

## IMPACTO DO DÉFICIT HÍDRICO E DO AUMENTO DE TEMPERATURA NAS CARACTERÍSTICAS ESTOMÁTICAS DE *Coffea* spp.

Danielly Dubberstein<sup>1</sup>; José N. Semedo<sup>2,3</sup>; Fábio L. Partelli<sup>1</sup>; Weverton P. Rodrigues<sup>4</sup>; Ana I. Ribeiro-Barros<sup>3,5</sup>; António E. Leitão<sup>3,5</sup>; Maria J. Silva<sup>3,5</sup>; Isabel M. Pais<sup>2,5</sup>; Ana D. Rodrigues<sup>6</sup>; Eliemar Campostrini<sup>4</sup>; Maria C. Simões-Costa<sup>3</sup>; Isabel Moura<sup>3</sup>; Fernando J. Lidon<sup>5</sup>; Fabio M. DaMatta<sup>7</sup>; José C. Ramalho<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup> CEUNES, Universidade Federal Espírito Santo, São Mateus, Brasil. [dany\\_dubberstein@hotmail.com](mailto:dany_dubberstein@hotmail.com), [partelli@yahoo.com](mailto:partelli@yahoo.com)

<sup>2</sup> UIBRG, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Oeiras, Portugal. [jose.semedo@iniav.pt](mailto:jose.semedo@iniav.pt), [isabelppais@sapo.pt](mailto:isabelppais@sapo.pt)

<sup>3</sup> PlantStress&Biodiversity Lab, LEAF, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Oeiras, Portugal. [aribeiro@isa.utl.pt](mailto:aribeiro@isa.utl.pt), [antoniroleitao@isa.ulisboa.pt](mailto:antoniroleitao@isa.ulisboa.pt), [mariajosepsantos@gmail.com](mailto:mariajosepsantos@gmail.com), [cristinasimoescosta@gmail.com](mailto:cristinasimoescosta@gmail.com), [isabelmmoura@gmail.com](mailto:isabelmmoura@gmail.com), [cochichor@mail.telepac.pt](mailto:cochichor@mail.telepac.pt)

<sup>4</sup> Setor Fisiologia Vegetal, CCTA, Universidade Estadual Norte Fluminense - Darcy Ribeiro, Campos dos Goitacazes, Brasil. [campost@uenf.br](mailto:campost@uenf.br), [wevertonuenf@hotmail.com](mailto:wevertonuenf@hotmail.com)

<sup>5</sup> GeoBioTec, DCT, Fac. Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa, Monte de Caparica, Portugal. [fjl@fct.unl.pt](mailto:fjl@fct.unl.pt)

<sup>6</sup> CEF, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal. [anadr@isa.ulisboa.pt](mailto:anadr@isa.ulisboa.pt)

<sup>7</sup> Dept. Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil. [fdamatta@ufv.br](mailto:fdamatta@ufv.br)

**RESUMO:** O calor e a seca constituem as principais limitações ao crescimento e produtividade das plantas e a sua ocorrência conjunta tende a agravar os níveis de estresse. Este trabalho pretendeu estudar as alterações estomáticas foliares em plantas de *Coffea arabica* L. cv. Icatu e *C. canephora* cv. Conilon Clone 153 submetidas a duas condições hídricas (bem regadas, Ctl; seca severa, SS) em condições adequadas de temperatura (25/20 °C, dia/noite), e a posterior aumento gradual de temperatura até 42/30 °C, seguido de um período de recuperação de 14 dias (Rec14) após reposição das condições controle de disponibilidade hídrica e temperatura. Foram avaliados parâmetros estomáticos foliares como: densidade estomática, índice estomático e tamanho de estômatos. Verificaram-se modificações das características estomáticas, promovidas pela seca e temperatura, e dependentes da espécie. A densidade estomática (DE) em CL153 não foi alterada com o estresse hídrico, enquanto que a área dos estômatos diminuiu. Contudo, DE aumentou gradualmente com o calor até um máximo a 42/30 °C, enquanto a área estomática mostrou um comportamento oposto. Em Icatu observou-se a redução da DE com a imposição individual de seca severa e temperatura (só a 42/30 °C), atingindo valores ainda mais baixos com a sobreposição de estresses. O tamanho dos estômatos aumentou apenas com a seca. Em ambos os níveis hídricos observou-se uma redução da área dos estômatos com o aumento de temperatura. Assim, nota-se que as mudanças climáticas no que diz respeito a calor e seca podem causar alterações na morfologia foliar dos cafeeiros, com algumas particularidades entre os genótipos e nos níveis de estresse isolados ou em conjunto.

**PALAVRAS-CHAVE:** alterações climáticas, café, calor, seca

## IMPACT OF WATER DEFICIT AND TEMPERATURE INCREASE IN THE STOMATAL CHARACTERISTICS OF *Coffea* spp.

**ABSTRACT:** Heat and drought are the main limiting conditions to plant growth and productivity, and their simultaneous occurrence tends to aggravate stress levels. We aimed at to study the leaf stomatal changes in plants of *Coffea arabica* L. cv. Icatu and *C. canephora* cv. Conilon Clone 153 submitted to two water conditions (well watered, Ctl; severe drought, SS) under adequate temperature conditions (25/20 °C, day/night), followed by a temperature increase up to 42/30 °C, and a 14-day recovery period (Rec14) after the reposition of water and temperature control conditions. Leaf stomatal characteristics (stomatal density, stomatal index and stomatal size) evaluated along the experiment showed differences promoted by drought and elevated temperature, in a species-dependent manner. In CL153, the stomatal density (SD) in CL153 was not altered with water stress, but the stomata area decreased. However, DE gradually increased with heat until a maximum at 42/30 °C, while a stomata area reduction was observed. In Icatu were observed reductions of SD with the single imposition of severe drought and temperature (only at 42/30 °C), reaching even lower values with the superimposition of stresses. The size of the stomata increased only under drought. Under both water levels, a reduction of stomata area occurs with temperature increase. Thus, it can be observed that climatic changes with respect to heat and drought can cause changes in leaf morphology of coffee trees, with some peculiarities between genotypes and in stress levels alone or together.

**KEY WORDS:** climate change, coffee, drought, heat.

## INTRODUÇÃO

As alterações climáticas ameaçam diretamente a sustentabilidade da agricultura, pois as plantas necessitam de condições adequadas para expressar seu potencial produtivo em quantidade e qualidade (TOZZI e GHINI, 2016). A cultura do cafeeiro é sensível às condições adversas do clima, sendo os estresses por calor e seca aqueles que mais

severamente afetam o crescimento, desenvolvimento e produtividade (SEMEDO et al. 2018; DaMATTA et al., 2018; 2019), e a sua ocorrência conjunta tende a agravar os impactos negativos.

As condições ambientais, nomeadamente de irradiância, temperatura, disponibilidade de água e nutrientes no solo, podem modificar algumas características foliares do cafeeiro, incluindo a dimensão, densidade e índice estomáticos. Estes ajustes permitem um melhor desenvolvimento da planta (MELO et al., 2014; GAMA et al., 2017), trazendo implicações aos processos fotossintéticos, em função de alterações na entrada de CO<sub>2</sub> e a saída de água através da transpiração (RAMALHO et al., 2013). Neste contexto, pretendeu-se avaliar da restrição hídrica e aumento de temperatura nas características estomáticas que ajudam a controlar as trocas gasosas foliares.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas plantas de dois genótipos de café, *Coffea arabica* L. cv. Icatu e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner cv. Conilon Clone 153 (Cultivar Encapa EMCAPA 8131) (BRAGANÇA et al., 2001), com sete anos de idade, cultivadas em câmaras de crescimento *walk-in* (EHHF 10000, ARALAB, Portugal), em vasos de 80 L com um substrato composto por solo, turfa e areia (3:1:3, v/v/v), mantidas em condições ambientais controladas de temperatura (25/20 °C, dia/noite), irradiância (cerca de 700-800 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), [CO<sub>2</sub>] no ar (380 μL L<sup>-1</sup>), humidade relativa (70%), fotoperíodo (12 h) e sem restrição de disponibilidade hídrica. As plantas foram submetidas a duas condições hídricas: 1) Controle (Ctl) - bem regadas,  $RWC_{pd}$  de ca. 95% e 2) seca severa (SS), através da suspensão gradual de rega, com  $RWC_{pd} < 70\%$ . Após cerca de 15 dias para atingir estes níveis e mais cinco dias de estabilização nessas condições, a temperatura foi gradualmente aumentada (0,5 °C dia<sup>-1</sup> da temperatura diurna) desde 25/20 °C até 42/30 °C, com cinco dias de estabilização a 31/25, 37/28 e 42/30 °C para as avaliações. Após reestabelecimento das condições controle de temperatura (25/20 °C) e disponibilidade hídrica avaliou-se a recuperação das plantas ao fim de 14 dias (Rec14). O ensaio teve um total de 83 dias.

Para cada tratamento, foram tiradas impressões da superfície abaxial de folhas recém-maduras, localizadas na parte superior (iluminada) de cada planta, analisando-se ao microscópio óptico três áreas diferentes de cada folha (duas por cada uma de cinco plantas) (RAMALHO et al., 2013). A densidade estomática (DE) foi calculada como o número de estômatos por unidade de área foliar e o índice estomático (IE) foi calculado como  $IE = [(estômatos)/(células\ totais + estômatos)] \times 100$ . Para a determinação da área estomática (AE), 60 estômatos selecionados aleatoriamente foram medidos nas mesmas folhas, usando um micrômetro ocular. A área de cada estômato individual foi calculada como  $AE = \pi ab$ , onde  $a$  e  $b$  são 1/2 comprimento e 1/2 largura, respectivamente. As variáveis foram analisadas por meio de uma *two-way* ANOVA ( $P < 0,05$ ) para quantificar as diferenças entre as duas condições hídricas, entre as temperaturas, e sua interação, seguido pelo teste de Tukey para comparações de médias. Cada ANOVA foi realizada independentemente para cada um dos genótipos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicam que a alta temperatura e o déficit hídrico promoveram mudanças nas características estomáticas de maneira dependente da espécie (Tabela 1). Apesar de uma tendência para aumentar, a densidade estomática (DE) de CL153 não sofreu alterações significativas com a seca, mas diminuiu em Icatu. Neste genótipo os resultados estão de acordo com as observações em *C. arabica* cv. Siriemma que mostram um decréscimo da DE com a seca (MELO et al., 2014). No nosso caso, estas alterações foram acompanhadas de um decréscimo (CL153) ou aumento (Icatu) do tamanho dos estômatos (Tabela 1). A diminuição no tamanho dos estômatos em ambientes com menor disponibilidade hídrica é usualmente interpretado como benéfico para a planta, pois pode diminuir a perda de água transpirada e aumentar a eficiência do seu uso (GRISI et al., 2008; BATISTA et al., 2010). Contudo, foi observado que o comprimento dos estômatos aumenta sob condições limitantes de irrigação, enquanto sua largura diminuiu (ZHANG et al., 2006). Tendo em conta, que diferentes efeitos de fatores abióticos no tamanho dos estômatos dependem da espécie/variedade (XU e ZHOU, 2008), estas alterações podem ser usadas como critério na escolha de cultivares/variedades.

Por outro lado, observou-se que o aumento gradual da temperatura levou ao aumento da DE em CL153, obtendo-se o valor máximo a 42/30 °C. Em Icatu os valores mantiveram-se até 37/28 °C e decresceram a 42/30 °C, não se observando alteração após a reposição de condições adequadas. Tal confirma resultados anteriores da exposição de plantas de *C. canephora* cv. Conilon Clones 02 e 153 e *C. arabica* cv. Icatu, e Catuaí 62 a temperaturas supra-ótimas em experimentos em condições ambientais controladas (RODRIGUES et al., 2016), ou de campo, considerando a variação sazonal de temperatura entre a Primavera e o Verão (RODRIGUES et al., 2018). Com o aumento da temperatura também o tamanho dos estômatos diminuiu em CL153 e Icatu, mas a 42/30 °C apenas CL153 apresenta estômatos significativamente menores, confirmando as observações de Rodrigues et al. (2016). Estes resultados mostram diferentes impactos entre estas duas (próximas) espécies, o que está de acordo com o fato das respostas estomáticas de curto e longo prazo a temperaturas mais altas poderem ser específicas da espécie (HAWORTH et al., 2018).

Considerando a temperatura de 37/28 °C, antes das plantas serem fortemente afetadas a 42/30 °C em vários parâmetros minerais, fisiológicos e bioquímicos (MARTINS et al., 2014; 2016; RODRIGUES et al., 2016), a manutenção (Icatu) e aumento (CL153) da DE, a par da diminuição do tamanho (ambos os genótipos), estarão em linha com a redução (Icatu) e aumento (CL153) de  $g_s$  (RODRIGUES et al., 2016). Os estômatos controlam as trocas gasosas foliares através de um

equilíbrio entre as necessidades de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese e o nível de disponibilidade hídrica, com o tamanho e a densidade estomática a determinarem a condutância difusiva máxima na folha para o CO<sub>2</sub>. De fato, uma maior densidade estomática de estômatos de menor dimensão aumentará a g<sub>s</sub> para uma mesma área total de poros estomáticos, devido a uma menor distância de difusão a percorrer pelo vapor de água (FRANKS e BEERLING, 2009).

Tabela 1. Avaliação da densidade estomática, índice estomático e área estomática de folhas de *Coffea arabica* cv. Icatu e *C. canephora* cv. Conilon Clone 153 (CL153) submetidas a duas condições hídricas (controle, Ctl; seca severa, SS) e crescentes níveis de temperatura de 25/20 °C (controle) até 42/30 °C (dia/noite), e recuperação ao fim 14 dias (Rec 14) após reposição controle das condições hídricas e de temperatura. Os valores representam a média ± erro padrão (n=6). As médias seguidas por mesmas letras maiúsculas (A, B, C, D; para níveis de temperatura), ou minúsculas (a, b; para níveis de água) não diferem estatisticamente entre si. A análise foi efetuada separadamente para cada genótipo.

Genótipo	Água	Temperatura (dia/noite)				
		25/20 °C	31/25 °C	37/28 °C	42/30 °C	Rec14
<b>Densidade estomática (número estomas mm<sup>-2</sup>)</b>						
CL 153	Ctl	250,0 ± 10,0 aB	272,0 ± 12,9 aAB	293,00 ± 15,1 aAB	321,0 ± 12,3 aA	310,7 ± 18,5 aAB
	SS	274,9 ± 14,4 aB	288,2 ± 29,0 aAB	253,49 ± 11,7 aAB	308,6 ± 13,8 aA	279,0 ± 16,6 aAB
Icatu	Ctl	229,6 ± 22,0 aA	226,3 ± 10,4 aAB	227,16 ± 10,8 aA	179,9 ± 5,5 aB	167,1 ± 7,7 aB
	SS	196,7 ± 11,7 bA	177,8 ± 14,5 bB	213,99 ± 9,3 aA	163,1 ± 6,7 aB	184,4 ± 11,0 aB
<b>Índice estomático (%)</b>						
CL 153	Ctl	18,62 ± 0,65 aA	15,69 ± 0,26 aA	15,62 ± 0,26 aA	17,64 ± 0,41 aA	16,75 ± 0,75 aA
	SS	16,68 ± 0,30 aA	17,58 ± 0,76 aA	15,81 ± 0,80 aA	17,46 ± 0,55 aA	17,79 ± 1,08 aA
Icatu	Ctl	18,31 ± 0,52 aA	18,10 ± 0,36 aA	18,91 ± 0,35 aA	16,94 ± 0,56 aA	18,12 ± 0,57 aA
	SS	19,14 ± 0,71 aA	17,61 ± 0,70 aA	18,42 ± 0,68 aA	17,86 ± 0,52 aA	19,31 ± 0,65 aA
<b>Área estomática (µm<sup>2</sup>)</b>						
CL 153	Ctl	272,5 ± 6,8 aA	202,7 ± 4,5 bC	178,6 ± 5,8 bD	164,7 ± 2,8 bD	230,6 ± 4,6 aB
	SS	203,7 ± 6,6 bC	253,9 ± 8,9 aA	224,9 ± 5,1 aBC	206,9 ± 3,1 aC	232,8 ± 3,8 aAB
Icatu	Ctl	280,2 ± 9,5 bAB	211,5 ± 6,8 aD	240,0 ± 3,9 aC	259,5 ± 4,8 aBC	294,5 ± 5,6 aA
	SS	299,6 ± 16,9 aA	203,9 ± 6,6 aC	219,4 ± 5,5 bC	244,7 ± 4,5 aB	289,8 ± 6,1 aA

As médias seguidas por mesmas letras maiúsculas (A, B, C, D) entre níveis de temperatura e mesma letras minúsculas (a, b) entre níveis de água não diferem estatisticamente.

No que diz respeito à interação das condições de estresse, a DE mostrou seguir um padrão de variação mais relacionado com a alteração temperatura, pois independentemente do efeito do déficit hídrico a 25/20 °C (diferente para CL153 e Icatu) a DE variou de forma paralela à observada devido apenas à temperatura (aumentando em CL153 e diminuindo em Icatu). Já o tamanho dos estômatos, observa-se uma reversão do impacto do déficit hídrico em ambos os genótipos. De fato, a 42/30 °C as plantas SS de CL153 mostram estômatos maiores que as plantas Ctl (contrariamente ao observado a 25/20 °C). Já em Icatu o valor das plantas SS é agora menor (mas não significativamente) ao das plantas Ctl (contrariamente a 25/20 °C), mas mostraram decréscimo (como as Ctl) promovido pela alta temperatura. No período de recuperação observou-se uma aproximação aos valores iniciais do experimento. Assim, tal como para diversos outros parâmetros estudados, a presença de ambos os estresses modificou de alguma forma (atenuou, ampliou, reverteu) a resposta destes genótipos ao nível das características estomáticas.

O comportamento do índice estomático mostrou pequenas flutuações em relação à exposição à seca e/ou temperatura alta nestes genótipos, confirmando resultados prévios (RODRIGUES et al., 2016). De fato, esta característica é razoavelmente constante para uma dada espécie, apesar de poder ser afetada, por exemplo, pela umidade atmosférica (GRISI et al., 2008).

## CONCLUSÕES

1 - A alta temperatura e o déficit hídrico promoveram mudanças nas características estomáticas de maneira dependente da espécie.

2 - A densidade estomática em CL153 não foi alterada com o estresse hídrico, enquanto que a área dos estômatos diminuiu, mas DE aumentou gradualmente com o calor a 42/30 °C e ao mesmo tempo continuou a diminuir a área.

Icatu mostrou redução da DE com a imposição individual de seca severa e temperatura (só a 42/30 °C), atingindo valores ainda mais baixos com a sobreposição de estresses. Enquanto que o tamanho dos estômatos aumentou apenas com a seca, em ambos os tratamentos hídricos ocorre uma redução da área dos estômatos com o aumento de temperatura.

3 - Estes resultados evidenciam que as mudanças climáticas podem causar alterações na morfologia foliar dos cafeeiros, mas com algumas particularidades entre os genótipos e nos níveis de estresse isolados ou em conjunto.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 (D. Dubberstein), e teve o suporte financeiro da pela União Europeia, Programa Horizon 2020, edital H2020-SFS-2016-2, ação RIA, projeto BreedCAFS, proposta 727934, e de fundos portugueses da Fundação para a Ciência e a Tecnologia através do projeto PTDC/ASP-AGR/31257/2017 e das unidades de investigação UID/AGR/04129/2013 (LEAF) e UID/GEO/04035/2013 (GeoBioTec). Financiamento do CNPq (bolsas a E. Campostrini, F.L. Partelli, e F.M. DaMatta) são também reconhecidas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, L. A., GUIMARÃES, R. J., PEREIRA, F. J., CARVALHO, G. R & CASTRO, E. M. de. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. *Revista Ciência Agronômica* 41:475-481 (2010).
- BRAGANCA, S. M., CARVALHO, C. H. S de., FONSECA, A. F. A da & FERRAO, R. G. Variedades clonais de café Conilon para o Estado do Espírito Santo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36:765-770 (2001).
- DaMATTA, F.M., AVILA, R.T., CARDOSO, A.A., MARTINS, S.C.V., RAMALHO, J.C. 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* 66(21):5264-5274 (2018). DOI: 10.1021/acs.jafc.7b04537.
- DaMATTA, F.M., RAHN, E., LÄDERACH, P., GHINI, R., RAMALHO, J.C. Why could the coffee crop endure climate change and global warming to a greater extent than previously estimated? *Climatic Change* 152(1):167-178 (2019). DOI: 10.1007/s10584-018-2346-4.
- DUBBERSTEIN, D., RODRIGUES, W. P., SEMEDO, J. N., RODRIGUES, A. P., PAIS, I. P., LEITÃO, A. E., PARTELLI, F. L., CAMPOSTRINI, E., REBOREDO, F., SCOTTI-CAMPOS, P., LIDON, F.C., RIBEIRO-BARROS, A. I., DaMATTA, F. M & RAMALHO, J. C. Mitigation of the Negative Impact of Warming on the Coffee Crop: The Role of Increased Air [CO<sub>2</sub>] and Management Strategies. In: Shanker, A. (Ed.). *Climate Resilient Agriculture, Strategies and Perspectives*. Londres: IntechOpen, Cap.4, p. 57-85 (2018).
- FRANKS, P. J & BEERLING, D. J. Maximum leaf conductance driven by CO<sub>2</sub> effects on stomatal size and density over geologic time. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:10343-10347 (2009).
- GAMA, T. C. P., SALES JUNIOR, J. C., CASTANHEIRA, D. T., SILVIERA, H. R. O & AZEVEDO, H. P. A. Anatomia foliar, fisiologia e produtividade de cafeeiros em diferentes níveis de adubação. *Coffee Science* 12:42-48 (2017).
- GRISI, F. A., ALVES, J. D., CASTRO, E. M., OLIVEIRA, C., BIAGIOTTI, G & MELO, L. A. Avaliações anatômicas foliares em mudas de café ‘Catuai’ e ‘Siriema’ submetidas ao estresse hídrico. *Ciência e Agrotecnologia* 32:1730-1736 (2008).
- HAWORTH, M., COSENTINO, S. L., MARINO, G., BRUNETTI, C., RIGGI, E., AVOLA, G., LORETO, F & CENTRITTO, M. Increased free abscisic acid during drought enhances stomatal sensitivity and modifies stomatal behaviour in fast growing giant reed (*Arundo donax* L.). *Environmental and Experimental Botany* 147:116-124, (2018).
- MARTINS, L.D., TOMAZ, M.A., LIDON, F.C., RAMALHO, J.C. Combined effects of elevated [CO<sub>2</sub>] and high temperature on leaf mineral balance in *Coffea* spp. plants. *Climatic Change* 126(3-4), 365-379 (2014).
- MARTINS, M. Q., RODRIGUES, W. P., FORTUNATO, A. S., LEITÃO, A. E., RODRIGUES, A. P., PAIS, I. P., MARTINS, L. D., SILVA, M. J., REBOREDO, F. H., PARTELLI, F. L., CAMPOSTRINI, E., TOMAZ, M. A., SCOTTI-CAMPOS, P., RIBEIRO-BARROS, A. I., LIDON, F. C., DaMATTA, F. M & RAMALHO, J.C. Protective Response Mechanisms to Heat Stress in Interaction with High [CO<sub>2</sub>] Conditions in *Coffea* spp. *Frontiers in Plant Science* 29:947-964 (2016).
- MELO, E. F., FERNANDES-BRUM, C. N., PEREIRA, F. J., CASTRO, E. M & CHALFUN-JÚNIOR, A. Anatomic and physiological modifications in seedlings of *Coffea arabica* cultivar Siriema under drought conditions. *Ciência e Agrotecnologia* 38:25-33 (2014).
- RAMALHO, J. C., RODRIGUES, A. P., SEMEDO, J. N., PAIS, I. P., MARTINS, L. D., SIMÕES-COSTA, M. C., LEITÃO, A.E.; FORTUNATO, A.S.; BATISTA-SANTOS, P.; PALOS, I.M.; TOMAZ, M.A.; SCOTTI-CAMPOS, P.; LIDON, F. C & DaMATTA, F. M. Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO<sub>2</sub>]. *PLoS ONE* 8:e82712 (2013).
- RODRIGUES, W. P., MARTINS, M. Q., FORTUNATO, A. S., RODRIGUES, A. P., SEMEDO, J. N., SIMÕES-COSTA, M. C., PAIS, I. P., LEITÃO, A. E., COLWELL, F., GOULAO, L., MÁGUAS, C., MAIA, R., PARTELLI, F. L., CAMPOSTRINI, E., SCOTTI-CAMPOS, P., RIBEIRO-BARROS, A. I., LIDON, F. C., DaMATTA, F. M & RAMALHO, J. C. Long-term elevated air [CO<sub>2</sub>] strengthens photosynthetic functioning and mitigates the impact of supraoptimal temperatures in tropical *Coffea arabica* and *C. canephora* species. *Global Change Biology* 22:415-431 (2016).
- RODRIGUES, W. P., SILVA, J. R., FERREIRA, L. S., MACHADO FILHO, J. A., FIGUEIREDO, F. A., FERRAZ, T.

M., BERNADO, W. P., BEZERRA, L. B., ABREU, D. P., CESPOM, L., RAMALHO, J. C., CAMPOSTRINI, E. Stomatal and Photochemical Limitations of Photosynthesis in *Coffea* sp. Plants Subjected to Elevated Temperatures. *Crop & Pasture Science* 69:317-325 (2018).

SEMEDO, J. N., RODRIGUES, W. P., DUBBERSTEIN, D., MARTINS, M. Q., MARTINS, L. D., PAIS, I. P., RODRIGUES, A. P., LEITÃO, A. E., PARTELLI, F. L., CAMPOSTRINI, E., TOMAZ, M. A., REBOREDO, F. H., SCOTTI-CAMPOS, P., RIBEIRO-BARROS, A. I., LIDON, F. C., DAMATTA, F. M & RAMALHO, J.C. Coffee Responses to Drought, Warming and High [CO<sub>2</sub>] in a Context of Future Climate Change Scenarios. In: ALVES, F., LEAL FILHO, W & AZEITEIRO, U. (Ed.). *Climate Change Management. Theory and Practice of Climate Adaptation*. Springer, Cap. 26, p. 465-477 (2018).

XU, Z & ZHOU, G. Responses of Leaf Stomatal Density to Water Status and its Relationship With Photosynthesis in a Grass. *Journal of Experimental Botany* 59:3317-3325 (2008).

ZHANG, Y. P., WANG, Z. M., WU, Y. C & ZHANG, X. Stomatal characteristics of different green organs in wheat under different irrigation regimes. *Acta Agronomica Sinica* 32:70-75 (2006).