

CARACTERIZAÇÃO DE RESPOSTAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Coffea* SUBMETIDOS A ESTRESSE HÍDRICO

Julietta A. S. ALMEIDA¹, E-mail: julietasa@iac.sp.gov.br; Cassia R.L. CARVALHO¹; M. Bernadete SILVAROLLA¹; Flávio ARRUDA¹; Masako T. BRAGHINI¹; Valéria B. LIMA¹; Luiz C. FAZUOLI¹

¹Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP

Resumo:

Estudou-se o efeito da aplicação de restrição hídrica em diferentes genótipos de *Coffea*, pertencentes ao germoplasma de Café, do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), as quais foram mantidas em vasos plásticos (5 L), com substrato composto de solo e de matéria orgânica e em condição de casa de vegetação. Foram realizados dois ensaios, A e B, sendo que no ensaio A, plantas de vinte e dois genótipos foram submetidas a dois ciclos de restrição hídrica aplicados gradualmente, sendo o primeiro de 55 dias, seguido de 81 dias de hidratação e o segundo ciclo de 70 dias de restrição hídrica. O ensaio B também constou dos tratamentos de restrição hídrica e de hidratação como também de plantas de oito genótipos, sendo que a maioria destes foi previamente tratada com Polietilenoglicol (PEG 6000), no estágio de plântula (orelha de onça). Verificou-se que a maioria dos genótipos apresentou elevado grau de murchamento de suas folhas nos dois ciclos de restrição hídrica, porém este foi em média maior no segundo ciclo que no primeiro. Além disto, as plantas submetidas ao tratamentos de restrição hídrica apresentaram menor teor de umidade e maior conteúdo endógeno de prolina. O elevado teor de prolina encontrado caracterizou a ocorrência do evento de ajustamento osmótico o qual é uma das estratégias fisiológicas utilizadas pelas plantas sob condição de estresse hídrico.

Palavras-chave: estresse hídrico, prolina, teor de umidade, resistência estomática.

CHARACTERIZATION OF MORPHOLOGIC AND PHYSIOLOGIC RESPONSE IN COFFEE GENOTYPE PLANTS UNDER WATER STRESS

Abstract:

It was studied the effect of water stress in plants of 22 genotypes of *Coffea*. Two experiments were plotted in green house using plastic pots (5L) filled up with soil and organic matter, with water restriction or not. In the first experiment the plants were submitted to two cycles of 55 and 70 days of water restriction, separated by 81 days of water supply. Similarly in the second experiment it was consisted of 8 genotypes previously treated with PEG (Polyethyleneglycol) in the cotyledonar stage. It was observed that the most plants attained elevated degree of wilt at the final of the evaluations. However, in the second cycle the plants attained a most severe degree of wilt than that observed at the first cycle. At the final of second cycle of the experiment it was verified that the most plants under water restriction showed 40 % of moisture and 70% for those in water supply. Besides, it was verified elevated endogenous content of proline in some genotypes in conditions of water restriction than those in water supply. This results evidenced the occurrence of osmotic adjustment in the genotypes of *Coffea* under water stress.

Key words: water stress, proline, moisture degree, stomatic resistance.

Introdução

A água participa nos vegetais de uma série de reações bioquímicas de complexos controles genéticos. O café arábica, espécie de clima tropical úmido e de temperaturas amenas, encontra no Brasil grandes áreas adequadas a seu cultivo. Entretanto, atualmente, verifica-se uma tendência de expansão da cafeicultura para áreas com limitações hídricas, que afetam a produção quando coincidem com períodos críticos da frutificação, bem como as previsões também vêm sinalizando para um preocupante quadro de mudanças climáticas globais, que certamente culminarão em períodos de seca.

Na natureza as plantas são expostas a diversos tipos de estresses ambientais, os quais podem causar diferentes alterações em processos fisiológicos e biológicos. Além disto, o estresse tem potencial de causar injúria, que resulta em metabolismo alterado podendo ser expresso em redução de crescimento (Hale & Orcutt, 1987), como o estresse hídrico que limita o crescimento da planta e conseqüentemente a sua produtividade (Sharp & Davies, 1979; Ciamporová, 1987; Morgan, 1988).

Plantas sob estresse hídrico utilizam algumas estratégias morfológicas e fisiológicas para sobreviverem a esta condição. O mecanismo de ajustamento osmótico é uma destas estratégias desenvolvidas pelos vegetais para atingir a tolerância à falta de água. O ajustamento osmótico pode prover a manutenção completa ou parcial da turgescência celular (Meyer & Boyer, 1972), além de permitir o crescimento da planta ainda que reduzido. Quando as plantas estão sujeitas ao estresse hídrico os solutos tais como a prolina, glicina, betaína, ácidos orgânicos ou açúcares no citoplasma (Ingram & Bartels, 1996; Meloni et al, 2004) são concentrados no interior das células e levam à diminuição do potencial osmótico. A

prolina age como um osmolito compatível podendo acumular-se em alta concentração sem danificar as macromoléculas celulares (Yoshida et al, 1997; Sofo et, al 2004; Cechin et al, 2006).

O polietilenoglicol (PEG) é uma substância com potencial de induzir situação de estresse hídrico em tecidos vegetais (Hsiao, 1973), tendo sido usado com sucesso em algumas espécies como agente simulador de estresse hídrico em trabalhos de melhoramento genético para resistência a seca (Marschner, 1995).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a resposta de diferentes genótipos de *Coffea* submetidos à condição de estresse hídrico, por meio do estudo de parâmetros morfológicos e fisiológicos.

Material e Métodos

Avaliaram-se plantas com cerca de dois anos de diversos genótipos do Banco de Germoplasma de Café do IAC, Campinas (SP) quanto à sua reação à restrição hídrica em ambiente de casa de vegetação, utilizando-se vasos de 5 L preenchidos com substrato composto por solo e matéria orgânica. As plantas foram submetidas a dois ciclos de restrição hídrica, este aplicado de forma gradual, sendo o primeiro com duração de 55 dias de restrição hídrica, seguido de 81 dias de hidratação normal e o segundo de 70 dias de restrição hídrica, perfazendo a duração total de 206 dias. No primeiro ensaio, denominado A, foram avaliados os seguintes genótipos de *C. arabica*: Catuaí Vermelho IAC 81, Caturra Vermelho, BA10, Mundo Novo, Agaro, Bourbon Vermelho, Semperflorens, EP 131C188 B, Caturra Amarelo, Laurina, Barbuk Sudan, Geisha, Ibaaré, Villa Sarchi, EP 473 C879, EP 473 C612, Moca Grande, EP 131 C91, EP 131 C188A, além de *C. dewevrei* var abeokutae e as cultivares Apoatã e Robusta Capixaba de *C. canephora*. No segundo ensaio denominado B, foram avaliados os seguintes genótipos: Bourbon Vermelho, Catuaí Vermelho IAC 81, Caturra Vermelho, BA10, Mundo Novo, Agaro, Nacional e Laurina, comparando-se mudas que sobreviveram aos tratamentos com PEG na fase de orelha de onça com mudas não tratadas com este agente.

As plantas dos dois ensaios foram avaliadas quanto ao grau de murchamento de suas folhas de acordo com critério de notas, de 1 a 5, sendo: **1.** Ausência de sintomas de murchamento e **5.** Máximo de murchamento da planta. Realizaram-se também medidas de resistência estomática, de transpiração e de temperatura da folha e do ar da câmara, por meio de um porômetro Li-Cor modelo 1300, para os genótipos Apoatã, EP 473C879, Laurina, EP 131C188B e EP 131C91, aos 48 dias do 1º ciclo de restrição hídrica. Determinaram-se também o teor de umidade e o conteúdo endógeno de prolina de plantas estressadas (E) e controle hidratado (H), aos 70 dias do 2º ciclo de restrição hídrica dos ensaios A e B. Para tanto, coletaram-se folhas das plantas, as quais foram trituradas em nitrogênio líquido e congeladas. O teor de umidade foi determinado a partir do material vegetal seco a 100 °C. A determinação da prolina foi realizada de acordo com Bates et al (1973) com modificações, sendo que 0,25 g do material seco foi homogeneizado em 25 mL de solução aquosa de ácido sulfosalicílico (3 %) em balão volumétrico, por 24 horas e filtrado. Do filtrado, uma alíquota de 2 mL foi reagida com 2 mL de solução de ninidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial, por 1 hora a 100 °C e a reação finalizada em banho de gelo. A reação proporcionou um cromóforo róseo que foi extraído com 8 mL de tolueno. A partir do cromóforo em tolueno fez-se a leitura de absorvância em 520 nm. A concentração de prolina foi determinada construindo-se uma curva padrão de prolina.

Resultados e Discussão

As plantas submetidas à condição de restrição hídrica e de hidratação apresentaram elevado grau de murchamento (resposta morfológica) enquanto aquelas hidratadas mantiveram-se túrgidas, de acordo com a escala de grau de murchamento. No ensaio A, as plantas atingiram maior grau de murchamento no 2º ciclo de restrição hídrica que no 1º ciclo (Figura 1). De acordo com as notas atribuídas às plantas estas foram classificadas quanto à sua resposta à restrição hídrica, como tolerantes, intermediárias e sensíveis. As plantas dos genótipos Laurina, Semperflorens, Moca Grande, EP 131 C188B e EP 131 C91, em média, apresentaram as notas mais baixas, tendo sido consideradas tolerantes. Foram classificados como intermediários os genótipos: EP 473 C612, EP 473 C879, Caturra Amarelo, Caturra Vermelho, Catuaí Vermelho IAC 81, Vila Sarchi, Barbuk Sudan, Ibaaré, Geisha, Agaro, BA10, *C. dewevrei* var. abeokutae, EP 131 C188A e Mundo Novo e como sensíveis as cultivares Apoatã e Robustão Capixaba de *C. canephora* e Bourbon Vermelho.

Comparando-se os dados das medições com o porômetro com as respostas das plantas ao estresse hídrico, as quais foram quantificadas pelo sistema de escala de notas no ensaio A, verificou-se que os genótipos Laurina, EP 131 C188B e EP 131 C91 considerados tolerantes no ensaio, apresentaram medidas de resistência estomática da ordem de 29,6 a 37,5 s/cm e transpiração com valores de 0,56 a 0,59 µg/cm²/seg, (Tabela 1). Por outro lado, o genótipo EP 473 C879 considerado intermediário apresentou 51,5 para resistência estomática e 0,35 para transpiração e o genótipo Apoatã, sensível, apresentou valores de 42,1 e 0,42, respectivamente. Sendo o cafeeiro uma espécie perene os mecanismos de adaptação aos fatores de estresses não ocorrem com a mesma velocidade que se desenvolvem em espécies anuais, tornando-se importante então o fator tempo para a expressão de tais mecanismos. Estes genótipos parecem indicar este tipo de comportamento, uma vez que sob estresse mais prolongado os mesmos mostraram-se mais adaptados, alterando-se sua classificação global.

As folhas submetidas às determinações do teor de umidade e de prolina foram coletadas no último dia do 2º ciclo dos ensaios de restrição hídrica. No ensaio A, verificou-se que as plantas submetidas à restrição hídrica apresentaram em média menor teor de umidade, entre 40 a 50 %, que aquelas mantidas sob hidratação que atingiram cerca de 70 % (Figura 2). Nesta figura também se observa o perfil de notas de murchamento atribuídas às plantas tratadas, o qual caracterizou que as notas mais altas estavam associadas ao baixo teor de umidade encontrado nas folhas dos genótipos de *Coffea*.

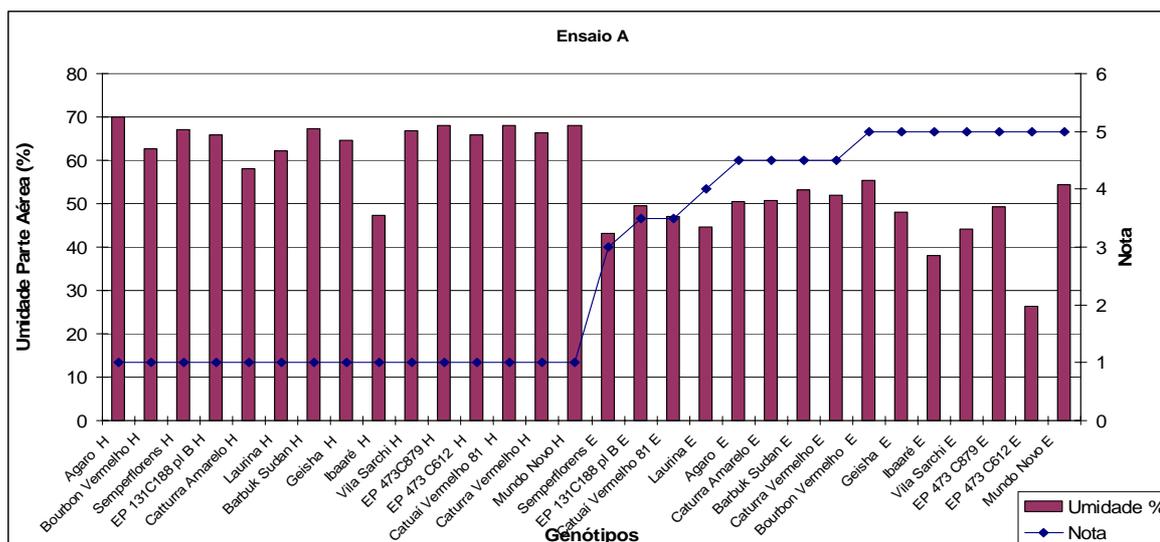


Figura 2 – Determinação do teor de umidade em folhas coletadas de plantas de diferentes genótipos de *Coffea* e notas de grau de murchamento atribuídas a estas no último dia do 2º ciclo de restrição hídrica e de hidratação constante, do ensaio A, mantidas em condição de vaso e de casa de vegetação.

No ensaio B, notam-se que as plantas submetidas à restrição hídrica também apresentaram menores teores de umidade que aquelas mantidas sob hidratação (Figura 3). Neste caso, observa-se que os resultados do teor de umidade foram semelhantes entre a maioria dos genótipos, em média de 50 %. Nota-se ainda, que as maiores notas de murchamento foram atribuídas às plantas que estavam sob restrição hídrica as quais tiveram menor teor de umidade. Da correlação feita entre as notas de avaliação do grau de murchamento e do teor de umidade, encontraram-se valores significativos de -0.7872 para o Ensaio A e de -0.9708 para o Ensaio B, indicando a razoável eficiência do sistema de notas para a sua avaliação.

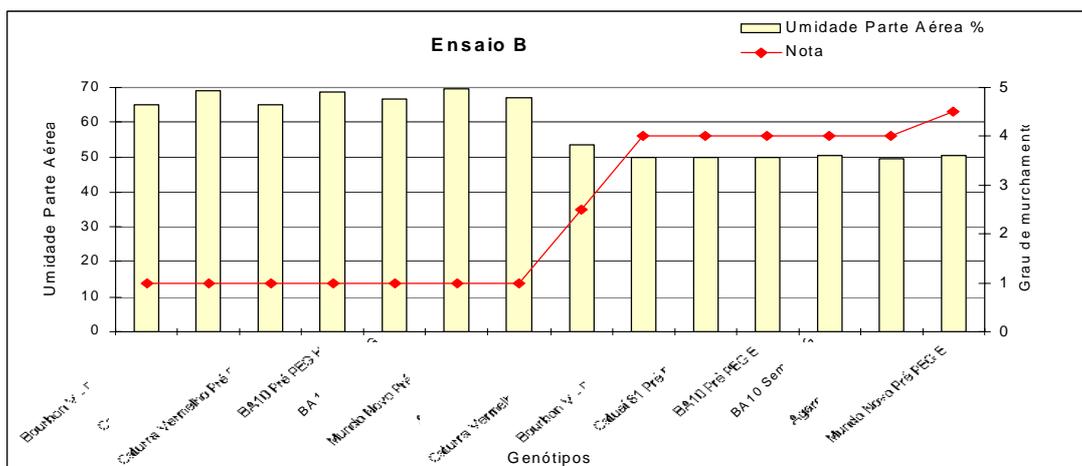


Figura 3 – Determinação do teor de umidade em folhas coletadas de plantas de diferentes genótipos de *Coffea* e notas de grau de murchamento atribuídas a estas no último dia do 2º ciclo de restrição hídrica e de hidratação constante, do ensaio B, mantidas em condição de vaso e de casa de vegetação.

A Figura 4 apresenta resultados médios de dosagem de prolina em parte dos genótipos avaliados nos Ensaio A e B. Comparando-se os valores obtidos, verificou-se que o teor de prolina foi aproximadamente dez vezes maior nas plantas submetidas ao tratamento de restrição hídrica que nas plantas hidratadas. De acordo com Sofo et al (2004) a prolina dentro da célula pode agir como um osmolito com elevada compatibilidade para enzimas e outros macromoléculas da célula, portanto, protegendo-as dos danos induzidos pelo estresse hídrico. Os genótipos sob estresse também mostraram diferenças entre si, tendo os genótipos Caturra Vermelho PEG e o Catuaí Vermelho 81 apresentado os menores teores de prolina. Desta forma, os dados de murchamento das folhas, teor de umidade e conteúdo endógeno de prolina obtidos para as plantas submetidas à restrição hídrica indicaram a efetividade do tratamento aplicado neste estudo para a indução de estresse hídrico nos genótipos avaliados. Além disso, os mesmos sugerem que para a seleção de cafeeiros com tolerância à seca há a necessidade de uma análise conjunta de diversos parâmetros uma vez que, por ser uma espécie perene, a mesma pode lançar mão de várias adaptações que lhe permitam a sobrevivência em condição de estresse hídrico.

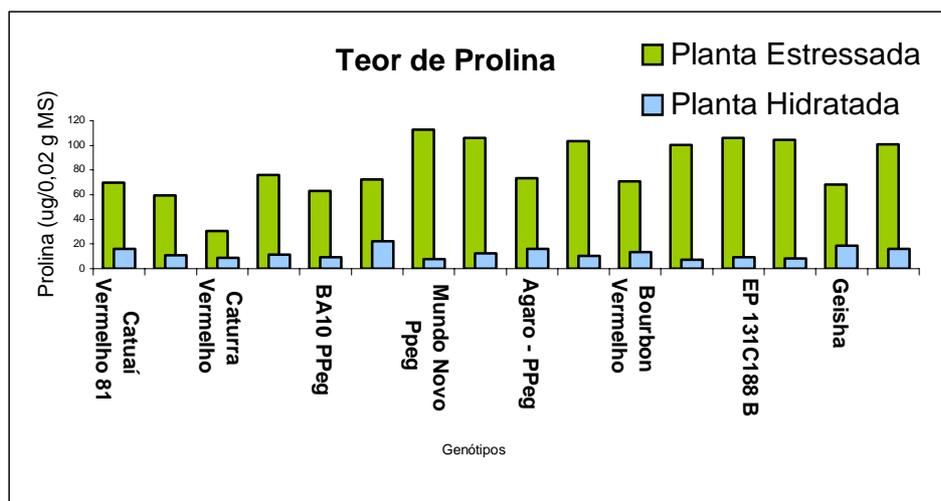


Figura 4 – Determinação do conteúdo endógeno de prolina ($\mu\text{g}/0,02 \text{ g MS}$) em folhas coletadas de plantas de diferentes genótipos *Coffea* submetidas aos tratamentos de restrição hídrica e de hidratação, em condição de vaso e de casa de vegetação.

Conclusões

- Os dados obtidos, neste estudo, sugerem que os tratamentos de restrição hídrica aplicados às plantas dos diferentes genótipos de *Coffea* causaram situação de estresse hídrico, mas estas sobreviveram a esta condição possivelmente devido à utilização de estratégias morfológicas (murchamento das folhas) e fisiológicas, como o ajustamento osmótico via prolina.
- Os parâmetros avaliados das plantas estudadas permitiram classificar os diferentes genótipos de *coffea* quanto à sua resposta à condição de restrição hídrica em: Tolerantes (Laurina, Semperflorens, Moca Grande, EP 131 C188B e EP 131 C91); Intermediários (EP 473 C612, EP 473 C879, Caturra Amarelo, Caturra Vermelho, Catuaí Vermelho IAC 81, Vila Sarchi, Barbuk Sudan, Ibaaré, Geisha, Agaro, BA10, *C. dewevrei* var. abeokutae, EP 131 C188A e Mundo Novo) e Sensíveis (Apoatã e Robustão Capixaba de *C. canephora* e Bourbon Vermelho).

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café.

Referências Bibliográficas

- Bates, L.S. ; Waldren, R.P.; Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39:205-207.
- Ciamporová, M. 1987. The development of structural changes in epidermal cells of maize roots during water stress. *Biol. Plant.* 29(4):290-294.
- Chechin, I.; Rossi, S.C.; Oliveira, V.C.; Fumis, T.F. 2006. Photosynthetic responses and proline content of mature and young leaves of sunflower plants under water deficit. *Photosynthetica.* 44(1):143-146.
- Hale, M.G.; Orcutt, D.M. 1987. The role of phytohormones in stressed plants. In: *The physiology of plant under stress.* Wiley, Inter Science, USA. Pp.145-169.
- Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. *Ann Rev. Plant Physiol.* 24:519-70.
- Ingram, J. Bartels, D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annu.Rev.Plant.Physiol Plant Mol Biol.* 47:377-403.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of higher plants.* 2nd edition. London. Academic Press. 889p.
- Meloni, D.A.; Gulotta, M.R.; Martínez, C.A.; Oliva, M.A. 2004. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Braz.J.Plant Physiol.* 16(1):39-46.
- Meyer, R.F.; Boyer, J.S. 1972. Sensivity of cell division and cell elongation to low water potentials in soybean hypocotyls. *Planta.* 108:77-87.
- Morgan, J.M. 1988. The use of coleoptile responses to water stress to differentiate wheat genotypes for osmoregulation growth and yield. *Ann.Bot.* 62:193-198.
- Sharp, R.E.; Davies, W.P. 1979. Solute regulation and growth by roots and shoots of water-stressed maize plants. *Planta,* 147:43-49.
- Sofa, A.; Dichio, B.; Xiloyannis, C.; Masia, A. 2004. Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiologia Plantarum.* 121:58-65.
- Yoshiba, Y.; Kiyosue, T.; Nakashima, K.; Yamaguchi-Shinozaki, K.; Shinozaki, K. 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant Cell Physiol.* 38(10):1095-1102.