

**MODIFICAÇÕES ECOFISIOLÓGICAS,  
BIOQUÍMICAS E ANATÔMICAS EM  
CAFEIRO PROGÊNIE SIRIEMA SOB  
DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

**EMANUELLE FERREIRA MELO**

**2008**

**EMANUELLE FERREIRA MELO**

**MODIFICAÇÕES ECOFISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E  
ANATÔMICAS EM CAFEIRO PROGÊNIE SIRIEMA SOB  
DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Antonio Chalfun Júnior, PhD

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Melo, Emanuelle Ferreira.

Modificações ecofisiológicas, bioquímicas e anatômicas em cafeeiro  
progênie Siriema sob deficiência hídrica / Emanuelle Ferreira Melo. --  
Lavras: UFLA, 2008.

p.73 : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Antonio Chalfun Júnior

Bibliografia.

1. *Coffea arabica*. 2. Estresse hídrico. 3. Transpiração. 4. Redutase  
do Nitrato. 5. Anatomia. 6. Carboidratos. I. Universidade Federal de  
Lavras. II. Título.

CDD- 583.52041

**EMANUELLE FERREIRA MELO**

**MODIFICAÇÕES ECOFISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E  
ANATÔMICAS EM CAFEIEIRO PROGÊNIE SIRIEMA SOB  
DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 18 de julho de 2008

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro UFLA

Prof. Dr. José Donizeti Alves UFLA

Prof. Antonio Chalfun Júnior, PhD

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

Ao meu querido pai, Manoel Messias Melo (*in memoriam*),

**Ofereço**

A minha mãe, Maria Ivonete.

Aos meus irmãos, Lílian, Erik e Elder.

Ao meu namorado, Marcelo H. Patto Graciano,

**Com amor dedico.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde, proteção e por permitir mais esta conquista.

A minha amada mãe, Maria Ivonete, pelo seu amor, apoio e incentivo durante todo este tempo longe de casa.

A minha irmã Lílian, por todo o seu amor, incentivo e, simplesmente, por ser a melhor irmã do mundo, aos meus irmãos, Erik e Elder, e a toda a minha família, por tudo.

Ao meu namorado, Marcelo Henrique Patto Graciano, pelo amor, companheirismo, paciência e toda a ajuda nos experimentos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, professor Antonio Chalfun Júnior, por toda a sua amizade, orientação e conselhos durante estes dois anos de convívio.

Aos membros da banca examinadora: prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro, prof. Dr. José Donizeti Alves e Dr. Sidnei Deuner (suplente).

Aos professores do setor de Fisiologia Vegetal, por todos os ensinamentos transmitidos.

A minha amiga e irmã, Suerlani por tudo, amizade, carinho, paciência e companhia.

Ao meu querido amigo Guilherme, por toda a amizade, disposição, ajuda e conselhos.

As minhas amigas de sempre, Simone, Andressa e Genáina, pela amizade sincera, durante todos esses anos em Lavras.

Aos colegas de curso e amigos, Agda, Camila, Letícia, Humberto e Cleílton, por todo o carinho e amizade.

Aos colegas de laboratório, Paola, Neidiqueli, Christiane, Camila, Ilisandra, Daniela, Meline, Solange, Sidnei e Marcelo Murad, pela agradável convivência e, a grande ajuda na realização deste trabalho.

Aos funcionários técnico-administrativos do Setor de Fisiologia Vegetal: Celen, Evaristo, Dartagnan, Joel e Odorêncio, por toda a ajuda.

**MUITO OBRIGADA!!!**

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	x
ABSTRACT .....	xi
CAPÍTULO 1.....	12
INTRODUÇÃO GERAL.....	12
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
2.1 O déficit hídrico em plantas.....	14
2.2 Alterações bioquímicas em função do déficit hídrico.....	16
2.3 O material genético Siriema .....	19
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
CAPÍTULO 2.....	25
AVALIAÇÕES ECOFISIOLÓGICAS, ANATÔMICAS E REDUTASE DO NITRATO EM CAFEEIROS PROGÊNIE SIRIEMA SUBMETIDOS AO DÉFICIT HÍDRICO .....	25
RESUMO.....	26
ABSTRACT .....	27
1 INTRODUÇÃO .....	28
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	29
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4 CONCLUSÕES .....	43
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
CAPÍTULO 3.....	47
TEORES DE CARBOIDRATOS E ATIVIDADE DE SUSY E INVERTASES EM CAFEEIROS SIRIEMA SOB ESTRESSE HÍDRICO.....	47
RESUMO.....	48
ABSTRACT .....	49



1 INTRODUÇÃO .....	50
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	54
4 CONCLUSÕES .....	69
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
ANEXOS .....	73

## RESUMO GERAL

MELO, Emanuelle Ferreira. **Modificações ecofisiológicas, bioquímicas e anatômicas em cafeeiro progênie Siriema sob deficiência hídrica.** 2008. 73 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

Este estudo teve como objetivo avaliar as modificações ecofisiológicas, bioquímicas e anatômicas em mudas de cafeeiro progênie Siriema submetidas a diferentes períodos de deficiência hídrica e a sua capacidade de recuperação após 24 e 48 horas de re-irrigação. O experimento foi conduzido na área experimental do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, MG. Quando os tratamentos foram estabelecidos, um grupo de mudas continuou sendo irrigado diariamente, enquanto outro grupo foi submetido à suspensão total da rega até 30 dias. Este grupo foi sub-dividido em três para a avaliação do comportamento das plantas em função do estresse hídrico e sua capacidade de recuperação 24 e 48 horas após a re-irrigação. As avaliações e coletas de folhas e raízes foram realizadas a cada três dias e o experimento montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições por período de avaliação. O tratamento não irrigado apresentou uma expressiva redução no potencial hídrico foliar, sendo mais acentuada a partir do nono dia de avaliação. A re-irrigação das mudas promoveu uma recuperação parcial do estado hídrico das plantas. Nas plantas não irrigadas observou-se um aumento na resistência estomática e uma diminuição gradativa da transpiração, com atividade RN nas folhas com maior alteração, sendo que a partir dos 27 dias sua atividade foi nula. Nas raízes, houve um declínio na RN para todos os tratamentos. As modificações na anatomia foliar foram significativas apenas para a espessura da epiderme da face adaxial e parênquima paliçádico, e este parâmetro, foi superior nas plantas controle. Para a densidade estomática e razão diâmetro polar e equatorial os maiores valores foram observados nas plantas sob déficit hídrico. Observou-se um significativo aumento nos teores de açúcares solúveis totais e redutores tanto nas folhas, quanto nas raízes nos tratamentos não irrigados. Os tratamentos re-irrigados apresentaram a mesma tendência dos não-irrigados, porém com teores menores. Houve uma redução expressiva nos teores de amido nas plantas não-irrigadas em folhas e raízes. As enzimas sacarose sintase e as invertases neutra e ácida tiveram a sua atividade aumentada em decorrência do estresse hídrico.

---

<sup>1</sup> Orientador: Antonio Chalfun-Júnior – UFLA

## ABSTRACT

MELO, Emanuelle Ferreira. **Ecophysiological, biochemical and anatomical changes in coffee tree progeny Siriema under water deficit**. 2008. 73p. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

This study aimed at to evaluate ecophysiological, biochemical and anatomical changes in seedlings of coffee tree progeny Siriema subjected to different periods of water stress and its ability to recover after 24 and 48 hours of re-irrigation. The experiment was conducted in the experimental area of the Plant Physiology, Department of Biology of the Federal University of Lavras, MG. When treatments were established, a group of seedlings continued to be irrigated daily, while another group was referred to a full suspension of irrigation by 30 days. This group was sub-divided into three to assess the plants according to water stress and its ability to recover 24 and 48 hours after re-irrigation. The evaluation of leaves and roots was taken every three days and experiment carried out in a completely randomized design (DIC), with four repetitions for the assessment period. The non-irrigated treatment presented a significant reduction in the leaf water potential being accentuated from the ninth day of evaluation onwards. Re-irrigation promoted a partial recovery of the plant water potential. In the non-irrigated plants there was an increase in the stomatal resistance and a gradual reduction of transpiration having these plants a high RN activity in the leaves. However, at 27 days enzyme activity was null. In roots, there was a decrease for RN activity for all treatments. The anatomy modifications were significant only for the adaxial epiderm and parenchyma palisade thickness, being this last parameter higher for the control plants. For the stomatal density and polar and equatorial diameter ratio the highest values were observed in plants under water deficit. There was a significant increase at the levels of total soluble sugars and reducing ones, both in the leaves and roots of the non-irrigated treatments. The re-irrigated treatments showed similar behavior of the non-irrigated plants, however, lower levels of sugars were detected. Leaves and roots of the non-irrigated plants showed a significant reduction at the levels of starch. Sucrose Synthase and Invertases, neutral and acid, had increased its activity as a result of water stress.

---

<sup>1</sup> Adviser: Antonio Chalfun-Júnior – UFLA

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUÇÃO GERAL**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O café pertence à família Rubiaceae e ao gênero *Coffea*, que compreende cerca de 90 espécies, dentre as quais somente a *Coffea arabica* e a *Coffea canephora* têm importância econômica na produção mundial de café. A espécie *C. arabica* é a mais cultivada, devido às características dos grãos que produzem bebida de sabor suave, enquanto *C. canephora* é, preferencialmente, destinada à produção de café solúvel.

O Brasil destaca-se como o maior produtor mundial de café. Segundo estimativas da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a produção nacional, no ano de 2008, deverá ser de, aproximadamente, 45 milhões de sacas de café beneficiado, superior à da safra passada em 35%.

Desde a sua introdução no Brasil, o café tem sido uma das culturas de maior importância econômica, pois sua produção está relacionada diretamente ao desenvolvimento e à industrialização do país. Nos países produtores de café, há, frequentemente, oscilações na produtividade da cultura ocasionadas por limitações climáticas, como ocorrência de períodos de seca. Com previsões atuais sinalizando para o aumento do aquecimento global nas próximas décadas, um aumento dos períodos de seca certamente acompanhará esse fenômeno, podendo ocorrer uma grave crise hídrica, que pode tornar mais escassa ainda a quantidade de água para a agricultura.

A identificação e a compreensão dos mecanismos de tolerância à seca, bem como o desenvolvimento de tecnologias que auxiliem as plantas a tolerar períodos prolongados de estiagem, são alternativas para a manutenção da produção agrícola brasileira e mundial.

Considerando-se que a deficiência hídrica é um dos condicionantes principais da produtividade do cafeeiro, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as modificações ecofisiológicas, bioquímicas e anatômicas

ocorridas em mudas de cafeeiros progênie Siriema submetidas a diferentes períodos de estresse hídrico e a sua capacidade de recuperação, após 24 e 48 horas de re-irrigação.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 O déficit hídrico em plantas**

A ocorrência de déficit hídrico é uma situação comum à produção de muitas culturas, podendo causar perdas agronômicas devido à diminuição na taxa de crescimento e no desenvolvimento das plantas (Lecoeur & Sinclair, 1996). O déficit hídrico causa a diminuição da atividade fotossintética por meio de uma limitação de CO<sub>2</sub> resultante do fechamento dos estômatos ou por um efeito direto sobre a capacidade fotossintética nos cloroplastos (Lawlor & Cornic, 2002). O controle estomático da transpiração é considerado o principal processo determinando a resposta a curto-prazo de uma planta a condições de seca e afeta diretamente o potencial hídrico da planta e o transporte de solutos no fluxo xilemático (Tardieu & Simonneau, 1998).

O déficit hídrico pode causar vários efeitos no metabolismo das plantas, ocasionando acúmulo ou perda de metabólitos, como carboidratos, ácidos orgânicos, ácido abscísico (ABA) e aminoácidos, além de alterar a atividade de enzimas e síntese de proteínas. Esse acúmulo de metabólitos em plantas sob déficit hídrico é conhecido como ajustamento osmótico, e proporciona à planta um abaixamento do potencial osmótico mediante aumento líquido no soluto intracelular (Chaves, 1991). Esse mecanismo pode auxiliar a planta a manter o turgor, sustentando, dessa maneira, a elongação celular e a expansão de regiões de crescimento com o desenvolvimento do déficit (Premachandra et al., 1992).

A tolerância ao déficit hídrico é uma característica muito importante em qualquer cultivo, para tornar possível a produção em extensas áreas. Torna-se, então, necessário identificar genótipos tolerantes ou resistentes ao déficit hídrico no solo e às condições adversas do meio ambiente, que resultam em altas demandas evaporativas (Fiegenbaum et al., 1991).

O estado hídrico das plantas está muito relacionado aos processos fisiológicos de importância para o vegetal. Processos como transpiração, fotossíntese, respiração e crescimento são muito influenciados pelas mudanças ocorridas na condição hídrica da folha. Nas folhas, ocorre o déficit hídrico quando a taxa de transpiração excede a taxa de absorção de água e esta deficiência pode ser um componente de variados estresses, como baixa disponibilidade hídrica do solo, solos salinos ou temperaturas muito baixas (Bray, 1997). Segundo Santos & Carlesso (1998), a deficiência hídrica provoca alterações no comportamento vegetal, cuja irreversibilidade vai depender do genótipo, da duração, da severidade e do estágio de desenvolvimento da planta.

A capacidade das plantas de se manterem túrgidas é tida como uma característica necessária para a garantia da produção em locais onde ocorre o déficit hídrico. Um componente fundamental na manutenção da turgescência, em resposta à falta de água, é a diminuição da condutância estomática, ou seja, o controle da abertura dos estômatos. Entretanto, quando o estômato se fecha para proteger a planta da perda de água, ele, simultaneamente, restringe a difusão do CO<sub>2</sub> atmosférico, conseqüentemente provocando queda na taxa fotossintética (DaMatta, 2003).

No cafeeiro, os sintomas ocasionados pelo déficit hídrico mostram-se, inicialmente, pelo murchamento das folhas da porção apical da planta, zona de ativo crescimento. Com o aumento do estresse hídrico, as folhas mais jovens dos ramos da porção inferior também tendem a murchar e, em seguida, as folhas adultas e velhas pendem acentuadamente em direção ao solo, mostrando os

bordos mais ondulados que o normal. Em um estágio mais avançado, a falta de água leva as folhas a apresentarem certo grau de enrolamento, paralelo à nervura central. O desfolhamento ocorre apenas quando a seca é muito acentuada (Mazzafera & Carvalho, 1987).

Segundo Martin (2003), o cafeeiro apresenta relativa tolerância à seca, devido à estabilidade de vários parâmetros fisiológicos que permanecem relativamente constantes dentro de determinada faixa de deficiência hídrica. No entanto, deve-se evitar a generalização, pois existem diferenças no comportamento entre cultivares, dentro das duas espécies de importância comercial, *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora*, encontrando-se algumas bastante tolerantes e outras sensíveis.

## **2.2 Alterações bioquímicas em função do déficit hídrico**

Os principais carboidratos, não-estruturais, acumulados em folhas e frutos do cafeeiro são o amido e os açúcares solúveis redutores e não-redutores. Entre os açúcares redutores, os principais são a glicose e a frutose, enquanto o principal açúcar não-redutor é a sacarose, mobilizada nos processos de transporte na direção fonte/dreno (Taiz & Zeiger, 2004). Os carboidratos solúveis (frutose, glicose e sacarose) têm importância na regulação osmótica e no transporte, enquanto os carboidratos insolúveis (amido) são importantes formas de reserva para as plantas.

Em condições normais, as plantas produzem carboidratos por meio da fotossíntese, sendo parte destes para consumo imediato e parte para armazenamento. Porém, a ocorrência de estresse hídrico pode afetar a utilização de carboidratos, pois altera a eficiência com que os fotoassimilados são convertidos para o desenvolvimento de partes novas na planta. Esta condição ocasiona mudanças na divisão dos carboidratos no interior da planta,



condicionando-as a desenvolverem mecanismos de adaptação e resistência (Jordan, 1983).

Os carboidratos desempenham várias funções no processo de déficit hídrico, dentre as quais se podem destacar: os açúcares solúveis têm sido relatados como agentes protetores durante o processo de desidratação celular (Boyer, 1996) e certos carboidratos podem servir como solutos compatíveis, fazendo a manutenção do potencial hídrico pelo reajuste osmótico, além da proteção das células durante a desidratação, pela formação de estruturas vítreas (Nepomuceno et al., 2001).

Sob condições de estresse hídrico, a limitação fotossintética é associada a uma redução da concentração de CO<sub>2</sub>. Com diminuição da fotossíntese, há a redução da quantidade de assimilados disponíveis para exportação como trioses-fosfato do cloroplasto para o citosol e, conseqüentemente, a síntese de sacarose também pode ser diminuída (Lawlor & Cornic, 2002). Devido à restrição da produção e do consumo de fotoassimilados, o déficit hídrico também altera o fracionamento de carboidratos nas folhas e na planta como um todo. Nessas condições, as proporções entre os diferentes carboidratos, como amido, glicose, frutose e sacarose podem ser alteradas (Chaves, 1991).

As alterações nos níveis de carboidratos podem refletir diferenças genótípicas na regulação e na aclimação do metabolismo de carbono em resposta ao déficit hídrico (Lawlor & Cornic, 2002). Alguns trabalhos mostram que uma queda na concentração de amido é uma resposta comum das plantas de café a déficit hídrico de moderado a severo (DaMatta et al., 1997; Praxedes et al., 2006).

Sabe-se que a água tem importância fundamental na resposta fisiológica principalmente na regulação ou na inibição enzimática. Enzimas do metabolismo de carboidratos, como a invertase e a sacarose sintase (Susy), têm papel

importante no metabolismo celular por fornecer hexoses que serão utilizadas como fonte de carbono (Taiz & Zeiger, 2004).

Ainda segundo os mesmos autores, a hidrólise da sacarose em tecidos dreno pode ocorrer via invertases e ou Susy. A quebra da sacarose pelas invertases é uma reação irreversível e totalmente dependente da concentração intracelular de sacarose. A distinção entre os diferentes tipos de invertases baseia-se na sua localização celular e no seu pH de atividade ótima, dividindo-se em ácidas (pH 4,5-5,0), sendo estas vacuolar e de parede, e a alcalina ou neutra do citosol (pH 7,0-7,8). A invertase ácida da parede celular (IAPC) tem sido associada com o transporte de açúcar e a zonas de crescimento ativo, tais como os frutos. Já a invertase ácida do vacúolo (IAV) encontra-se ativa, na maioria das vezes, quando o tecido já está maduro. A invertase neutra do citosol (INC) é considerada uma enzima de manutenção, envolvida na degradação da sacarose quando as atividades da IAPC e Susy são baixas.

A outra rota sacarolítica é catalisada pela Susy e envolve uma clivagem de sacarose dependente de UDP, produzindo UDP-glicose e frutose. Sua atividade é limitada pelas concentrações de sacarose e UDP no citosol. A Susy está, geralmente, associada ao crescimento e à expansão celular, portanto, está presente em quase todos os tecidos das plantas. Catalisa uma reação reversível:  $\text{sacarose} + \text{UDP} \leftrightarrow \text{frutose} + \text{UDP-glicose}$ , sendo a UDP-glicose e a frutose formadas são imediatamente incorporados na formação de componentes para o crescimento celular (Taiz & Zeiger, 2004). A Susy tem seu papel reconhecido em vários processos metabólicos das plantas. Admite-se que a atividade da Susy esteja relacionada, predominantemente, com a síntese de parede celular e de amido (Winter & Huber, 2000). No citoplasma, a Susy pode estar associada à membrana celular, exatamente para fornecer intermediários para a síntese de celulose (Ruan et al., 1995).

De acordo com Martim (2003), há forte correlação entre o aumento na atividade das enzimas responsáveis pela hidrólise do amido e o acúmulo de açúcares em plantas sob estresse hídrico. Quando polissacarídeos de reserva são mobilizados, o produto da hidrólise, freqüentemente, é a sacarose, principal açúcar de transporte em plantas e, para que órgãos em crescimento (drenos) possam metabolizar essa sacarose, torna-se necessária sua degradação.

Durante a assimilação do nitrogênio em compostos orgânicos, o nitrato é, primeiramente, reduzido, na forma amoniacal, por meio de um processo que envolve a participação de duas enzimas - a redutase do nitrato (RN) e a redutase do nitrito (RNi) (Crawford et al., 2000). A enzima redutase do nitrato catalisa o primeiro passo da assimilação de nitrogênio pelas plantas superiores, por meio da redução do nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) (Yaneva et al., 2000).

Uma resposta fisiológica sensível à redução do potencial hídrico em plantas é a alteração da síntese protéica e, em virtude disso, algumas enzimas que apresentam alta relação síntese:degradação, como a RN (Meyers Júnior et al., 1986), exibem forte inibição à redução do potencial hídrico.

A atividade da RN é estreitamente controlada por flutuações ambientais e, normalmente, induzida pela concentração de  $\text{NO}_3^-$ , seu substrato (Matos et al., 2003). A falta de água pode afetar a atividade dessa enzima. Segundo Hsiao (1979), o déficit hídrico moderado, da ordem de -0,8 a -2,0 MPa, pode reduzir sua atividade em 20%, chegando a 50% quando a planta sofre um estresse intenso.

### **2.3 O material genético Siriema**

Segundo Matiello et al. (2004), o material genético Siriema é uma população proveniente do cruzamento entre 'Blue Mountain' e *C. racemosa*, retrocruzada com 'Mundo Novo', no Instituto Agronômico de Campinas (IAC),

em Campinas, SP. Essas plantas foram selecionadas em Caratinga, MG e ali cruzadas com ‘Catimor’, para incorporação de características como a resistência à ferrugem, porte baixo e produtividade. A geração F2 foi selecionada em Varginha, MG; a F3 em Coromandel, MG (que é uma região caracterizada como marginal para o *C. arabica*) e a geração F4, selecionada em Varjão de Minas, MG e também em Coromandel.

Estudando-se a eficiência destas plantas, no que se diz respeito ao seu vigor, foi testada a tolerância à seca desse material, que apresentava 2 anos e cinco meses de idade. Após um período de estresse hídrico e nutricional, Matiello et al. (2003; 2004) verificaram um vigor equivalente às notas 4 e 5, contra 1 a 3 em outros materiais de *C. arabica*. Segundo esses autores, todas as progênes oriundas do material Siriema apresentavam plantas túrgidas, enfolhadas e sem seca de ponteiros, mostrando-se destacadas em relação às plantas vizinhas de variedades de arábica.

Grisi (2006), avaliando plantas de cafeeiros Catuaí e Siriema sob déficit hídrico, verificou a existência de características de tolerância diferencial à seca em mudas do material genético Siriema em relação ao Catuaí. Dias et al. (2007), comparando duas progênes de café quanto à tolerância à seca, concluíram que o material Siriema apresenta melhor manutenção de área foliar e vigor sob condições secas e, por isso, tem sido classificado empiricamente como tolerante à seca.

Estudando várias progênes de Siriema sob déficit hídrico, Carvalho et al. (2007) inferiram que genótipos mais precoces, os quais apresentam diferenciação floral mais cedo, apresentaram maior tolerância à seca em relação aos genótipos mais tardios, sugerindo que esse mecanismo de tolerância à seca possa ser utilizado para a seleção de genótipos mais adaptados a ambientes com baixa disponibilidade de água durante o período de outono/inverno.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOYER, J. S. Advances in drought tolerance in plants. **Advances in Agronomy**, New York, v. 56, p. 187-218, Jan. 1996.
- BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 2, n. 2, p. 48-54, Feb. 1997.
- CARVALHO, C. H. S.; BENTO, M. A.; MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R.; FERREIRA, R. A.; PADILHA, L.; VILELA, A. F. Identificação de genótipos de café mais adaptados a ambientes com déficit hídrico durante o período de outono/inverno. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 33., 2007, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2007. p. 62-63.
- CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 234, p. 1-16, Jan. 1991.
- CRAWFORD, N. M.; KAHN, M. L.; LEUSTEK, T. ; LONG, S. R. Nitrogen and sulfur In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockeville: American Society of Plant Physiologists, 2000. Cap. 16, p. 786-849.
- DaMATTA, F. M. Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. In: HEMANTARANJAN, A. (Ed.). **Advances in plant physiology**. Jodhpur: Scientific, 2003. v. 5, p. 227-265.
- DaMATTA, F. M.; MAESTRI, M.; BARROS, R. S. Photosynthetic performance of two coffee species under drought. **Photosynthetica**, Prague, v. 34, p. 2, p. 257-264, 1997.
- DIAS, P. C.; ARAÚJO, W. L.; MORAES, G. A. B. K.; BARROS, R. S.; DAMATTA, F. M. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 164, n. 12, p. 1639-1647, Dec. 2007.
- FIEGENBAUN, V.; SANTOS, D. S. B.; MELLO, V. D. C.; SANTOS FILHO, B. G. dos; TILLMANN, M. A. A.; SILVA, J. B. da. Influência do déficit hídrico sobre os componentes de rendimento de três cultivares de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 275-280, fev. 1991.

GRISI, F. A. **Relações hídricas, bioquímicas e anatômicas de mudas de café (*Coffea arabica* L.) 'Catuaí' e 'Siriema' submetidas a déficit hídrico.** 2006. 59 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

HSIAO, T. C. Plant responses to water deficits, efficiency and drought resistance. **Agricultural Meteorology**, Amsterdam, v. 14, n. 1-2, p. 59-84, 1979.

JORDAN, W. R. Whole plant response to water deficits: an overview. In: TAYLOR, H. M.; JORDAN, W. R.; SINCLAIR, T. R. **Limitations to efficient water use in crop production**, Madison: ASA/CSSA/SSA, 1983. p. 289-317.

LAWLOR, D. H.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 275-294, Feb. 2002.

LECOEUR, J.; SINCLAIR, R. T. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 2, p. 331-335, Mar./Apr. 1996.

MARTIM, S. A. **Pulverização do cafeeiro com Açúcar: potencial de uso em mudas submetidas à deficiência hídrica e na recuperação de plantas atingidas por Glyphosate.** 2003. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R.; SILVA, M. B.; FERREIRA, R. A. Seleção de progênies de café visando resistência à ferrugem do cafeeiro. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ & SAÚDE, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Brasília: Embrapa Café, 2003. p. 243.

MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R.; SILVA, M. B. Maior vigor e resistência à seca em cafeeiros Siriema. **Revista Brasileira de Tecnologia Cafeeira**, v. 1, n. 2, p. jul./ago. 2004.

MATOS, N. N.; TEXEIRA JUNIOR, A. C.; SILVEIRA, J. A. G. Influência do porta-enxerto no comportamento fisiológico de mudas de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) submetidas a estresses. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 27-31, abr. 2003.

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

MEYERS JUNIOR, O.; YOPP, J. H.; KRISHNAMANI, M. R. S. Breeding soybeans for drought resistance. **Plant Breeding Reviews**, Purdue, v. 4, p. 203-243, 1986.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância a seca em plantas - Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 4, n. 23, p. 12-18, Nov./dez. 2001.

PREMACHANDRA, G. S.; SANEOKA, H.; FUGITA, K.; OGATA, S. Osmotic adjustment and stomatal response to water deficits in maize. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, n. 256, p. 1451-1456, Nov. 1992.

PRAXEDES, S.C.; DaMATTA, F. M.; LOUREIRO, M. E.; FERRÃO, M. A. G.; CORDEIRO, A. T. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. Kouillou) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 3, p. 263-273, July 2006.

RUAN, Y. L.; CHOUREY, P. S.; DELMER, D. P.; PREZ, G. L. Soluble invertase from grape berries: purification, deglycosilation and antibody specificity. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 33, n. 1, p. 25-31, 1995.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 287-294, set./dez. 1998.

TAIZ, L.; ZEIGUER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 720 p.

TARDIEU, F.; SIMONNEAU, T. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modeling isohydric and anisohydric behaviours. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p. 419-432, Mar. 1998. Special.

YANEVA, I. A.; BAYDANOVA, V. D.; VUNKOVA-RADEVA, R. V. Nitrate reductase activation state in leaves of molybdenum-deficient winter wheat. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 157, n. 5, p. 495-501, Nov. 2000.

WINTER, H.; HUBER, S. C. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, Boca Raton, v. 35, n. 4, p. 253-289, 2000.



## **CAPÍTULO 2**

### **AVALIAÇÕES ECOFISIOLÓGICAS, ANATÔMICAS E REDUTASE DO NITRATO EM CAFEEIROS PROGÊNIE SIRIEMA SUBMETIDOS AO DÉFICIT HÍDRICO**

## RESUMO

MELO, Emanuelle Ferreira. Avaliações ecofisiológicas, anatômicas e redutase do nitrato em cafeeiros progênie Siriema submetidos ao déficit hídrico. In: \_\_\_\_\_. **Modificações ecofisiológicas, bioquímicas e anatômicas em cafeeiro progênie Siriema sob deficiência hídrica.** 2008. Cap.2, p. 25-46. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

Este estudo teve como objetivo avaliar alguns aspectos ecofisiológicos, anatômicos e atividade da enzima redutase do nitrato (RN) em mudas de cafeeiro progênie Siriema submetidos a diferentes períodos de estresse hídrico e a sua capacidade de recuperação após 24 e 48 horas de re-irrigação. O experimento foi conduzido na área experimental do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, MG. Quando os tratamentos foram estabelecidos, um grupo de mudas continuou sendo irrigado diariamente (controle), enquanto outro grupo foi submetido à suspensão total da rega até 30 dias. Este grupo foi sub-dividido em três para a avaliação do comportamento das plantas em função do estresse hídrico e sua capacidade de recuperação 24 e 48 horas após a re-irrigação. As avaliações e coletas de folhas e raízes foram realizadas a cada três dias e o experimento montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições por período de avaliação. O tratamento não-irrigado apresentou uma expressiva redução no potencial hídrico foliar, sendo mais acentuada a partir do nono dia de avaliação. A re-irrigação das mudas promoveu uma recuperação parcial do estado hídrico das plantas. Nas plantas não irrigadas observou-se um aumento na resistência estomática e uma diminuição gradativa da transpiração, com atividade RN nas folhas com maior alteração, sendo que a partir dos 27 dias sua atividade foi nula. Nas raízes, houve um declínio na RN para todos os tratamentos. As modificações na anatomia foliar foram significativas apenas para a espessura da epiderme da face adaxial e parênquima paliçádico, e este parâmetro, foi superior nas plantas controle. Para a densidade estomática e razão diâmetro polar e equatorial os maiores valores foram observados nas plantas sob déficit hídrico.

---

<sup>1</sup> Orientador: Antonio Chalfun-Júnior – UFLA

## ABSTRACT

MELO, Emanuelle Ferreira. Ecophysiological, anatomical evaluations and nitrate reductase activity of coffee tree progeny Siriema submitted to water deficit. In: \_\_\_\_\_. **Ecophysiological, biochemical and anatomical changes in coffee tree progeny Siriema under water deficit**. 2008. Chap. 2, p. 24-45. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

This study aimed at to evaluate ecophysiological, anatomical aspects and activity of the enzyme nitrate reductase (NR) in seedlings of coffee progeny Siriema subjected to different periods of water stress and its ability to recover after 24 and 48 hours of re-irrigation. The experiment was conducted in the experimental area of the Plant Physiology, Department of Biology of the Federal University of Lavras, MG. When the treatments were established, a group of seedlings continued to be irrigated daily (control), while another group was referred to a full suspension of irrigation by 30 days. This group has been subdivided into three to assess the plants according to water stress and its ability to recover 24 and 48 hours after re-irrigation. The evaluations and collections of leaves and roots were held every three days and experiment carried out in a completely randomized design (DIC), with four repetitions for the assessment period. The non-irrigated treatment presented a significant reduction in the leaf water potential being accentuated from the ninth day of evaluation onwards. Re-irrigation promoted a partial recovery of the plant water potential. In the non-irrigated plants there was an increase in the stomatal resistance and a gradual reduction of transpiration having these plants a high RN activity in the leaves. However, at 27 days enzyme activity was null. In roots, there was a decrease for RN activity for all treatments. The anatomy modifications were significant only for the adaxial epiderm and parenchyma palisade thickness, being this last parameter higher for the control plants. For the stomatal density and polar and equatorial diameter ratio the highest values were observed in plants under water deficit.

---

<sup>1</sup> Adviser: Antonio Chalfun-Júnior – UFLA

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as *comoditis* naturais, o café tem o seu valor ultrapassado apenas pelo petróleo, pois é a segunda mercadoria mais comercializada no mundo. Entretanto, um problema crescente na produção de café é causado pela seca prolongada. Várias pesquisas têm demonstrado como o déficit hídrico afeta severamente o crescimento das plantas e, conseqüentemente, a produção (Arruda & Grande, 2003).

Previsões atuais sinalizam para um aumento do aquecimento global nas próximas décadas e há um consenso de que as mudanças climáticas que estão acontecendo e os estresses gerados por estas situações extremas continuarão impondo condições cada vez mais difíceis para o cultivo de plantas, em muitas partes do mundo (White et al., 2004).

Uma resposta fisiológica sensível à redução do potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) em plantas é a alteração da síntese protéica e, em virtude disso, algumas enzimas que apresentam alta relação síntese:degradação, como a redutase do nitrato (RN) (Meyers Júnior et al., 1986), exibem forte inibição à redução  $\Psi_w$ . A RN é a primeira enzima na via de assimilação do nitrato, assumindo, portanto, papel de extrema importância no metabolismo vegetal (Campbell, 1988). A estimativa da atividade da RN tem sido utilizada, com sucesso, como parâmetro indicativo de estresses e de outras mudanças associadas aos fatores moduladores do crescimento das plantas (Carelli et al., 1996).

Apesar dos progressos já alcançados e das evidências que indicam o Siriema como tolerante à seca (Dias et al., 2007), não existem estudos que expliquem os mecanismos bioquímicos envolvidos nessa tolerância. O conhecimento acerca do déficit hídrico e das respostas das plantas, do ponto de vista fisiológico, torna-se de fundamental importância para que se possam gerar

novas tecnologias, como o desenvolvimento de mecanismos que auxiliem as plantas a tolerar períodos prolongados de estiagem, que serão essenciais na manutenção da produção agrícola brasileira e mundial.

Nesse sentido, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar algumas alterações ecofisiológicas, anatômicas na atividade da enzima redutase do nitrato em mudas de cafeeiro progênie Siriema, comparando-se o comportamento de plantas irrigadas e não-irrigadas e a sua capacidade de recuperação após 24 e 48 após o estresse.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Montagem e condução do experimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação coberta com sombrite 50% de interceptação da radiação solar, localizada na área experimental do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG, no período de 2 de junho a 1º de julho de 2007. Foram utilizadas mudas de *Coffea arabica* L. progênie Siriema com seis meses de idade, com seis a oito pares de folhas, cultivadas em sacolas plásticas com capacidade de 3 litros, provenientes da Fundação Procafé, em Varginha, MG. Antes da indução dos tratamentos, as mudas foram adubadas com solução de nitrato de potássio, na concentração de 30 mM.

As plantas foram irrigadas diariamente, mantendo-se o nível de água no solo próximo à capacidade de campo, durante quatro semanas. Quando os tratamentos foram estabelecidos, um grupo de mudas continuou sendo irrigado diariamente (controle), enquanto outro grupo foi submetido à suspensão total da

rega até 30 dias. Este grupo foi subdividido em três para a avaliação do comportamento das plantas, em função do estresse hídrico e da sua capacidade de recuperação 24 e 48 horas após o estresse. As avaliações e as coletas de folhas e raízes foram realizadas diariamente e o experimento montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições por período de avaliação. Cada repetição correspondia a uma planta.

## **2.2 Características avaliadas**

### **2.2.1 Características hídricas**

A avaliação do potencial hídrico de antemanhã foi realizada com o auxílio de uma câmara de pressão (Soil moisture – Modelo 3005), entre às 5 e às 6 horas, no quarto par de folha totalmente expandido, em quatro mudas de cada tratamento, até o final do experimento.

A resistência estomática e a transpiração foram avaliadas entre às 10 e às 11 horas com o auxílio de um porômetro (Steady State Porometer, Licor 1600M), utilizando uma folha do terceiro par totalmente expandido, em quatro mudas por tratamento.

### **2.2.2 Atividade da enzima redutase do nitrato**

A atividade *in vivo* da redutase do nitrato (RN) foi determinada conforme metodologia descrita por Queiroz et al. (1993), com algumas modificações. A coleta das folhas e raízes foi realizada às 9 e às 14 horas, respectivamente. Amostras de discos foliares de 3,5 mm de diâmetro, com massa de aproximadamente 0,4 g de matéria fresca foram retiradas com o auxílio de um perfurador e introduzidas no meio de incubação composto de tampão fosfato

de potássio 200 mM, pH 7,5, propanol 100%, triton 100%, cloranfenicol 1.000 ppm. Em seguida, foram adicionados, a cada frasco, 0,5 mL de nitrato de potássio 1 M e estes foram submetidos a vácuo (650 mm Hg), por 1 minuto, após o que se introduziu o ar e, novamente, vácuo por 1 minuto. Em seguida, os frascos foram tampados e incubados em banho-maria, com agitação, a 30°C, por 40 minutos, no escuro.

Para a atividade da RN radicular, após a coleta, as raízes foram lavadas em água destilada e, então, fragmentadas com auxílio de um bisturi. Aproximadamente 0,4 g desse material foram acondicionados em tubos de ensaio com o mesmo meio de incubação descrito para as amostras foliares exceto, o triton 100%. Os tubos foram submetidos ao borbulhamento do meio de incubação com nitrogênio gasoso, por um período de dois minutos e, logo depois, incubados em banho-maria, a 30°C, por 40 minutos no escuro.

Para a quantificação do nitrito formado, foram retiradas alíquotas do meio de incubação e adicionadas ao meio de reação, composto de 1 mL de sulfanilamida 1% em HCl 1,5 N, 1 mL de dicloridrato de N-1-naftiletileno diamina 0,02%. As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm e a atividade da enzima foi expressa em  $\mu\text{mol de NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$ .

### **2.2.3 Avaliação anatômica**

Trinta dias após a suspensão da rega, foram coletadas folhas do segundo par completamente expandido de quatro indivíduos por tratamento, correspondentes às repetições. O material coletado foi fixado e conservado em álcool 70%.

Utilizou-se um micrótomo de mesa para a obtenção das seções transversais no terço médio das folhas. Os cortes paradérmicos foram realizados manualmente no terço médio da superfície da face abaxial das folhas. Para clarificação das seções transversais, utilizou-se hipoclorito de sódio 5% e uma mistura de azul de astra e safranina para coloração (Kraus & Arduin, 1997). As seções paradérmicas foram coradas com solução de safranina 1%. Glicerina 50% foi utilizada na montagem das lâminas.

Nas folhas, foram medidas as espessuras das epidermes da face adaxial e abaxial, parênquima paliçádico e esponjoso e do limbo foliar. Foram observados cinco campos por repetição, totalizando 20 campos por tratamento.

A densidade estomática foi expressa em números de estômatos por  $\text{mm}^2$ , segundo a técnica de Labouriau et al. (1961). Foram utilizados cinco campos de quatro indivíduos por tratamento, para a determinação da densidade estomática na epiderme da face abaxial e a mensuração dos diâmetros polar e equatorial dos estômatos.

Todas as medições foram efetuadas por meio do programa SigmaScan Pro 5 e os dados submetidos à análise estatística pelo Sisvar, com teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Para o tratamento controle, o potencial hídrico manteve-se praticamente constante, com valores próximos a -0,2 MPa, durante o período avaliado (Figura 1). Entretanto, para as mudas submetidas à suspensão da irrigação, observou-se diminuição gradativa no potencial hídrico a partir do sexto dia de condução do experimento, chegando a -3,5 MPa, aos 30 dias. Para as mudas que foram re-irrigadas após cada período de estresse hídrico, a avaliação realizada após 24



horas mostrou expressiva recuperação do potencial hídrico, sendo que, aos 27 dias, o potencial hídrico ainda apresentava valores inferiores a -2,0 MPa. Para o tratamento re-irrigado 48 horas, foi observada a maior recuperação do potencial hídrico, chegando a valores próximos aos observados pelas mudas mantidas irrigadas (controle) até os 24 dias. Aos 30 dias, esta avaliação não foi realizada nos tratamentos re-irrigados 24 e 48 horas, devido à abscisão foliar ocorrida nestas plantas. Aos 27 dias, o potencial hídrico ainda estava próximo a -2,0 MPa, valores estes considerados prejudiciais ao cafeeiro, uma vez que causam redução da condutância estomática e, conseqüentemente, das taxas fotossintéticas (Lima et al., 2002). Estes resultados mostram que mudas de cafeeiro progênie Siriema sobrevivem a períodos prolongados de déficit hídrico e apresentam rápida recuperação do seu estado hídrico quando novamente re-irrigadas.

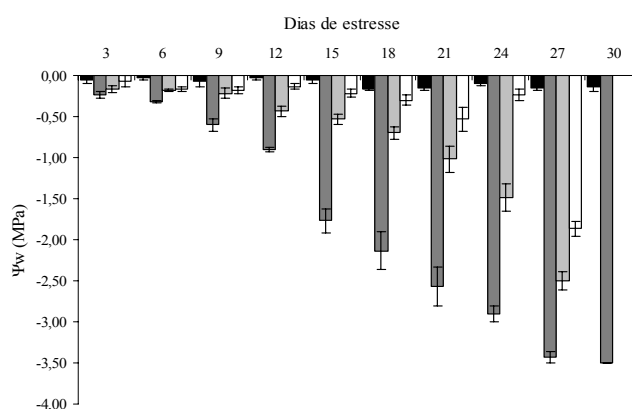


FIGURA 1. Potencial hídrico foliar de mudas de cafeeiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (■), não-irrigadas (■), re-irrigadas 24 horas (■) e re-irrigadas 48 horas após o estresse – R148 (□). As barras representam o erro padrão da média de quatro repetições.

A re-irrigação foi eficiente na recuperação do potencial hídrico, que foi acompanhada pelo aumento da condutância estomática. Resultados semelhantes foram observados por Pinheiro et al. (2005), após re-irrigar clones de *Coffea robusta* submetidos ao estresse hídrico ( $\Psi_w = -3,0$  MPa), enfatizando o papel do “status” hídrico da folha no controle estomático.

O potencial de água da folha descreve o estado energético da mesma, cujos gradientes explicam os fluxos de água no sistema solo-planta-atmosfera. Embora haja variação ao longo do dia, mesmo em plantas irrigadas, esse parâmetro descreve o estado hídrico da planta e tem sido muito utilizado em estudos de relações hídricas dos vegetais (Westgate, 1994). De acordo com Rena & Maestri (2000), em cafeeiros no campo, o potencial hídrico foliar de antemanhã raramente cai a valores menores que  $-1,5$  MPa, pois, sob condições naturais, o déficit hídrico é estabelecido lenta e gradualmente, permitindo às plantas ajustarem-se a essa condição, minimizando os impactos de tensões ambientais.

A resistência estomática para as plantas mantidas irrigadas sofreu pouca alteração ao longo do período experimental (Figura 2). Nas plantas não irrigadas, até o 12º dia, quando potencial hídrico apresentava valores próximos a  $-0,8$  MPa, a resistência estomática não foi afetada. Entretanto, o progressivo estresse acarretou em aumentos expressivos na resistência estomática a partir dos 15 dias do início do experimento, chegando a, aproximadamente,  $325 \text{ s cm}^{-1}$  no último período de avaliação, aos 30 dias. Conforme observado no potencial hídrico, a re-irrigação das mudas também favoreceu a recuperação da resistência estomática, principalmente para o tratamento 48 horas re-irrigadas.

Estes resultados mostram que a resistência estomática teve um comportamento, como era de se esperar, inversamente proporcional ao potencial hídrico.

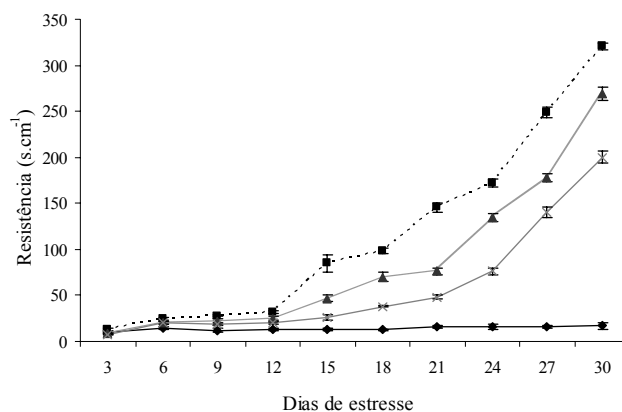


FIGURA 2. Resistência estomática em mudas de café progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (-♦-), não-irrigadas (--■--), re-irrigadas 24 horas (...▲...) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (-x-). As barras representam o erro padrão da média de quatro repetições.

A resistência estomática é simultaneamente afetada por diversos fatores ambientais e, por isso, os esforços para correlacioná-la com as variáveis de um determinado ambiente e com dados de campo nem sempre têm resultado em sucesso (Silva et al., 1998). A resistência estomática de folhas iluminadas depende da temperatura do ar, do déficit de pressão do vapor d'água (DPV), da concentração de CO<sub>2</sub> e do potencial da água no solo e, por isso, exige seleção adequada dos dados de campo que devem ser analisados (Jarvis, 1976). O fechamento estomático evita a ocorrência de danos aos sistemas metabólicos, ajustando-os ao déficit de umidade na planta, resultando em um aumento temporário do potencial hídrico na folha.

À medida que a resistência estomática aumentou (Figura 2) a transpiração diminuiu gradativamente (Figura 3). No tratamento controle, foi observada menor resistência estomática e, conseqüentemente, estas plantas

mostraram maior transpiração, com ligeira variação ao longo do período avaliado, relacionada às diferentes condições climáticas pontuais. Por outro lado, a suspensão da irrigação promoveu, ao longo do experimento, uma redução drástica da transpiração, apresentando, ao final do período avaliado, valores próximos de zero. Para as plantas re-irrigadas, observou-se comportamento semelhante para os dois tratamentos ao longo do período avaliado, tendo somente até 12 dias ocorrido recuperação expressiva da transpiração.

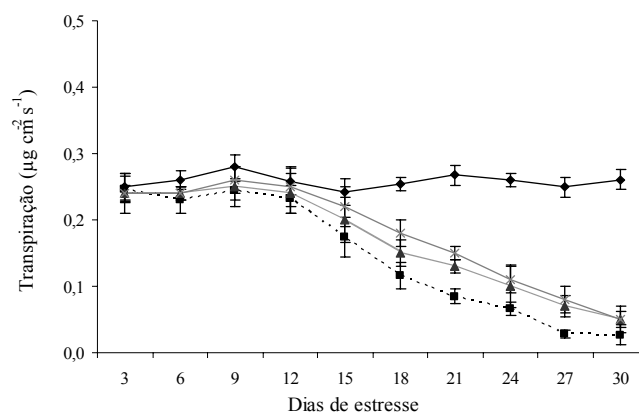


FIGURA 3. Transpiração em mudas de café progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (-♦-), não-irrigadas (-■-), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (-x-). As barras representam o erro padrão da média de quatro repetições.

Uma das primeiras estratégias utilizadas pela planta do café para minimizar as perdas de água ocorridas com a transpiração em condições de estresse hídrico é o fechamento dos estômatos (Barros et al., 1997). Em estudos de adaptação das culturas às regiões com baixas precipitações, o objetivo

principal é o aumento da produtividade, associado ao uso racional e econômico da água. No entanto, de acordo com Turk & Hall (1980), a tendência natural das culturas é manter a transpiração com risco de completa exaustão da água disponível no solo, com sérios danos estruturais e fisiológicos aos tecidos.

A taxa transpiratória, variável de acordo com os diferentes regimes hídricos, evidencia que a planta pode acionar mecanismos de defesa contra a perda de água quando a umidade é deficiente no solo, mesmo que a radiação seja elevada. Tal procedimento pode ser prejudicial ao pleno crescimento e desenvolvimento vegetal, mas permite garantir a sobrevivência, desde que o déficit hídrico não seja altamente severo e prolongado (Silva et al., 1998).

A regulação estomática é um mecanismo utilizado pela plantas para evitar a perda de água, a qual é afetada, em muitos casos, pelo déficit de pressão de vapor, conforme verificaram Hernandez et al. (1989), em trabalho com a espécie *Coffea arabica*, analisando a condutância foliar à difusão de gases em função da umidade atmosférica.

A redutase do nitrato (RN) avaliada nas folhas, de maneira geral, para as plantas controle, sofreu pouca variação em sua atividade ao longo do período experimental (Figura 4). Entretanto, para as plantas submetidas ao déficit hídrico, houve ligeiro declínio na atividade da RN do primeiro até 12º dia de avaliação, em relação às plantas controle. A partir desse período, foi observada queda gradativa até a última avaliação, realizada aos 24 dias para este tratamento, de, aproximadamente, 67% entre o início e o final das avaliações. Esta expressiva redução na atividade da RN nas folhas coincide com o período de maior declínio no potencial hídrico (Figura 1) que, a partir dos 15 dias, já apresentava valores próximos a -2,0 MPa. Já os tratamentos re-irrigados apresentaram pequena recuperação na atividade da RN em relação às plantas submetidas ao estresse hídrico, sendo a maior diferença observada aos 15 dias para o tratamento 48 horas de re-irrigação, porém, não retornando a uma

atividade semelhante à observada nas plantas controle. Isto significa que, a partir desta data, as plantas começaram a sofrer danos irreversíveis.

Para os tratamentos com suspensão da irrigação e os re-irrigados, a RN mostrou atividade apenas até a avaliação realizada aos 24 dias após o início do experimento.

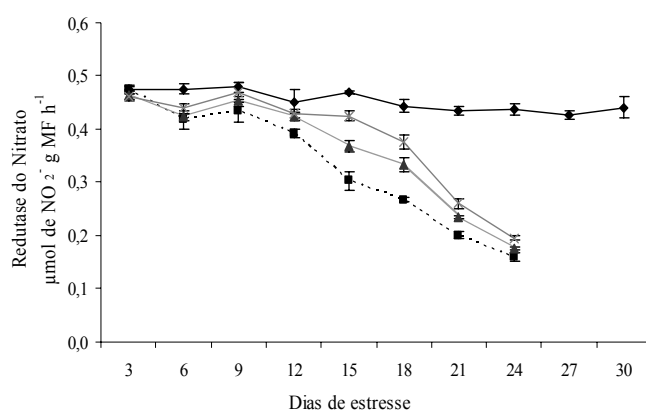


FIGURA 4. Atividade da RN em folhas de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—♦—), não-irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de quatro repetições.

Nas raízes, houve declínio na atividade da RN nas plantas controle, a partir do nono dia de avaliação. Este fato pode estar relacionado ao espaço limitado para o desenvolvimento das raízes, além de uma diminuição da quantidade do nitrato presente no substrato das plantas (Figura 5). Esse mesmo comportamento foi observado no tratamento não irrigado, ou seja, à medida que foi aumentando o período de estresse hídrico, a atividade da RN foi decaindo, porém, a valores expressivamente inferiores aos observados nas plantas controle.

A re-irrigação das plantas proporcionou um pequeno aumento na atividade da RN nas raízes apenas no período entre os dias 12 a 24, sendo mais expressiva aos 15 e 18 dias, para o tratamento 48 horas.

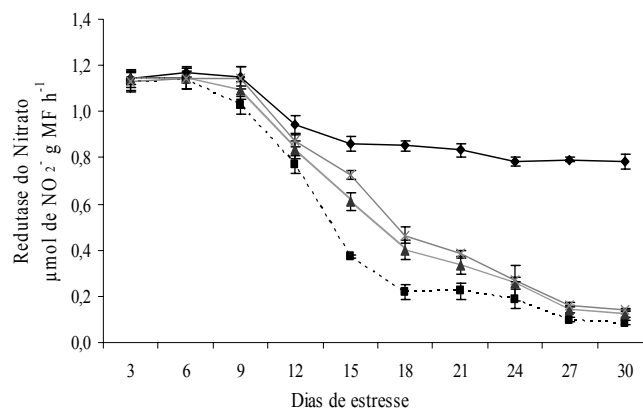


FIGURA 5. Atividade da RN em raízes de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—◆—), não-irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (---▲---) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de quatro repetições.

A atividade da RN é altamente modulada por fatores externos do ambiente, como luz, temperatura e água e, normalmente, sua síntese e atividade são induzidas pela presença de substrato (Freitas et al., 2007). Havendo o nitrato, ocorre um estímulo à síntese de novo da referida enzima, porém, se a planta passa por uma situação de estresse hídrico moderado, da ordem de -0,8 a -2,0, sua atividade pode ser reduzida em 20%, chegando a 50% quando a planta sofre um estresse intenso (Hsiao, 1979). A diminuição observada na atividade da RN

pode estar relacionada a um decréscimo no fluxo do substrato ( $\text{NO}_3^-$ ) por falta de umidade, principal fator regulador da síntese dessa enzima.

É possível que a menor atividade da RN ocorrida nessas plantas submetidas ao estresse hídrico constitua um processo regulatório na ausência de crescimento ativo, que evoluiu no sentido de conservar energia quando a fotossíntese é diminuída. Assim, como a conservação de energia é um requisito essencial para a sobrevivência durante o estresse, supõe-se que uma rápida redução na atividade da RN se traduza numa vantagem metabólica (Sinha & Nicholas, 1981).

Para as características relacionadas à anatomia das folhas (Tabela 1), apresentaram diferenças significativas a espessura da epiderme da face adaxial e o parênquima paliçádico (Figura 6), sendo os maiores valores observados nas plantas controle em relação às plantas submetidas à suspensão da irrigação, após 30 dias. Quanto ao número de estômatos (Figura 7), a maior densidade foi observada nas plantas sob estresse hídrico, tendo as mesmas apresentado maior razão entre os diâmetros polar e equatorial (DP/DE) em relação ao controle. Tais resultados indicam que estas plantas exibiram adaptações, como uma maior densidade estomática em resposta ao estresse hídrico. No presente caso, a maior razão DP/DE foi observada nas plantas sob estresse, mostrando que seus estômatos se encontravam mais fechados em relação às plantas mantidas irrigadas, mecanismo adotado pelas plantas para reter ao máximo a água existente em seu interior. Esse aumento implica em modificações na busca de uma maior funcionalidade dos estômatos, que adquirem um formato elipsóide, na condição de restrição hídrica. Para as demais características analisadas não houve diferença significativa.



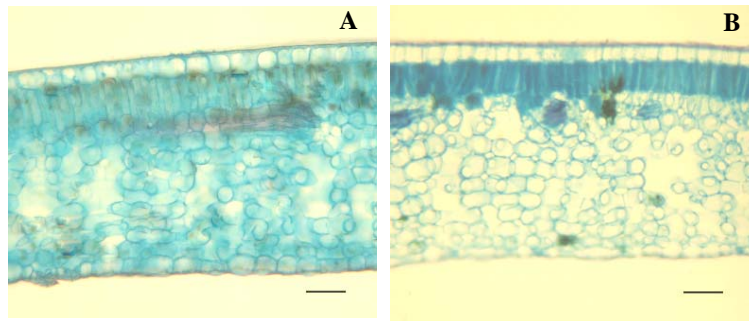


FIGURA 6. Fotomicrografias de seções transversais em folhas de cafeeiro progênie Siriema. Plantas irrigadas – 30 I (A), Não irrigadas - 30 NI (B). Barra = 50 µm.

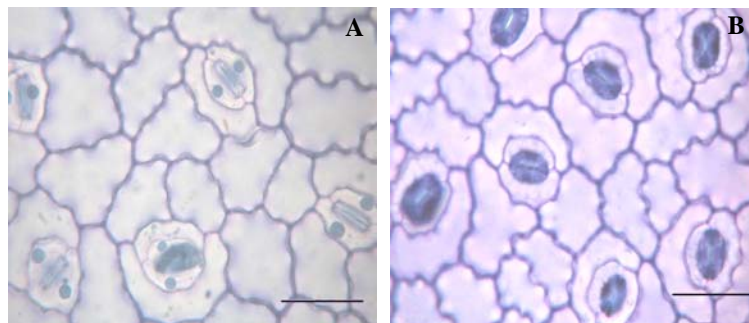


FIGURA 7. Fotomicrografias de seções paradérmicas da epiderme da face abaxial em folhas de cafeeiro progênie Siriema. Plantas irrigadas – 30 I (A), Não irrigadas - 30 NI (B). Barra = 50 µm.

TABELA 1. Anatomia foliar de mudas de cafeeiro progênie Siriema submetidas a 30 dias de deficiência hídrica.

Características avaliadas	Tratamento	
	Controle	Deficiência hídrica
	Folha	Folha
Espessura da epiderme adaxial ( $\mu\text{m}$ )	27,83 a	24,35 b
Espessura da epiderme abaxial ( $\mu\text{m}$ )	24,41 a	22,53 a
Espessura do parênquima paliçádico ( $\mu\text{m}$ )	69,33 a	63,37 b
Espessura do parênquima lacunoso ( $\mu\text{m}$ )	175,10 a	167,01 a
Espessura do limbo foliar ( $\mu\text{m}$ )	281,61 a	264,82 a
Densidade estomática ( $\text{n}^\circ/\text{mm}^2$ )	123,02 b	175,21 a
Diâmetro polar ( $\mu\text{m}$ )	24,78 b	27,36 a
Diâmetro equatorial ( $\mu\text{m}$ )	16,92 a	15,60 b
Razão diâmetro polar/equatorial ( $\mu\text{m}$ )	1,47 b	1,76 a

\*Médias seguidas de mesma letra entre tratamentos não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $P = 0,05$ ).

A lâmina foliar é a estrutura que mais se modifica em resposta às alterações ambientais e constitui o principal sítio na produção de fotoassimilados, embora tenha sido observado, em lâminas foliares das mudas de café, que a espessura do limbo não diferiu estatisticamente entre os diferentes regimes hídricos.

Variações no comportamento estomático, tanto em relação à densidade quanto ao tamanho dos estômatos, é uma característica muito variável em plantas em função do ambiente onde se encontram e ocorrem freqüentemente em plantas submetidas a diferentes estresses (Melo et al., 2004; Castro et al., 2005). A diminuição no tamanho dos estômatos é um evento reconhecidamente

importante na regulação das trocas gasosas, uma vez que folhas com estômatos menores apresentam maior eficiência no uso da água por apresentarem um menor tamanho dos poros estomáticos, condicionando, assim, uma menor perda de água por transpiração (Abrams et al., 1994). Nesse mesmo sentido, o aumento na densidade estomática, acoplada à diminuição no tamanho dos estômatos, é uma alternativa ao suprimento adequado de CO<sub>2</sub> necessário à fotossíntese, sem que haja excessiva perda de água em detrimento dos estômatos com poros de menor tamanho (Melo et al., 2007).

Esses resultados corroboram com diversos autores que observaram que o número de estômatos pode variar entre folhas da mesma espécie, crescendo em diferentes condições ambientais, evitando, assim, que a fotossíntese seja limitada nessas condições.

#### **4 CONCLUSÕES**

O estresse hídrico afetou severamente o potencial hídrico e a resistência estomática.

A atividade da redutase do nitrato nas folhas foi nula a partir dos 24 dias de avaliação.

O estresse hídrico promoveu um aumento na densidade estomática nas plantas sob estresse.

Plantas de cafeeiro *Siriema* sob estresse hídrico apresentam capacidade de recuperação de até 21 dias sob estresse.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS, M. D.; KUBISKE, M. E.; MOSTOLLER, S. A. Relating wet and dry year ecophysiology to leaf structure in contrasting temperate tree species. **Ecology**, Washington, v. 75, n. 1, p. 123-133, Jan. 1994.
- ARRUDA, F. B.; GRANDE, M. A. Fator de resposta da produção do cafeeiro ao déficit hídrico em Campinas. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 1, p. 139-145, jan./abr. 2003.
- BARROS, R. S.; MOTA, J. W.; DAMATTA, F. M.; MAESTRI, M. Decline of vegetative growth in *Coffea arabica* L. in relation to leaf temperature, water potential and stomatal conductance. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 54, n. 1, p. 65-72, Aug. 1997.
- CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase and its role in nitrate assimilation in plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 74, n. 1, p. 214-219, Sept. 1988.
- CARELLI, M. L. C.; UNGARO, M. R. G.; FAHL, J. I., NOVO, M. C. S. S. Níveis de nitrogênio, metabolismo, crescimento e produção de girassol. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 8, n. 2, p. 123-130, ago. 1996.
- CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; MELO, H. C.; SOARES, A. M.; ALVARENGA, A. A.; LIMA-JÚNIOR, E. C. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a diferentes fotoperíodos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 846-850, jul./set. 2005.
- DIAS, P. C.; ARAUJO, W. L.; MORAES, G. A. B. K.; BARROS, R. S.; DAMATTA, F. M. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 164, n. 12, p. 1639-1647, 2007.
- FREITAS, R. B. de; ALVES, J. D.; MAGALHÃES, M. M.; GOULART, P. F. P. G.; NASCIMENTO, M. N.; FRIES, D. D. Adubação do cafeeiro com nitrato de potássio via solo e folha, no outono-inverno e primavera-verão: efeitos na atividade da redutase do nitrato, no crescimento das plantas e na produção. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 945-952, jul./ago. 2007.

HERNANDEZ, A. P.; COCK, J. H.; EL-SHARKAWY, M. A. The responses of leaf gas exchange and stomatal conductance to air humidity in shade-grow coffee, tea, and cacao plants as compared to sunflower. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 155-161, dez. 1989.

HSIAO, T. C. Plant responses to water deficits, efficiency, and drought resistance. **Agricultural Meteorology**, Amsterdam, v. 14, n. 1-2, p. 59-84, 1974.

JARVIS, P. G. The interpretation of the variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, London, v. 273, n. 927, p. 593-610, 1976.

KRAUS, J. E. ; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997.

LABOURIAU, L. G.; OLIVEIRA, J. G.; SALGADO-LABOURIAU, M. L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, p. 237-257, 1961.

LIMA, A. L. S.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A.; TOTOLA, M. R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions, **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 47, n. 3, p. 239-247, May 2002.

MELO, H. C.; CASTRO, E. M.; FERRER, J. L. R.; ALVES, J. D.; FRIES, D. D.; MELO, L. A.; MAGALHÃES, P. C. Influência da aplicação de cálcio e alagamento do solo sobre características anatômicas das folhas de milho (*Zea mays* L.) "Saracura" BRS-4154. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 3, p. 333-342, set./dez. 2004.

MELO, H. C.; CASTRO, E. M.; SOARES, A. M.; MELO, L. A.; ALVES, J. D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 145-153, jun. 2007.

MEYERS JUNIOR, O.; YOPP, J. H.; KRISHNAMANI, M. R. S. Breeding soybeans for drought resistance. **Plant Breeding Reviews**, Purdue, v. 4, p. 203-243, 1986.

PINHEIRO, H. A.; DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; LOUREIRO, M. E.; DUCATTI, C. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 1, p. 101-108, 2005.

QUEIROZ, C. G. S.; RENA, A. B.; CORDEIRO, A. T.; ALVES, J. D. Ritmo diurno na atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes de *Coffea arabica* L. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 7, p. 787-795, jul. 1993.

RENA, A. B.; MAESTRI, M. Relações hídricas no cafeeiro. **Item**, Brasília, n. 48, p. 34-41, set. 2000.

SILVA, L. C.; FIDELES-FILHO, J.; BELTRÃO, E. M.; RAMANA, R. T. V. Variação diurna da resistência estomática à difusão de vapor de água em amendoim irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 269-276, mar. 1998.

SINHA, S. K.; NICHOLAS, D. J. D. Nitrate Reductase. In: PALEG, L. G.; ASPINALL, D. (Ed.). **The physiology and biochemistry of drought resistance in plants**. New York: Academic, 1981.

TURK, K. J.; HALL, A. E. Drought adaptation of cowpea. IV. Influence of drought on water use, and relations with growth and seed yield. **Agronomy Journal**, Madison, v. 72, n. 3, p. 434-439, May/June 1980.

WESTGATE, M. E. Water status and development of the maize endosperm and embryo during drought. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 1, p. 76-83, Jan./Feb. 1994.

WHITE, J. W.; MCMASTER, G. S.; EDMEADES, G. O. Genomics and crop response to global change: what have we learned? **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 90, n. 1, p. 65-169, Nov. 2004.

## **CAPÍTULO 3**

### **TEORES DE CARBOIDRATOS E ATIVIDADE DE SUSY E INVERTASES EM CAFEIROS SIRIEMA SOB ESTRESSE HÍDRICO**

## RESUMO

MELO, Emanuelle Ferreira. Teores de carboidratos e atividade de Susy e invertases em cafeeiros Siriema sob estresse hídrico. In: \_\_\_\_\_. **Modificações ecofisiológicas, bioquímicas e anatômicas em cafeeiro progênie Siriema sob deficiência hídrica**. 2008. Cap. 3, p. 47-72. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

O objetivo deste trabalho foi avaliar as modificações ocorridas nos teores de carboidratos e na atividade das enzimas Sacarose Sintase e Invertases em mudas de cafeeiro progênie Siriema submetidas a diferentes períodos de estresse hídrico e a sua capacidade de recuperação após 24 e 48 horas de re-irrigação. O experimento foi conduzido na área experimental do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, MG. Quando os tratamentos foram estabelecidos, um grupo de mudas continuou sendo irrigado diariamente (controle), enquanto outro grupo foi submetido à suspensão total da rega até 30 dias. Este grupo foi sub-dividido em três para a avaliação do comportamento das plantas em função do estresse hídrico e sua capacidade de recuperação 24 e 48 horas após a re-irrigação. As coletas de folhas e raízes foram realizadas a cada três dias e o experimento montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições por período de avaliação. Observou-se um significativo aumento nos teores de açúcares solúveis totais e redutores tanto nas folhas, quanto nas raízes nos tratamentos não irrigados. Os tratamentos re-irrigados apresentaram a mesma tendência dos não-irrigados, porém com teores menores. Houve uma redução expressiva nos teores de amido nas plantas não-irrigadas em folhas e raízes. As enzimas sacarose sintase e as invertases neutra e ácida tiveram a sua atividade aumentada em decorrência do estresse hídrico.

---

<sup>1</sup> Orientador: Antonio Chalfun-Júnior – UFLA



## ABSTRACT

MELO, Emanuelle Ferreira. Levels of carbohydrates and activity of Susy and Invertases in coffee tree Siriema under water stress. In: \_\_\_\_ **Ecophysiological, biochemical and anatomical changes in coffee tree progeny Siriema under water deficit**. 2008. Chap.3, p. 46-71. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

The objective of this study was to evaluate the changes in levels of carbohydrates and the activity of enzymes Sucrose Sintase and Invertases in seedlings of coffee progeny Siriema subjected to different periods of water stress and its ability to recover after 24 and 48 hours of re-irrigation. The experiment was conducted in the experimental area of Plant Physiology, Department of Biology of the Federal University of Lavras, MG. When the treatments were established, a group of seedlings continued to be irrigated daily (control), while another group was referred to a full suspension of irrigation by 30 days. This group was sub-divided into three to assess the plants according to water stress and its ability to recover 24 and 48 hours after re-irrigation. The evaluations and collections of leaves and roots were held every three days and experiment carried out in a completely randomized design (DIC), with three repetitions for the assessment period. There was a significant increase at the levels of total soluble sugars and reducing ones, both in the leaves and roots of the non-irrigated treatments. The re-irrigated treatments showed similar behavior of the non-irrigated plants, however, lower levels of sugars were detected. Leaves and roots of the non-irrigated plants showed a significant reduction at the levels of starch. Sucrose Synthase and Invertases, neutral and acid, had increased its activity as a result of water stress.

---

<sup>1</sup> Adviser: Antonio Chalfun-Júnior – UFLA

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas, quando estão em condições favoráveis, produzem carboidratos por meio do processo fotossintético, sendo parte para consumo imediato e parte para armazenamento. Porém, sob condições de estresse hídrico, elas respondem de forma complexa a esta situação. As respostas podem ser em nível morfológico, fisiológico e molecular, que irão depender do genótipo da planta, da duração e da severidade do estresse, do estágio de desenvolvimento da planta e da natureza do estresse. A sua sobrevivência depende, principalmente, da velocidade com que são capazes de responder aos estímulos externos. Dessa forma, as plantas estão continuamente ajustando o seu metabolismo às flutuações do ambiente externo, pois os fenômenos vitais ativos estão condicionados a um suficiente suprimento hídrico (Vidal et al., 2005).

O acúmulo intracelular de solutos osmoticamente ativos em resposta às condições estressantes de baixa disponibilidade de água é um importante mecanismo desenvolvido pelas plantas que toleram a seca com baixo potencial hídrico (Turner, 1986). Este mecanismo, denominado ajustamento osmótico (Chaves, 1991), tem sido verificado em várias espécies e é considerado um dos mais eficazes para a manutenção da turgescência celular, permitindo, principalmente, a manutenção da abertura estomática e fotossíntese sob condições de baixo potencial hídrico no solo (Kramer, 1995).

Dias et al. (2007), avaliando duas progênies de café quanto à tolerância à seca, concluíram que o material Siriema apresenta uma melhor manutenção de área foliar e vigor sob condições secas e, por isso, tem sido classificado empiricamente como tolerante à seca. Em plantas adultas de Siriema, sob déficit hídrico, Carvalho et al. (2007) inferiram que genótipos mais precoces, os quais

apresentam diferenciação floral mais cedo, apresentaram uma maior tolerância à seca em relação aos genótipos mais tardios.

Apesar dos progressos já alcançados e das evidências que apontam o Siriema como tolerante à seca, não existem estudos que expliquem os mecanismos envolvidos nesta tolerância. Entender como são ativadas e como ocorrem essas respostas adaptativas constitui o ponto principal para o desenvolvimento de novas cultivares comerciais, mais tolerantes à seca.

Diante do exposto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as alterações ocorridas nos teores de carboidratos e na atividade das enzimas sacarose sintase e invertases em mudas de cafeeiro 'Siriema' submetidas ao déficit hídrico até 30 dias e a sua capacidade de recuperação após 24 e 48 horas de re-irrigação.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O material utilizado para as análises bioquímicas foi coletado diariamente após as avaliações descritas no item sobre material e métodos do capítulo 2. As amostras de folhas e raízes foram imediatamente congeladas em N<sub>2</sub> líquido e armazenadas em freezer, a -80°C, até o momento da efetivação das análises. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições por período de avaliação. Cada repetição correspondeu a uma planta.

## **2.1 Extração e quantificação de açúcares solúveis totais, açúcares redutores e amido**

Para a quantificação dos carboidratos, amostras de 0,3 g de matéria fresca foram maceradas em almofariz com 5 mL tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,0 e levadas ao banho-maria, a 40°C, por 30 minutos. Os extratos foram centrifugados a 11.000 g por 20 minutos, a 18°C. Em seguida, os sobrenadantes foram coletados e os *pellets* foram ressuspensos em 5 mL do mesmo tampão e centrifugado nas mesmas condições descritas acima. Os sobrenadantes resultantes foram coletados, adicionados aos sobrenadantes da primeira coleta e armazenados, a -20°C, para posteriores quantificações de açúcares redutores e solúveis totais.

Os *pellets* resultantes foram ressuspensos em 8 mL de tampão acetato de potássio 0,1 M pH 4,8 e levados ao banho-maria, a 100°C, por 5 minutos. Em seguida, foram acrescentados 2 mL do preparado da enzima amiloglicosidade, totalizando 12,6 unidades da enzima em cada amostra e, novamente, os *pellets* levados ao banho-maria, a 40°C. Após duas horas, os homogenatos foram submetidos à centrifugação, a 11.000 g, por 20 minutos, a 18°C e os sobrenadantes coletados tiveram seus volumes completados para 15 mL com água destilada e, em seguida, congelados para posterior quantificação de amido. Foram utilizadas três repetições para cada tratamento.

Para a quantificação dos açúcares redutores foi utilizado o método do ácido dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller, (1959). Para a quantificação dos açúcares solúveis totais e do amido, foi utilizado o método da antrona (Yemm & Cocking, 1954).

## **2.2 Extração e quantificação da atividade da enzima sacarose sintase**

Foi avaliada atividade da enzima sacarose sintase em folhas e em raízes de cafeeiro, conforme metodologia descrita por Cazetta et al. (1999), tendo 0,2 g de tecido vegetal sido homogeneizados em 2 mL de tampão HEPES 50 mM, pH 7,0, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, DTT 2 mM e EDTA 1 mM, centrifugados a 18.000 g, por 20 minutos, a 4°C e o sobrenadante coletado para a atividade da enzima. A incubação foi feita a 37°C, por 40 minutos, em tampão MES 100 mM, pH 6,0, contendo 5 mM de UDP, 300 mM de sacarose e 5 mM de MgCl<sub>2</sub>. Para a quantificação, utilizou-se o método do DNS para açúcares redutores (Miller, 1959) e a atividade enzimática foi obtida após 40 minutos de incubação e abatimento dos valores do tempo zero.

## **2.3 Extração e quantificação da atividade das Invertases**

A extração e a incubação das invertases solúveis (INC: invertase neutra do citosol e IAV: invertase ácida do vacúolo) foram realizadas conforme descrito por Zeng et al. (1999) e da invertase insolúvel (IAPC: invertase ácida da parede celular), segundo Cazetta et al. (1999), com algumas modificações.

A extração da INC e IAV foi realizada por meio da homogeneização de 0,2 g de matéria fresca de folhas e raízes em 2 mL do tampão de extração contendo HEPES 200 mM, pH 7,5, 1 mM de PMSF, 5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 mM de DTT e 50 mM de ácido ascórbico, seguida pela centrifugação a 18.000 g, por 20 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi coletado para as análises das invertases solúveis e o *pellet* ressuspendido e homogeneizado em 2 mL de tampão acetato de sódio 200 mM, pH 4,5, 1 mM de PMSF, 5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 mM de DTT, 50 mM de ácido ascórbico e 1 M de NaCl para a extração da IAPC, seguido de

centrifugação a 18.000 g, por 20 minutos, a 4°C, coletando-se o sobrenadante para a análise da enzima.

A atividade das enzimas foi realizada em tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5 para a INC e em tampão acetato de sódio 200 mM, pH 4,5 para a IAV e IAPC, acrescidos de 5 mM de MgCl<sub>2</sub> e 200 mM de sacarose. A incubação foi realizada em banho-maria, a 30°C, por 40 minutos. As amostras foram adicionadas NaOH 1N, 150 µL para INC e 300 µL para IAV e IAPC, com a finalidade de paralisar a reação enzimática. Para a quantificação, utilizou-se o método do DNS para açúcares redutores (Miller, 1959) e a atividade enzimática foi obtida após 40 minutos de incubação e abatimento dos valores do tempo zero.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os teores de açúcares solúveis totais (AST) no tratamento controle permaneceram constantes durante todo o período experimental, tanto para as folhas, quanto para as raízes. Nas folhas (Figura 1), a partir do nono dia, os tratamentos não irrigados apresentaram teores de açúcares solúveis totais superiores ao tratamento controle, mantendo-se mais elevados durante todo o período avaliado. Os maiores valores alcançados foram aos 24° e 27° dias de suspensão hídrica. Este aumento coincide com o período de maior declínio no potencial hídrico foliar, possivelmente para uma regulação osmótica das células neste período de intensa restrição hídrica. O tratamento re-irrigado 24 horas diferiu do não-irrigado a partir do 24° dia, apresentando valores menores do que aquele tratamento. Os tratamentos re-irrigados 24 e 48 horas após o estresse hídrico só diferiram entre si aos 15° e 18° dias de avaliação.

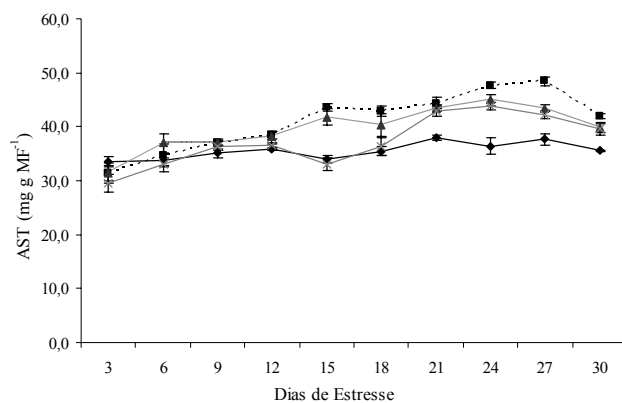


FIGURA 1. Teores de açúcares solúveis totais (AST) em folhas de cafeeiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—♦—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

Para as raízes (Figura 2), os teores de AST nos tratamentos não-irrigados aumentaram desde o primeiro dia de avaliação e mantiveram-se superiores ao controle durante todo o período experimental. Os maiores valores foram alcançados ao 24º dia (21,97 mg g MF<sup>-1</sup>). Os tratamentos re-irrigados 24 e 48 horas após o estresse apresentaram teores de AST menores que o tratamento não-irrigado, porém, não se igualando ao controle.

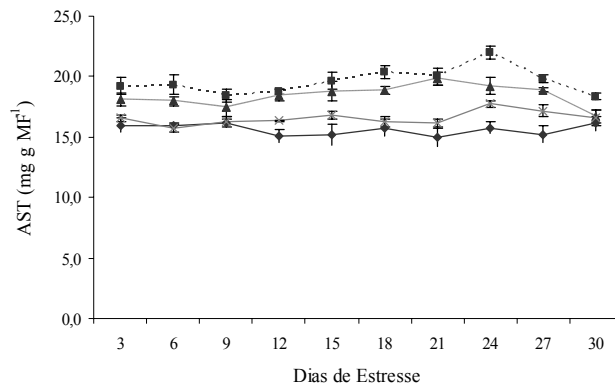


FIGURA 2. Teores de açúcares solúveis totais (AST) em raízes de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—◆—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

O acúmulo de metabólitos em plantas sob condições de déficit hídrico é conhecido como ajustamento osmótico (Chaves, 1991), em que certos carboidratos podem servir como solutos compatíveis, fazendo a manutenção do potencial hídrico, além da proteção das células durante a desidratação, pela formação de estruturas vítreas (Nepomuceno et al., 2001). Assim, o ajustamento osmótico permite que o crescimento celular ocorra sob um potencial hídrico que, geralmente, seria inibidor de tal condição. Ele também auxilia a manutenção da abertura estomática e o funcionamento do aparelho fotossintético, permitindo que este opere mesmo em condições de baixo potencial hídrico (Turner, 1997).

Plantas submetidas a condições de estresse hídrico, que apresentam grande capacidade fotossintetizante, podem armazenar reservas de carboidratos para o uso em períodos de escassez de água. No período chuvoso, guardam o excesso de fotoassintatos nas raízes e no caule, utilizando-os logo no



aparecimento das primeiras chuvas para a formação das folhas e flores (Souza et al., 1983).

Em relação aos açúcares redutores (AR), tanto nas folhas como nas raízes o tratamento controle manteve-se praticamente constante durante todo o período experimental. Nas folhas (Figura 3), o tratamento não irrigado diferiu do controle a partir do 9º dia, a partir do qual estes teores cresceram gradativamente, atingindo seu valor máximo ao 24º dia ( $1,65 \text{ Mmol g MF}^{-1}$ ) e sofrendo ligeira queda ao 27º e ao 30º dia. O mesmo comportamento ocorreu para as raízes (Figura 4), ou seja, os teores de AR no tratamento não irrigado aumentaram em decorrência do estresse hídrico, potencializando, dessa forma, as reações de oxirredução de plantas submetidas ao estresse.

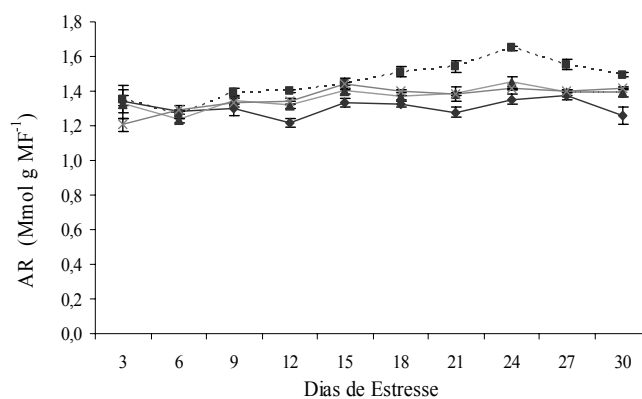


FIGURA 3. Teores de açúcares redutores (AR) em folhas de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (-♦-), não irrigadas (-■-), re-irrigadas 24 horas (...▲...) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (-x-). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

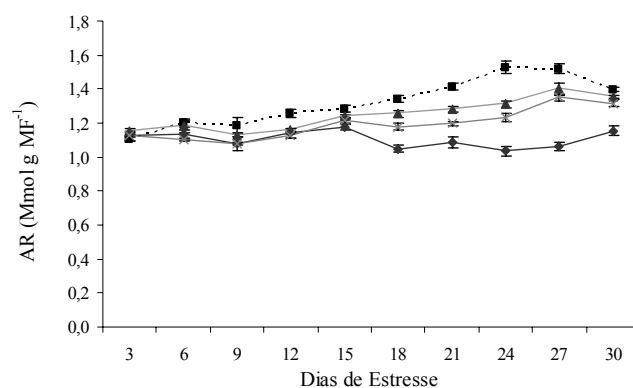


FIGURA 4. Teores de açúcares redutores (AR) em raízes de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—◆—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

Algumas espécies, quando submetidas ao déficit hídrico, apresentam um significativo aumento do teor de açúcares redutores nas plantas não irrigadas em relação às irrigadas, indicando, assim, que essas plantas apresentam maior capacidade de suportar os danos causados por esse déficit, como foi comprovado por Silva et al. (2001), estudando algumas espécies de gramíneas submetidas ao estresse hídrico.

O aumento dos teores de AR em plantas sob condições de déficit hídrico pode ser devido a um aumento na atividade das invertases, simultaneamente ao abaixamento do potencial hídrico foliar. De acordo com Valliyodan & Nguyen (2006), o acúmulo de hexoses pode contribuir para o ajustamento osmótico, evitando maiores danos celulares associados à desidratação celular.

Chaves-Filho & Stacciarini-Seraphin (2001), avaliando os teores de carboidratos solúveis totais e redutores em folhas e raízes de *S. lycocarpum*, demonstraram que os níveis desses compostos aumentaram significativamente

em resposta ao estresse hídrico, tendo sido os açúcares redutores os que mais contribuíram para esse aumento. Plantas de *Gossypium hirsutum* L. apresentaram seus teores de amido reduzidos e os níveis de açúcares redutores aumentados, quando cultivadas sob condições de déficit hídrico (Marur, 1998).

Analisando os teores de amido nas folhas (Figura 5), pode-se observar que as diferenças significativas entre o tratamento não irrigado e o controle se estabeleceram a partir do 12º dia, permanecendo os teores de amido no controle superior as plantas com déficit hídrico durante todo o período avaliado. O teor de amido nas folhas das plantas não irrigadas passou de 10,39 mg g de MF<sup>-1</sup>, ao 3º dia, para 1,48 mg g de MF<sup>-1</sup>, ao 30º dia de avaliação. A re-irrigação às 24 e às 48 horas, para este último, período aumentou esse valor para 3,69 mg g de MF<sup>-1</sup>.

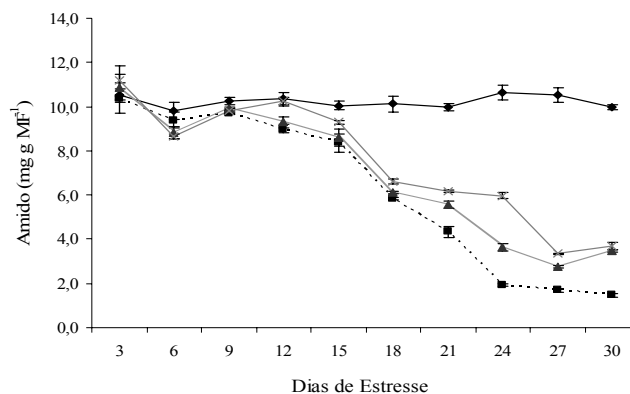


FIGURA 5. Teores de amido em folhas de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—◆—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

Nas raízes (Figura 6), os maiores teores também foram encontrados no tratamento controle. Nas plantas não irrigadas, os teores de amido diminuíram gradativamente até o último período avaliado ( $1,30 \text{ mg g de MF}^{-1}$ ), demonstrando, dessa forma, a necessidade da planta, sob condições de estresse, de uma maior hidrólização de reservas para manter-se biologicamente ativa em tecidos radiculares.

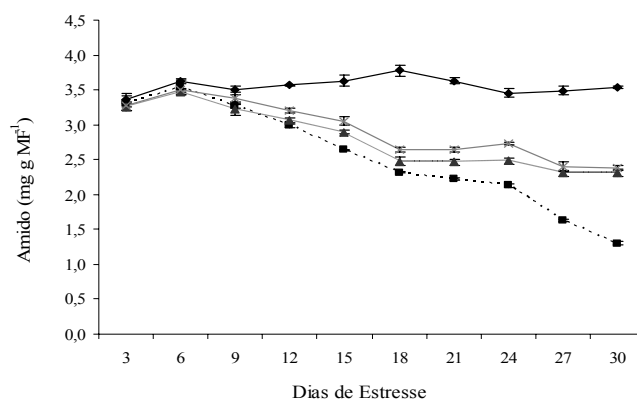


FIGURA 6. Teores de amido em raízes de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—◆—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

A seca exerce importante influência no teor de carboidratos em diversas espécies e, em virtude do seu efeito, o amido é degradado nos tecidos que o acumulam, ocorrendo aumento na quantidade de açúcares solúveis e redutores. A redução na concentração de amido em plantas submetidas ao estresse hídrico é uma resposta bem caracterizada em plantas de café, tanto sob estresse hídrico moderado quanto severo (Praxedes et al., 2006).

Segundo Pinheiro et al. (2001), quando as plantas de café são expostas a uma condição de estresse hídrico, normalmente ocorre diminuição nos teores de amido e aumento nos teores de açúcares solúveis totais, tornando-os disponíveis à planta. Isso pode ser devido ao fato de as plantas sob déficit hídrico apresentarem um aumento na hidrólise do amido (Chaves, 1991).

Na maioria das plantas, a sacarose é o principal açúcar exportado dos locais de síntese (folhas) para as regiões de consumo (caule, gemas vegetativas, raízes e órgãos reprodutivos), onde será utilizada para o crescimento e ou armazenamento. As hexoses liberadas a partir da hidrólise de sacarose podem ser utilizadas em processos anabólicos ou catabólicos e também fornecendo açúcares redutores para o processo de ajustamento osmótico. Dentre as enzimas que participam dessa hidrólise, as invertases parecem ser mais ativas do que a sacarose sintase (Kingston-Smith et al., 1999).

Como demonstrado na Figura 7, a atividade da Susy nas plantas submetidas ao estresse hídrico aumentou nas folhas de cafeeiro durante todo o período avaliado. A partir do 9º dia, observou-se uma diferença significativa entre os tratamentos irrigados e não irrigados, a qual foi mantida até os 30 dias. Esse aumento da atividade em folhas é uma condição necessária, uma vez que a planta mantida em condições de estresse necessita catalizar reações de sacarose em hexoses, uma vez que sua condição fotossintética é afetada pela restrição à água. As raízes (Figura 8) apresentaram o mesmo comportamento que as folhas, tendo a atividade da Susy aumentado no tratamento não-irrigado.

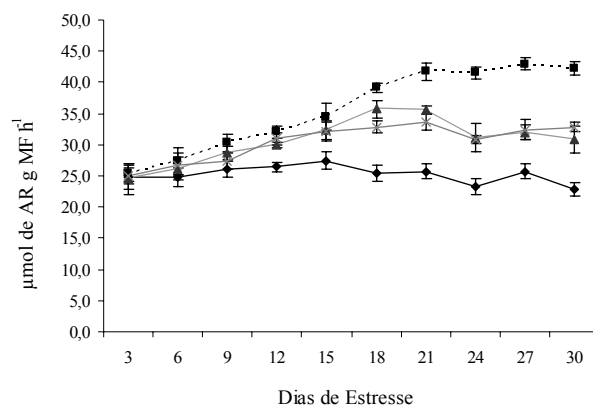


FIGURA 7. Atividade Susy em folhas de cafeeiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—♦—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (...▲...) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

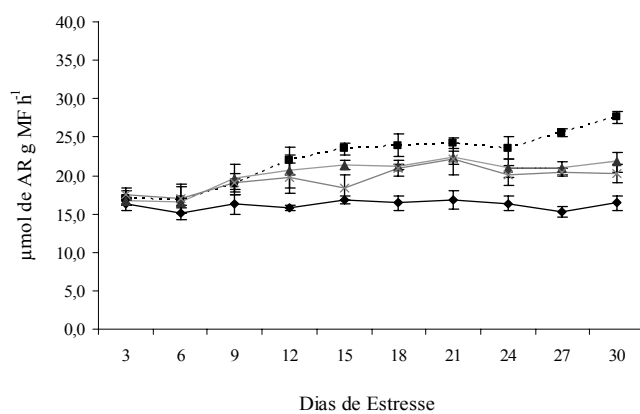


FIGURA 8. Atividade da Susy em raízes de cafeeiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—♦—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (...▲...) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

Em tecidos vegetais, o processo inicial para a utilização da sacarose é a sua clivagem por meio das enzimas invertases ou Susy, resultando na produção de hexoses – glicose ou UDP-glicose, respectivamente, que são essenciais como fontes de energia, produto primário para a síntese de diferentes produtos de reserva e para atender à demanda de crescimento dos tecidos. Embora invertases e Susy estejam envolvidas na clivagem de sacarose, a participação de cada uma dessas enzimas no crescimento e no desenvolvimento das plantas é diferenciada (Winter & Huber, 2000).

A Susy tem seu papel reconhecido em vários processos metabólicos das plantas. Admite-se que a atividade da Susy esteja relacionada predominantemente com a síntese de parede celular e de amido (Winter & Huber, 2000), mas também pode estar associada com a síntese de sacarose. Nesse sentido, a atividade desta enzima torna-se de fundamental importância, visto que, sob déficit hídrico, as plantas apresentam baixos teores de amido.

O manejo da cultura do cafeeiro pode influenciar na atividade de enzimas chave no metabolismo dos carboidratos. Silva et al. (2003), trabalhando com aplicações de 0,5% e 1% de sacarose em plantas de cafeeiro encontraram aumento da atividade das invertases e Susy em plantas depauperadas, quando comparadas com as testemunhas que receberam somente água.

A atividade invertásica foi maior nos tratamentos não irrigados, tanto para as folhas quanto para as raízes. A invertase neutra do citosol (INC), avaliada nas folhas (Figura 9), durante o 15º, o 18º e o 21º dia, apresentou valores semelhantes. A partir daí houve uma queda na atividade, chegando a valores abaixo do controle. As raízes (Figura 10) apresentaram valor máximo de atividade ao 15º dia de experimento no tratamento não irrigado. A partir deste período, a sua atividade decresceu, porém, não retornou aos valores encontrados no tratamento controle.

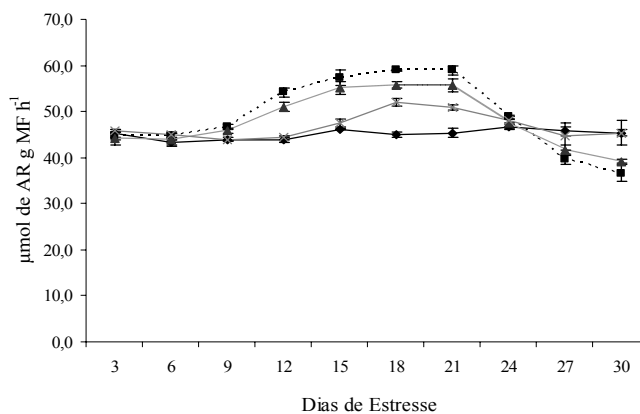


FIGURA 9. Atividade da INC em folhas de cafeeiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—♦—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (...▲...) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

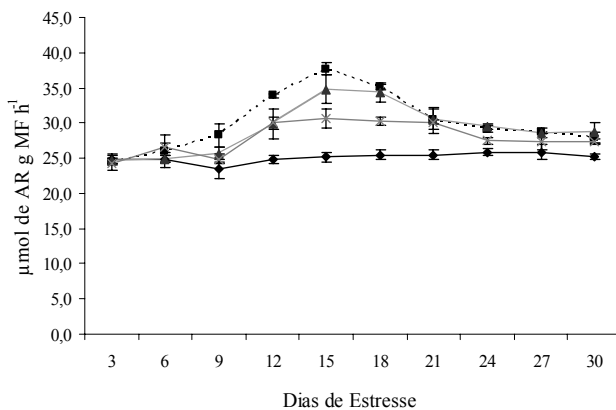


FIGURA 10. Atividade da INC em raízes de cafeeiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—♦—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (...▲...) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.



Para a invertase ácida do vacúolo (IAV), o tratamento não-irrigado nas folhas (Figura 11) apresentou atividade da enzima crescente, durante todo o experimento, ao passo que, nas raízes (Figura 12), a partir do 21º de avaliação, a atividade desta enzima diminuiu levemente no tratamento não irrigado. Os tratamentos re-irrigados 24 e 48 horas apresentaram a mesma tendência que os não-irrigados, porém, com valores menores.

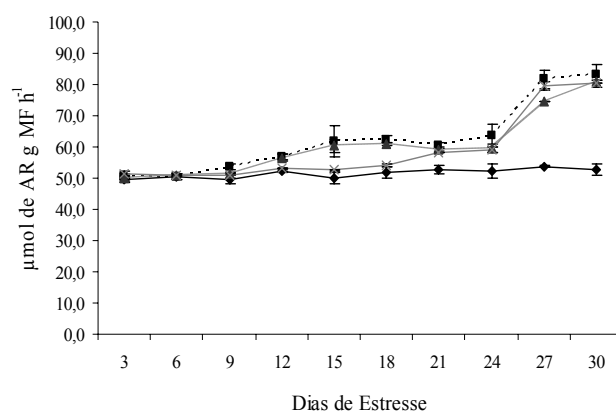


FIGURA 11. Atividade da IAV em folhas de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—◆—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

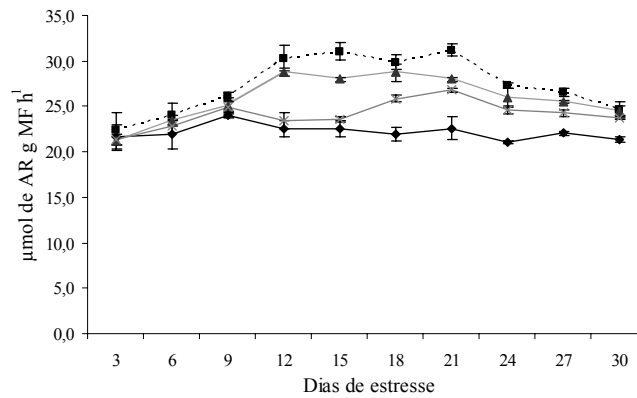


FIGURA 12. Atividade da IAV em raízes de caféiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—◆—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

Já para a invertase ácida da parede celular (IAPC) nas folhas (Figura 13), maior atividade foi encontrada ao 12º e ao 15º dia, nos tratamentos não irrigados, mantendo-se os seus teores mais elevados durante todo o período experimental, se comparados ao do controle. Nas raízes (Figura 14), houve queda na atividade, a partir do 24º dia, no tratamento não-irrigado, chegando a valores bem abaixo do controle.

No presente trabalho foi verificada a importante contribuição das invertases para o aumento dos açúcares redutores, possibilitando o ajuste osmótico dessas plantas. Já a Susy apresentou menor atividade.

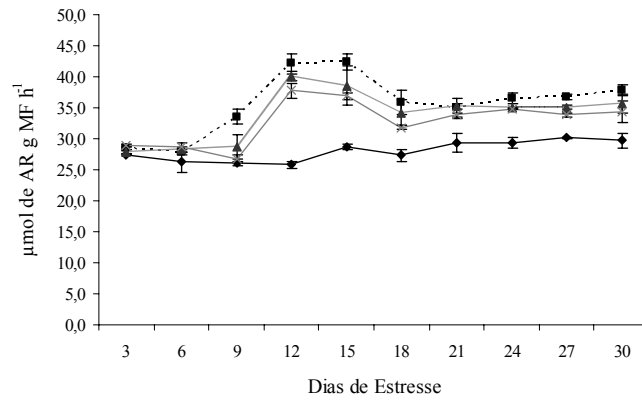


FIGURA 13. Atividade da IAPC em folhas de cafeeiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—♦—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

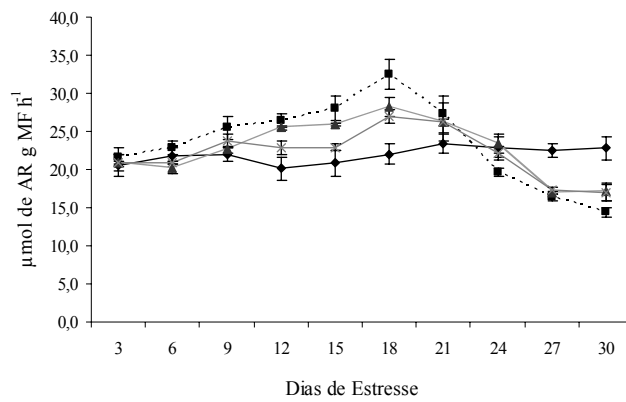


FIGURA 14. Atividade da IAPC em raízes de cafeeiro progênie Siriema submetidas ao estresse hídrico. Plantas irrigadas (—♦—), não irrigadas (---■---), re-irrigadas 24 horas (···▲···) e re-irrigadas 48 horas após o estresse (—x—). As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

A atividade da Susy e da invertase (especialmente as invertases ácidas), que são as principais enzimas envolvidas na utilização da sacarose, geralmente, são aumentadas em situações de restrição de água, o que pode contribuir para o acúmulo de hexoses (Praxedes et al., 2006). Ainda segundo os mesmos autores, valores de potencial hídrico em torno de -3,0 MPa ocasionam um aumento na concentração de sacarose, que também é acompanhado de uma concentração de hexoses, consistentes com o aumento na atividade das invertases ácidas. A sacarose é um soluto compatível que poderia funcionar como agente osmoprotetor durante a dessecação (Schwall et al., 1995) e, por conseguinte, a sua acumulação poderia estar associada à tolerância à seca.

A crescente atividade da INC na folha, possivelmente, está ligada ao fornecimento de energia (respiração) para os processos metabólicos de síntese de sacarose e manutenção. De acordo com a hipótese acima, a INC é considerada uma enzima de manutenção, envolvida na degradação de sacarose quando as atividades da invertase ácida da parede celular e Susy são baixas (Copeland, 1990).

A invertase vacuolar (IAV) parece controlar a rota primária de clivagem da sacarose em tecidos em expansão (Winter & Huber, 2000) e em tecidos maduros (Copeland, 1990) e contribui para o fluxo de hexose através do tonoplasto e para a entrada de hexoses no metabolismo citoplasmático.

Assim, a demanda por produtos da degradação da sacarose é um fator importantes a vários processos biológicos e é controlada pelas enzimas de degradação (INC, IAV, IAPC e Susy).

#### **4 CONCLUSÕES**

A maior concentração de açúcares solúveis totais e redutores encontradas em plantas submetidas ao estresse hídrico indicam uma capacidade de ajustamento osmótico, que é uma característica de interesse em plantas resistentes à seca.

Os teores de amido diminuíram consideravelmente nas plantas sob déficit hídrico, possivelmente devido a uma maior hidrólise do amido nestas condições.

Todas as enzimas avaliadas apresentaram a sua atividade aumentada em decorrência do estresse hídrico.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, C. H. S.; BENTO, M. A.; MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R.; FERREIRA, R. A.; PADILHA, L.; VILELA, A. F. Identificação de genótipos de café mais adaptados a ambientes com déficit hídrico durante o período de outono/inverno. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEJEIRAS, 33., 2007, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2007. p. 62-63.

CAZETTA, J. O.; SEEBAUER, J. R.; BELOW, F. E. Sucrose and nitrogen supplies regulate growth of maize kernels. **Annals of Botany**, London, v. 84, n. 6, p. 747-754, Dec. 1999.

CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 234, p. 1-16, Jan. 1991.

CHAVES-FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, jun. 2001.

COPELAND, L. Enzymes of sucrose metabolism. In: LEA, P. J. (Ed.). **Methods of plant biochemistry: enzymes of primary metabolism**. London: Academic, 1990. p. 73-85.

DIAS, P. C.; ARAUJO, W. L.; MORAES, G. A. B. K.; BARROS, R. S.; DAMATTA, F. M. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 164, n. 12, p. 1639-1647, 2007.

KINGSTON-SMITH, A. H.; WALKER, R. P.; POLLOCK, C. J. Invertase in leaves: conundrum or control point? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 333, p. 735-743, June, 1999.

MARUR, C. J. Fotossíntese e translocação de carboidratos em algodoeiros submetidos a déficit hídrico após a aplicação de cloreto de mepiquat. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 10, n. 1, p. 59-64, 1998.

MILLER, G. L. Use dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Biochemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas - Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 4, n. 23, p. 12-18, Nov./dez. 2001.

PINHEIRO, H. A.; DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; LOUREIRO, M. E.; DUCATTI, C. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 1, p. 101-108, July 2005.

PRAXEDES, S. C.; DAMATTA, F. M.; LOUREIRO, M. E.; FERRÃO, M. A. G.; CORDEIRO, A. T. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 3, p. 263-273, 2006.

SCHWALL, G.; ELSTER, R.; INGRAM, J.; BERNACCHIA, G.; BIANCHI, G.; GALLAGHER, L.; SALAMINI, F.; BARTELS, D. Carbohydrate metabolism in the desiccation tolerant plant *Craterostigma plantagineum* I Hochst. In: PONTIS, H. G.; SALERNO, G. L.; ECHEVERRIA, E. J. (Ed.). **Sucrose metabolism, biochemistry, physiology and molecular biology**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, Rockville, 1995. p. 245-253.

SILVA, J. C.; ALVES, J. D.; ALVARENGA, A. A.; MAGALHÃES, M. M.; LIVRAMENTO, D. E.; FRIES, D. D. Invertase and sucrose synthase activities in coffee plants sprayed with sucrose solution. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 239-244, abr./jun. 2003.

SILVA, S.; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; MAGALHÃES, P. C. Respostas fisiológicas de gramíneas promissoras para revegetação ciliar de reservatórios hidrelétricos, submetidas à deficiência hídrica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 124-133, jan./fev. 2001.

SOUZA, J. G.; BARREIRO NETO, M.; SILVA, J. B. V.; GILES, J. A. Velocidade de crescimento da raiz como parâmetro de resistência à seca no algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 169-172, fev. 1983.

- TURNER, N. C. Adaptation to water deficits: A changing perspective. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 13, n. 1, p.175-190, 1986.
- TURNER, N. C. Further progress in crop water relations. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in agronomy**. New York: Academic, 1997. p. 293-337.
- VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H. T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, p. 189-195, 2006.
- VIDAL, M. S.; CARVALHO, J. M. F. C.; MENESES, C. H. S. G. **Déficit hídrico**: aspectos morfofisiológicos. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005.
- WINTER, H.; HUBER, S. C. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, p. 253-289, 2000.
- YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The stimulation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **The Biochemistry Journal**, v. 57, p. 508-514, 1954.
- ZENG, Y.; WU, Y.; AVIGNE, W. T.; KOCH, K. E. Rapid repression of maize invertases by low oxygen. Invertase/sucrose synthase balance, sugar signaling potential, and seedling survival. **Plant Physiology**, v. 121, p. 599-608, 1999



## ANEXOS

TABELA 1A. Resumo das análises de variância para espessura da epiderme adaxial (EEAd), espessura da epiderme abaxial (EEAb), espessura do parênquima paliçádico (EPP), espessura do parênquima lacunoso (EPL), e espessura do limbo (EL).

FV	GL	Quadrados médios				
		EEAd	EEAb	EPP	EPL	EL
Tratamentos	1	96,8484*	28,5012	284,2324*	524,3941	2254,5612
Erro	30	19,5651	8,2853	64,7192	660,9491	545,3022
Total	31					
CV(%)		16,95	12,26	12,13	15,03	8,55

\* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

TABELA 1B. Resumo das análises de variância para densidade estomática (DE), diâmetro polar (DPo), diâmetro equatorial (DEq) e razão diâmetro polar/diâmetro equatorial (DP/DE).

FV	GL	Quadrados médios			
		DE	DPo	DEq	DP/DE
Tratamentos	1	21789,8469*	53,1221*	13,7944*	0,1711*
Erro	30	271,4979	1,3349	0,9284	0,0062
Total	31				
CV(%)		11,05	4,43	5,93	4,90

\* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.