ proporciona um declínio mais lento do turgor da célula à medida que o processo de desidratação ocorre (Lambers e Oliveira, 2019), de modo a permitir um crescimento, mesmo que menor, em condições de déficits hídricos de curto prazo. O menor ϵ proporciona às plantas maiores capacitâncias, pois faz com que as células contenham mais água em turgescência máxima, portanto, seu volume pode diminuir mais até que o ponto de perda de turgor seja atingido (Lambers e Oliveira, 2019). Tal fato foi observado nos genótipos

Catiguá MG2 e H.T. 376-31, que apresentaram redução em ε e, conseqüentemente, em $C_{(100)}$ e $C_{(0)}$ (Figura 4 C, D e E).

A redução no $\Psi_{\pi(100)}$ e $\Psi_{\pi(0)}$ dos genótipos H.T. 376-31 e H.T. 408-11 (Figura 4 A e B) se assemelharam com o observado por Martins *et al.* (2019), ao trabalharem com outros genótipos de cafeeiro, indicando a ocorrência de um ajustamento osmótico em tais cultivares. A maior quantidade de solutos auxilia as células a manterem a turgescência sob menores Ψ_w e a aumentar a absorção de água do solo (Zivcak *et al.*, 2016). Apesar do custo que a produção ativa de compostos possa incidir sobre o metabolismo da planta, o aumento em A muitas vezes proporcionado pelo ajustamento osmótico tende a cobrir o possível custo (Blum, 2016).

Devido a limitações ao processo fotossintético causadas pela seca, tende a haver um excesso de elétrons nas cadeias transportadoras, uma vez que a redução da disponibilidade de CO_2 (aceptor natural dos elétrons) nos sítios de carboxilação faz aumentar o fluxo de elétrons para outros aceptores, como é o caso do O_2 . Com isso, a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) tende a aumentar (Laxa *et al.*, 2019). Outra fonte de EROs é a fotorrespiração. O processo tende a aumentar sob condições de seca, uma vez que a baixa disponibilidade de CO_2 e incrementos na temperatura (conforme aqui observado) favorecem a sua ocorrência, levando a uma maior produção de H_2O_2 nos peroxissomos (Laxa *et al.*, 2019). A geração de EROs ocorre mesmo em condições normais (Hasanuzzaman *et al.*, 2019), sendo que em baixas concentrações auxiliam importantes processos das plantas como crescimento, defesa contra patógenos e resistência a estresses (Dumanović *et al.*, 2021). Todavia, em elevadas concentrações, as EROs podem causar danos a proteínas, membranas e outros componentes das plantas (Demidchik, 2015). A indução do sistema antioxidante, nessas condições, é crucial para manter a homeostase oxidativa no ambiente celular, controlando o excesso de EROs (Dumanović *et al.*, 2021).

Uma maior produção do radical superóxido pode ser considerada como o primeiro passo significativo para potencializar a ocorrência de danos oxidativos em plantas (Mukarram *et al.*, 2021), logo a SOD é a primeira enzima a atuar na presença de EROs (Hasanuzzaman *et al.*, 2019; Oguz *et al.*, 2022). Considerada um componente crítico do sistema antioxidante, a SOD reage com o radical superóxido, resultando na produção de um H_2O_2 (Laxa *et al.*, 2019). Assim, o aumento da atividade da SOD observada em todos os genótipos está relacionado com um incremento nessa linha de defesa primária contra os EROs (Figura 5 A). As POXs são enzimas importantes no sistema antioxidante. Atuam reagindo rapidamente com o H_2O_2 , resultando em formas oxidadas que são regeneradas por redutases específicas, o que faz com que o processo

seja custoso energeticamente para a planta (Dumanović *et al.*, 2021). O aumento na atividade das POXs em todos os genótipos frente à seca parece evidenciar uma resposta comum desses genótipos para metabolizar EROs (Figura 5 B).

A CAT, por sua vez, são enzimas encontradas abundantemente em peroxissomos, onde atuam capturando o H_2O_2 gerado pelos processos de fotorrespiração e β -oxidação de ácidos graxos, tendo a capacidade de convertê-lo em água e oxigênio molecular, se destacando assim por não precisarem de poder redutor para manutenção da rota (Dumanović *et al.*, 2021). Apesar da não significância estatística no presente trabalho, o aumento da atividade da CAT e da APX é esperado como resposta à estresses (Figura 5 C e D). APX são enzimas importantes, presentes em diversos compartimentos celulares (mas principalmente nos cloroplastos), que atuam catalisando reações do H_2O_2 com ascorbato e, assim, eliminando o peróxido formado (Hasanuzzaman *et al.*, 2019; Dumanović *et al.*, 2021).

O H_2O_2 pode atuar de diferentes maneiras nas plantas. Em pequenas concentrações atua como sinalizador e participa da transdução de sinais, sendo a sua presença no apoplasto essencial para que o desenvolvimento celular ocorra normalmente (Dumanović *et al.*, 2021), todavia em altas concentrações causa um efeito tóxico às células, podendo prejudicar o desenvolvimento e levar a morte celular (Laxa *et al.*, 2019). Segundo Dumanović *et al.* (2021), os efeitos tóxicos do H_2O_2 estão associados com a inativação de enzimas, formação de EROs mais potentes, danos a moléculas de DNA, entre outros danos causados diretamente ou indiretamente pela molécula. As concentrações de H_2O_2 foram significativamente maiores apenas H.T. 408-11, indicando que, apesar dos aumentos significativos em SOD e POX, a geração de EROs era maior do que a capacidade de seu sistema antioxidante em metabolizar as EROs (Figura 5 F). Com isso os níveis de MDA, que indicam peroxidação de lipídeos (Laxa *et al.*, 2019), também foram superiores nesse genótipo, tendo mais EROs e maior grau de danos celulares (Figura 5 E). Portanto, especificamente no caso do genótipo H.T. 408-11, parece haver uma maior sensibilidade à seca em nível celular em face da maior ocorrência de danos oxidativos. Em condições de campo, isso poderia acelerar a ocorrência de escaldadura e, pois, de abscisão foliar (DaMatta e Ramalho, 2006), levando a quedas da capacidade global de produção de assimilados não somente em virtude da menor *A* por unidade de área foliar, mas também pela redução da área foliar *per se*.

5. CONCLUSÕES

O déficit hídrico causou reduções similares no status hídrico de todos os genótipos, a julgar-se pela similaridade do Ψ_{am} , além de impactar negativamente as trocas gasosas de todos os genótipos, via decréscimos de g_s e possivelmente de comprometimento da fase bioquímica da fotossíntese. Em paralelo, observaram-se decréscimos na taxa de transpiração da planta inteira e na temperatura da copa. As respostas, em termos de ajustamento osmótico e elástico, divergiram entre os genótipos. De modo geral, houve aumento na expressão do sistema antioxidante enzimático de todos os genótipos, e apenas no híbrido H.T. 408-11 houve danos oxidativos, tomando-se por base as maiores concentrações de peróxido de hidrogênio e aldeído malônico.

À luz dos dados apresentados e nas presentes condições experimentais, não houve diferenças claras entre os genótipos testados no que respeita à tolerância à seca. A utilização de um material mais sensível à ferrugem (e possivelmente menos tolerante à seca) poderia propiciar uma melhor margem comparativa, e, conseqüentemente, conclusões mais potentes.

REFERÊNCIAS

- Almeida, W. L., *et al.* The interplay between irrigation and fruiting on branch growth and mortality, gas exchange and water relations of coffee trees. **Tree Physiology**, v. 41, p. 35-49, 2021.
- Avila, R. T., *et al.* Elevated air [CO₂] improves photosynthetic performance and alters biomass accumulation and partitioning in drought-stressed coffee plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 177, p. 104137, 2020.
- Blackman, C. J., Brodribb, T. J. Two measures of leaf capacitance: insights into the water transport pathway and hydraulic conductance in leaves. **Functional Plant Biology**, v. 38, p. 118-126, 2011.
- Blum, A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. **Plant, Cell & Environment**, v. 40, p. 4-10, 2016.
- Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins using the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-258, 1976.
- Brodersen, C. R., *et al.* Functional status of xylem through time. **Annual Review of Plant Biology**, v. 70, p. 407-433, 2019.
- Cakmak, I., Horst, J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, p. 463-468, 1991.
- Capucho, A. S. *et al.* Herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 443-03 à ferrugem-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 276-282, 2009.
- Carvalho, C.H.S. **Cultivares de café**. Brasília: Embrapa Café, pp. 247, 2008.
- Conab, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: café: safra 2023 – segundo levantamento – maio/2023. Brasília: Conab, v.10, maio 2023. 44p. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br> >. Acesso em 20 de maio de 2023.
- Creek, D. *et al.* Coordination between leaf, stem, and root hydraulics and gas exchange in three arid-zone angiosperms during severe drought and recovery. **Plant, Cell & Environment**, v. 41, p. 2869-2881, 2018.
- DaMatta, F. M. *et al.* Water relations of coffee leaves (*Coffea arabica* and *C. canephora*) in response to drought. **Journal of Horticultural Science**, v. 68, p. 741-746, 1993.
- DaMatta, F. M. *et al.* Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. **Plant science**, v. 164, p. 111-117, 2003.
- DaMatta, F. M., Ramalho, J. D. C. Impact of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 55-81, 2006.
- DaMatta, F. M. *et al.* Physiological and agronomic performance of the coffee crop in the context of climate change and global warming: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 5264-5274, 2018.
- Demidchik, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and experimental botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

- Dietz, K. J., Zörb, C., Geilfus, C. M. Drought and crop yield. **Plant Biology**, v. 23, p. 881-893, 2021.
- Dubberstein, D. *et al.* Resilient and sensitive key points of the photosynthetic machinery of *Coffea* spp. to the single and superimposed exposure to severe drought and heat stresses. **Frontiers in Plant Science**, p. 1049, 2020
- Dumanović, J. *et al.* The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1-13. 2021.
- Fahad, S. *et al.* Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-16, 2017.
- Fernandes, I. *et al.* Understanding the impact of drought in *Coffea* genotypes: transcriptomic analysis supports a common high resilience to moderate water deficit but a genotype dependent sensitivity to severe water deficit. **Agronomy**, v. 11, p. 2255-2280, 2021.
- Ficklin D L, Novick K A. Historic and projected changes in vapor pressure deficit suggest a continental-scale drying of the United States atmosphere. **Journal of Geophysical Research**, v. 122, p. 2061–2079, 2017.
- Fleta-Soriano, E., Munné-Bosch, S. Stress memory and the inevitable effects of drought: a physiological perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 143, 2016.
- Giannopolitis, C. N., Ries, S. K. Superoxide dismutases: Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309–314, 1977.
- Grossiord, C. *et al.* Plant responses to rising vapor pressure deficit. **New Phytologist**, v. 226, p. 1550-1566, 2020.
- Guedes, F. A. F. *et al.* Transcriptional memory contributes to drought tolerance in coffee (*Coffea canephora*) plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 147, p. 220-233, 2018.
- Hasanuzzaman, M. *et al.* Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. **Antioxidants**, v. 8, p. 384, 2019.
- IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems**. pp. 896, 2019. Disponível em: < <https://www.ipcc.ch/srccl/> >. Acesso: 15/01/2022.
- Lambers H., Oliveira, R. S. **Plant Physiological Ecology**. New York: Springer, pp. 736. 2019.
- Laxa, M. *et al.* The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. **Antioxidants**, v. 8, p. 94, 2019.
- Mantova, M. *et al.* Hydraulic failure and tree mortality: from correlation to causation. **Trends in Plant Science**, v. 27, p. 335-345, 2022.
- Martins, S. C., Sanglard, M. L., Morais, L. E., Menezes-Silva, P. E., Mauri, R., Avila, R. T., Vital, C. E., Cardoso, A. A., DaMatta, F. M. How do coffee trees deal with severe natural droughts? An analysis of hydraulic, diffusive and biochemical components at the leaf level. **Trees**, v. 33, n. 6, p. 1679-1693, 2019.
- McDowell, N. G. *et al.* Mechanisms of woody-plant mortality under rising drought, CO₂ and vapour pressure deficit. **Nature Reviews Earth & Environment**, v. 3, p. 294-308, 2022.

- Menezes-Silva, P. E. *et al.* Photosynthetic and metabolic acclimation to repeated drought events play key roles in drought tolerance in coffee. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 15, p. 4309-4322, 2017.
- Mukarram, M. *et al.* Sensing, signalling, effects and tolerance in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 172, p. 1291-1300, 2021.
- Oguz, M. C. *et al.* Drought stress tolerance in plants: interplay of molecular, biochemical and physiological responses in important development stages. **Physiologia**, v. 2, p. 180-197, 2022.
- Pinheiro, H. A. *et al.* Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany**, v. 96, p. 101-108, 2005.
- Ramalho, J. C. *et al.* Moderate water stress causes different stomatal and non-stomatal changes in the photosynthetic functioning of *Phaseolus vulgaris* L. genotypes. **Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 133-146, 2014.
- Rezende, R. M. *et al.* Agronomic traits of coffee tree progenies from Timor Hybrid x Catuai crossing. **Ciência Rural**, v. 44, p. 775-781, 2014.
- Ribeiro, C. *et al.* Antioxidant system response induced by aluminum in two rice cultivars. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 24, p. 107-116, 2012.
- Semedo, J. N. *et al.* Intrinsic non-stomatal resilience to drought of the photosynthetic apparatus in *Coffea* spp. is strengthened by elevated air [CO₂]. **Tree Physiology**, v. 41, p. 708-727, 2021.
- Setotaw, T. A. *et al.* Breeding potential and genetic diversity of "Híbrido do Timor" coffee evaluated by molecular markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 298-304, 2010.
- Shao, H. *et al.* Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, p. 215-225, 2008.
- Silva, P. E. *et al.* The functional divergence of biomass partitioning, carbon gain and water use in *Coffea canephora* in response to the water supply: implications for breeding aimed at improving drought tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 87, p. 49-57, 2013.
- Trenberth, K. E. *et al.* Global warming and changes in drought. **Nature Climate Change**, v. 4, p. 17-22, 2014.
- Tyree, M. T., Hammel, H. T. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. **Journal of Experimental Botany**, v. 23, p. 267-282, 1972.
- Vanlerberghe, G. C., Martyn, G. D., Dahal, K. Alternative oxidase: a respiratory electron transport chain pathway essential for maintaining photosynthetic performance during drought stress. **Physiologia Plantarum**, v. 157, p. 322-337, 2016.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v. 151, p. 59-66, 2000.
- Viana, M. T. R. *et al.* Variabilidade genética em genótipos de café resistentes à ferrugem utilizados em programas de melhoramento. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 17, p. 80-89, 2018.

Wang, Z. *et al.* Drying tendency dominating the global grain production area. **Global Food Security**, v. 16, p. 138–149, 2018

Zargar, S. M. *et al.* Impact of drought on photosynthesis: Molecular perspective. **Plant gene**, v. 11, p. 154-159, 2017.

Zivcak, M., Brestic, M., Sytar, O. Osmotic adjustment and plant adaptation to drought stress. In: **Drought Stress Tolerance in Plants**, Cham: Springer, v.1, p. 105-143, 2016.