

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO –  
PPGGM

FRANCISCO DAVI DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE POPULAÇÕES DE CONILON  
PROVENIENTES DE PROGENITORES CONTRASTANTES PARA  
TOLERÂNCIA À SECA

ALEGRE - ES

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO –  
PPGGM

FRANCISCO DAVI DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE POPULAÇÕES DE CONILON  
PROVENIENTES DE PROGENITORES CONTRASTANTES PARA  
TOLERÂNCIA À SECA

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal do Espírito  
Santo, como pré-requisito do  
Programa de Pós-Graduação em  
Genética e Melhoramento para  
obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Taís Cristina Bastos Soares  
Coorientadora: Maria Amélia Gava Ferrão

ALEGRE - ES  
2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Setorial Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

S586c Silva, Francisco Davi da, 1994-  
Caracterização morfofisiológica de populações de conilon  
provenientes de progenitores contrastantes para tolerância à seca /  
Francisco Davi da Silva. – 2018.  
82 f. : il.

Orientador: Taís Cristina Bastos Soares.  
Coorientador: Maria Amélia Gava Ferrão.  
Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) –  
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e  
Engenharias.

1. Cafeeiro. 2. Plantas – Melhoramento Genético. 3. Fisiologia. 4.  
Déficit hídrico. I. Soares, Taís Cristina Bastos. II. Ferrão, Maria Amélia  
Gava. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências  
Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU:631.523

FRANCISCO DAVI DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE POPULAÇÕES DE CONILON  
PROVENIENTES DE PROGENITORES CONTRASTANTES PARA TOLERÂNCIA À  
SECA

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento para obtenção do título de Mestre.

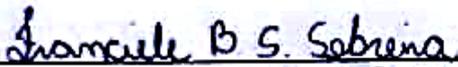
Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Taís Cristina Bastos Soares  
Coorientadora: Maria Amélia Gava Ferrão

APROVADO: 12 de julho de 2018

COMISSÃO EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr<sup>a</sup>. Taís Cristina Bastos Soares  
Universidade Federal do Espírito Santo (CCENS)  
Orientadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte  
Universidade Federal do Espírito Santo (CCENS)  
1º Examinador

  
\_\_\_\_\_  
Pesquisadora Dr<sup>a</sup> Franciele Barros de Souza Sobreira  
2ª Examinadora

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (PPGGM) por possibilitar a realização do curso de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio financeiro, através da concessão da bolsa de pesquisa.

Ao Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência técnica e Extensão Rural (Incaper) pelo acesso ao germoplasma e apoio logístico.

À minha orientadora Dr.<sup>a</sup> Taís Cristina Bastos Soares por todo o apoio, ajuda, orientação, e tempo dispensado para a realização desse trabalho. Além disso, agradeço pela oportunidade que me ofereceu de trabalhar esses últimos anos com uma equipe maravilhosa, onde criei grandes amigos.

À Dr.<sup>a</sup> Franciele Barros de Souza Sobreira, pela imensurável ajuda prestada, sem você não teria conseguido. Também agradeço por ter se mostrado uma pessoa tão agradável e compreensiva, sempre que fui pedir sua ajuda. Dispensou do seu tempo e forneceu valiosíssima contribuição para realização dessa dissertação.

Aos Professores do Programa pela inspiração e pela contribuição com a minha formação acadêmica.

Ao Dr. Josimar Aleixo da Silva que sempre me recebeu com boa vontade quando fui a seu auxílio.

A todos amigos do laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (BQMOL), em especial, Cadú, Karlinha, Adelson, Lucimara, Rodrigo, Liliana, Conceição, Ramonzão, Edilson, Cássio, Malu, Mariana e Bruno pelo apoio e companheirismo.

A todos meus irmãos, Rosinha, Solange, Garoto, Fernanda e Bruna pelo amparo emocional e apoio frequente.

Também não posso deixar de agradecer à minha grande amiga, Elaine Facco Celin, pela amizade sincera e por todo o companheirismo (mesmo estando longe), pela motivação e incentivos ao meu crescimento profissional e acadêmico. Também agradeço a toda sua família que me recebeu calorosamente durante o inverno no Espírito Santo, quando cheguei do meu Ceará. Muito obrigado por tudo!

Aos amigos do mestrado pela companhia nas várias horas de estudo e também pelos momentos de descontração, especialmente, Cadú, Lorena e Pedro.

Aos meus companheiros e amigos de república Patrícia, Matheusaum e Dri pelas noites viradas e pela torcida contínua. Foi muito bom viver (e não somente conviver) com vocês. Todos são muitos especiais (e doidos) a sua maneira.

Enfim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de alguma forma e que estiveram presentes durante meu curso de mestrado, que aqui não foram citados.

Meus sinceros agradecimentos!

## ÍNDICE

RESUMO .....	9
ABSTRACT .....	10
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	11
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
2.1. <i>Coffea canephora</i> .....	14
2.2. Cenário econômico atual da cafeicultura brasileira .....	15
2.3. Estresse hídrico.....	17
2.4. Tolerância à seca em <i>Coffea canephora</i> .....	19
2.5. Padrões e características relacionados à tolerância à seca .....	22
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	26
3.1. Objetivo geral .....	26
3.2. Objetivos específicos.....	26
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	27
4.1. Material vegetal.....	27
4.2. Épocas de avaliação.....	27
4.3. Características Morfológicas .....	27
4.4. Teor de compostos nos tecidos foliares .....	28
4.4.1. Quantificação de clorofilas e carotenoides totais .....	28
4.4.2. Quantificação de nitrogênio nítrico (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) .....	29
4.4.3. Quantificação nitrogênio orgânico (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ).....	30
4.4.4. Preparação do extrato etanólico para quantificação de compostos fenólicos e aminoácido prolina .....	31
4.5. Características fotossintéticas.....	32
4.6. Análises Estatísticas .....	32
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	34
5.1. Observações climáticas nos períodos de coletas de dados .....	34
5.2. Análise das variáveis morfofisiológicas .....	34
5.2.1. Clones progenitores .....	34
5.2.1.1 <i>Características morfológicas</i> .....	35
5.2.1.2 <i>Teor de compostos nos tecidos</i> .....	38

5.2.1.3	<i>Características fotossintéticas</i> .....	42
5.2.2.	Populações 76x04 e 76x48.....	45
5.2.2.1.	<i>Características morfológicas</i> .....	45
5.2.2.2.	<i>Teor de compostos nos tecidos</i> .....	48
5.2.2.3.	<i>Características fotossintéticas</i> .....	50
<b>5.3.</b>	<b>Agrupamentos</b> .....	<b>54</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>71</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>72</b>

# CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE POPULAÇÕES DE CONILON PROVENIENTES DE PROGENITORES CONTRASTANTES PARA TOLERÂNCIA À SECA

## RESUMO

Objetivou-se estudar duas populações provenientes de cruzamentos de clones de *Coffea canephora* var. *Conilon* contrastantes quanto à tolerância à seca (76-tolerante x 04-susceptível e 76x48-sucesptível), examinando as variações em um conjunto de características morfológicas, fotossintéticas e na concentração de compostos nos tecidos foliares quando submetidas à seca, a fim de se identificar os genótipos superiores e selecionar as variáveis mais discriminatórias para tolerância à seca. O experimento foi conduzido sem irrigação, na Fazenda Experimental do Incaper, em Marilândia – ES. As avaliações ocorreram em julho/2015, dezembro/2015 e abril/2016, sendo esse último, o período de seca mais crítico. O clone 76 apresentou superioridade entre os clones progenitores, e a população (pop.) 76x04 exibiu melhores características morfofisiológicas, em relação à pop. 76x48, com maior concentração de clorofilas, carotenoides, menor redução na área foliar total (AFT), na fotossíntese (A), condutância estomática ( $g_s$ ) e na taxa de transporte de elétrons (ETR). Também apresentou menor eficiência do uso da água ( $A/g_s$ ), o que indica maior uso efetivo da água. Verificou-se grande variabilidade entre e dentro das populações. Foi feita a análise de agrupamento pelo método hierárquico de ligação média entre grupos (UPGMA), onde constatou-se a existência de 14 grupos, em julho/2015 e abril/2016, e 16 grupos em dezembro/2015 para a pop. 76x48, e sete grupos em julho e dezembro/2015, e seis grupos em abril de 2016 para a pop. 76x04. Pela comparação entre as médias dos grupos obtidos, identificamos os grupos 9 e 10 da pop. 76x48, e os grupos 2 e 5 da pop. 76x04 como superiores para tolerância à seca. A área foliar específica (AFE), comprimento entrenódio (CE), ETR, A,  $g_s$  e  $A/g_s$  foram as variáveis mais importantes para discriminar os indivíduos/grupos quanto ao desempenho sob condições de estresse hídrico.

**Palavras-chave:** Cafeeiro, déficit hídrico, fisiologia, melhoramento genético.

## MORPHOPHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF CONILON POPULATIONS FROM CONTRASTING PROGENITORS FOR DROUGHT TOLERANCE.

### ABSTRACT

The objective of this study was to study two populations from crosses of *Coffea canephora* var. Conilon (76-tolerant x 4-susceptible and 76x48-foldable) in relation to drought tolerance, by examining variations in a set of morphological, photosynthetic and compound concentrations in leaf tissues when subjected to drought in order to identify superior genotypes and select the most discriminatory variables for drought tolerance. The experiment was conducted without irrigation, at the Incaper Experimental Farm, in Marilândia - ES. The evaluations occurred in July / 2015, December / 2015 and April / 2016, the latter being the most critical drought period. Clone 76 showed superiority among the progenitor clones, and the population (pop.) 76x04 had better morphophysiological characteristics, compared to pop. 76x48, with a higher concentration of chlorophylls, carotenoids, less reduction in total leaf area, photosynthesis (A), stomatal conductance (gs), and transport rate of electrons (ETS). It also showed lower efficiency of water use (A/gs), which indicates greater effective water use. There was great variability between and within populations. The grouping analysis was performed using the unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA), where 14 groups were found in July / 2015 and April / 2016 and 16 groups in December / 2015 for pop. 76x48, and seven groups in July and December / 2015, and six groups in April 2016 for pop. 76x04. By comparing the means of the groups obtained, we identified groups 9 and 10 of pop. 76x48, and groups 2 and 5 of pop. 76x04 as superior for drought tolerance. The specific leaf area (AFE), trait length (EC), ETR, A, gs and A / gs were the most important variables to discriminate individuals / groups regarding performance under water stress conditions.

**Key words:** *Coffee tree*, water deficit, physiology, breeding.

## LISTA DE ABREVIATURAS

A – Fotossíntese  
A/g<sub>s</sub> – Eficiência no uso da água intrínseca  
ABA - ácido abscísico  
ACP – Análise de componentes principais  
AFE – Área foliar específica  
AFT – Área foliar total  
AFU – Área foliar unitária  
As – Assimetria  
C – Curtose  
CAR – Carotenoides  
CE – Comprimento entrenódio  
CF – Comprimento foliar  
CLO – Clorofila total  
CP – Componentes principais  
CRP – Comprimento do ramo plagiotrópico  
CV – Coeficiente de variação  
DLC – Densidade do lenho caulinar  
EF – Espessura foliar  
EROs – Espécies reativas de oxigênio  
ETR – Taxa de transporte de elétrons  
FST – Fenol total  
g<sub>s</sub> – Condutância estomática  
LF – Largura foliar  
N – Nitrogênio  
NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – Nitrogênio orgânico Amônio  
NO<sub>3</sub><sup>-</sup> – Nitrato  
Nt – Nitrogênio total  
pop. – população  
PRO – aminoácido prolina  
Q1 – primeiro quartil  
Q3 – terceiro quartil  
RAF – Razão de área foliar  
Rubisco – ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase  
S<sub>x</sub> – Erro Padrão da Média  
UPGMA – método hierárquico de ligação média entre grupos  
X – Média

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Coffea*, pertencente à família Rubiaceae, é oriundo de regiões da África, e contém 124 espécies identificadas (DAVIS et al. 2011). Apesar do grande número de espécies no gênero, somente as espécies *Coffea arabica* L. (café Arábica) e *Coffea canephora* Pierre (café Conilon) possuem importância econômica, representando, respectivamente, 76 % e 24 % da produção nacional de café (CONAB, 2017).

O Brasil é o maior produtor, exportador e segundo maior consumidor de café do mundo (OIC, 2017). A área plantada da cultura está bem difundida, estando presente na região norte (RO e PA), nordeste (BA), centro-oeste (MT e GO), sudeste (MG, ES, RJ e SP) e sul (PR). O estado de Minas Gerais é o maior produtor de *C. arabica*. Se tratando de *C. canephora*, o Espírito Santo que se destaca como maior produtor, seguido de Rondônia e Bahia. Juntos, estes três estados são responsáveis por 94% da produção do café Conilon (CONAB, 2017).

O cultivo do café Conilon tem se expandido, principalmente, para regiões marginais onde a disponibilidade de água é o fator que mais limita a produção (FERRÃO et al., 2010). Breves períodos de seca podem reduzir significativamente a produtividade do cafeeiro, e por isso a irrigação desempenha importante papel para assegurar a alta produtividade do café (SILVA; REIS, 2007). No entanto, nem sempre é possível sua instalação, dependendo da região, por exemplo devido a um relevo desfavorável, além dos custos elevados para implantação. Além disso, o volume de água disponível para irrigação diminui constantemente, principalmente, em anos mais secos que atingem muitas das regiões brasileiras de cultivo de café (SILVA et al., 2013). Isso pode ser ainda mais agravado considerando às alterações climáticas globais previstas pelo IPCC (2014), como aumento da temperatura média global e modificações no padrão e no volume de chuvas.

Segundo o levantamento da safra brasileira de café de 2016, foi observado queda na produção de 35% com relação à safra de 2015, que também sofreu queda com relação à de 2014 (14%). A produção brasileira do café Conilon sofreu esse decréscimo devido, principalmente, à seca e a má distribuição de chuvas em todas as áreas produtoras, nos estágios de florescimento, formação e enchimento de grãos (CONAB, 2015; 2016).

Nesse cenário, melhoristas tem buscado selecionar genótipos que consigam atingir bons rendimentos em ambientes sob restrição hídrica (RONCHI; DAMATTA, 2007). A tolerância à seca é resultante de uma série de características cujas expressões variam de acordo com a severidade e taxa de exposição ao estresse hídrico, idade da planta, condição nutricional, demanda evaporativa do ar, etc (SAMABATTI; CAYLOR, 2007).

O estudo de características morfofisiológicas, associado à seleção de índices e parâmetros apropriados, podem auxiliar o melhorista na identificação de materiais genéticos produtivos e tolerantes à seca.

O Programa de Melhoramento do Incaper, tem identificado e selecionado genótipos de *C. canephora*, que podem ser utilizadas como referência para tolerância à seca (RONCHI; DAMATTA, 2007). Estudos comparativos com tais indivíduos ou populações em condições de campo, em plantas adultas e em períodos mais prolongados de tempo, permitindo a progressão do estresse e das respostas morfofisiológicas adaptativas e/ou de aclimação ao estresse, podem fornecer importantes informações quanto aos efeitos de determinadas variações morfofisiológicas sob a tolerância à seca.

Assim, objetivou-se avaliar as duas populações de *C. canephora* (76x04 e 76x48), provenientes de cruzamentos de progenitores contrastantes quanto à tolerância à seca (tolerante x susceptível), para identificar as características mais determinantes na avaliação sob condições de seca, avaliar a divergência entre os indivíduos e indicar quais indivíduos apresentam maior tolerância à seca.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. *Coffea canephora*

A espécie *Coffea canephora* Pierre ex Froehner é um arbusto nativo do continente africano, que se desenvolveu em uma ampla região na bacia do rio Congo, se estendendo até o lago Vitória em Uganda. Sua região de origem tem média de temperatura de 24-26°C, sem grandes oscilações, precipitação abundante (superior a 2000 mm) distribuídos em 9-10 meses, umidade atmosférica frequentemente próxima à saturação e altitude variando do nível do mar até 1200m (COSTE, 1992; DAMATTA; RAMALHO, 2006).

É membro da família *Rubiaceae*, tribo *Coffeae*, subtribo *Coffeinae*, gênero e subgênero *Coffea*, seção *Eucoffea* e subseção *Erythrocoffea* (CARVALHO, 2008). Trata-se de uma espécie diploide ( $2n = 2x = 22$  cromossomos) e alógama, com autoincompatibilidade gametofítica (CONAGIN; MENDES, 1961), o que contribui para a diversidade da espécie ser bem ampla, exibindo adaptabilidade a variadas condições ambientais, sendo cultivada na África, Ásia e América latina (MARRACCINI et al., 2012).

A espécie apresenta plantas perenes, arbustivas, que podem atingir de 2 a 4m de altura, com multicaules cilíndricos, de lenho duro e coloração branca amarelada. As folhas são pareadas e opostas, elípticas, lanceoladas, de coloração verde-clara, com bordos ondulados e nervuras proeminentes (CARVALHO, 2008; RENA; GUIMARÃES, 2000). As flores são hermafroditas de coloração branca e aromáticas, com cerca de cinco estames presos ao tubo da corola, próximos aos lobos estigmáticos. Estão reunidas, de duas a vinte flores, em glomérulos axilares de ramos plagiotrópicos (MENDES et al., 1996). O fruto é uma drupa, com superfície lisa e brilhante de coloração verde, evoluindo para coloração vermelha, amarela ou alaranjada na maturação (FAZUOLI, 1986; CARVALHO; MÔNACO, 1965). As sementes são oblongas, com formato plano-convexa, sulcada, com endosperma duro e cor verde-clara encoberto por uma película prateada (tegumento ou perisperma) (SILVAROLLA et al., 2004; CARVALHO; MÔNACO, 1965).

Existem dois grupos bem característicos, determinados de acordo com a sua origem geográfica: Congolês e Guineano. O Congolês é formado por populações silvestres provenientes da Angola, Camarões, Congo, Gabão,

República Centro-Africana e Zaire, enquanto o Guineano é formado por populações silvestres oriundas da Costa do Marfim, Guiné e Libéria (BERTHAUD, 1986; DUSSERT et al., 1999).

Robusta, a variedade mais cultivada no mundo de *C. canephora* (tanto que o nome dessa variedade é utilizado para intitular o nome comum da espécie) é integrante do grupo Congolês (DAMATTA; RAMALHO, 2006; CARVALHO, 2008). Essa variedade é caracterizada pelo seu ótimo vigor, hábito de crescimento ereto, com caules de maior espessura e pouca ramificação, sistema radicular vigoroso e folhas relativamente grandes, em comparação a outras cultivares da espécie.

Como representante do grupo Guineano, temos a variedade Conilon (também conhecido como *Kouillou*). É caracterizada pelo crescimento arbustivo, apresentando caules com ramificação e folhas de menor tamanho (BERTHAUD; CHARRIER, 1988). O café Conilon, praticamente, é a única variedade cultivada de *C. canephora* no Brasil (DAMATTA; RAMALHO, 2006). Isso possivelmente se deve ao fato, apesar do grande polimorfismo existente, dessa variedade ser mais tolerante à seca em comparação com o cafeeiro da variedade Robusta (MONTAGNON; LEROY, 1993; MONTAGNON, 2000), sendo amplamente cultivado em ambientes susceptíveis ao déficit hídrico (SILVA et al., 2013).

## **2.2. Cenário econômico atual da cafeicultura brasileira**

O café é um dos produtos agrícolas mais importantes do mundo, gerando mais de U\$ 90 bilhões/ano, com cerca de 500 milhões de pessoas envolvidas em sua transformação, desde o cultivo até o consumo final (DAMATTA et al. 2010). É uma importante fonte de renda para muitos países em desenvolvimento como o Brasil, Vietnã e Colômbia (MONDEGO *et al.*, 2011), maiores produtores da cultura (OIC, 2017).

No ano de 2017, o Brasil produziu 44,97 milhões, exportou 30,7 milhões, e consumiu 21,5 milhões de sacas (de 60 kg) de café, se destacando como o maior produtor e exportador, e segundo maior consumidor de café do mundo (EMBRAPA, 2017).

A cafeicultura participa ativamente no crescimento econômico do Brasil, especialmente, nos principais estados produtores: Minas Gerais, maior

produtor de *C. arabica* (café Arábica), e Espírito Santo, maior produtor de *C. canephora* (café Conilon) (CONAB, 2016).

Da produção total de café brasileiro, cerca de 24% é de café Conilon (CONAB, 2017), e no período de 2008 a 2017, o Espírito Santo foi responsável, em média, por 70,3% dessa produção (CONAB, 2016). Foi introduzido no estado a cerca de 108 anos, tem mais de 40 anos de desenvolvimento no Brasil e 36 anos de pesquisa (MARLO, 2012). O estado é referência, no Brasil e no mundo, no desenvolvimento do café Conilon (CONAB, 2016), sendo cultivado em 266,47 mil hectares (CONAB, 2017), em cerca de 40 mil propriedades, principalmente em áreas de agricultura familiar, com cerca de 78 mil famílias produtoras (SEAG, 2015).

Embora a produção do café Conilon estivesse numa sequência contínua de aumento, como observado até a safra de 2014, onde se obteve a maior produção registrada (13 milhões de sacas), esse quadro foi interrompido, sobretudo, devido a condições climáticas adversas (seca, má distribuição de chuvas, associadas a altas temperaturas e insolação) que atingiram as principais regiões produtoras, nos anos de 2015 e 2016, ocasionando danos expressivos nas lavouras durante as fases de florescimento, formação e enchimento de grãos, além da escassez de água nos mananciais para uso na irrigação. A produção sofreu uma perda de 14% entre as safras de 2014/2015, e de 35% em relação às safras de 2015/2016 (CONAB, 2016).

Isso é um sinal preocupante para a cafeicultura, visto que vários estudos apontam alterações climáticas globais relacionadas ao aumento da temperatura e modificação do padrão e da quantidade de regimes chuvosos devido ao aquecimento global (IPCC, 2014), levantando incertezas quanto a futura sustentabilidade da produção de café em áreas tradicionais (RODRIGUES et al., 2016), já que o zoneamento agrícola, a produtividade das culturas e as técnicas de manejo podem ser afetadas por tais mudanças climáticas (TOMAZ et al., 2008).

Entretanto, a pesquisa científica pode propor alternativas viáveis para contornar às condições futuras previstas, como o uso de genótipos tolerantes, associado a técnicas de manejo, arborização e gestão de recursos hídricos para irrigação nas propriedades rurais, aliadas a políticas públicas facilitadoras (RODRIGUES et al., 2016).

### **2.3. Estresse hídrico**

O estresse hídrico é o principal estresse abiótico que limita o crescimento e produção das culturas em todo o mundo (ALTER et al., 2015). É provocado por um desequilíbrio entre a disponibilidade de água no solo, a exigência das culturas e a transpiração das plantas (IPMA, 2018). Afeta negativamente o funcionamento normal do metabolismo, diminuindo o potencial hídrico e turgor celular das plantas (LISAR et al., 2012).

O fenômeno da seca é agravado particularmente nos trópicos, devido à frequente associação à alta radiação solar e alta temperatura, o que caracteriza a seca como um estresse multidimensional (DAMATTA, 2003).

Em comparação com outros fenômenos de estresse como geadas, o estresse hídrico não ocorre de repente, mas desenvolve-se e aumenta gradativamente com o tempo. Inicia-se quando o status hídrico da planta é reduzido e a turgescência celular começa a cair abaixo de seu valor máximo (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

O estresse hídrico, principalmente sob alta radiação solar e alta temperatura, diminui severamente a fotossíntese e aumenta a fotorrespiração, altera a homeostase normal das células e provoca um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (MILLER et al., 2010).

O primeiro efeito de estresse causado pela seca é o estresse osmótico, que limita o fluxo de água e, logo depois, promove uma sequência de reações, reguladas principalmente pelo acúmulo do ácido abscísico (ABA) (ZHU et al., 2016), que levam ao fechamento estomático e, conseqüentemente, limitam à difusão de CO<sub>2</sub> para o interior foliar, diminuindo à fotossíntese e aumentando a fotorrespiração (SILVEIRA et al., 2010), o que implica na queda da produção das culturas.

O estresse hídrico também causa um desequilíbrio entre a captura de luz e sua utilização, o que inibe a fotossíntese nas folhas. A dissipação do excesso de energia luminosa no aparato fotossintético resulta na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) (LISAR et al., 2012). EROs são formas altamente reativas, tais como o ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), radical hidroxila (OH<sup>-</sup>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e oxigênio singleto (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (DAS et al., 2015), que quando acumulados, reagem com moléculas orgânicas e causam extensivos danos em máquinas celulares, como ocorre no cloroplasto iluminado, principal

produtor celular e também principal alvo de EROs (ZHU et al., 2016). Isso acentua a queda no uso de fótons, intensificando ainda mais a produção de tais moléculas (DAMATTA; RAMALHO, 2006). Esses danos se apresentam pelo surgimento de manchas cloróticas, que progridem para a necrose e posterior à abscisão foliar (RONCHI; DAMATTA, 2007)

Para lidar com os estresses ambientais, diferentes mecanismos de resistência podem ser adotados pelas plantas para garantir a sobrevivência e crescimento das plantas (VILE et al., 2012), variando significativamente em diferentes níveis de acordo com a espécie, estágio de crescimento, tipo, intensidade, duração e combinação de estresses (bióticos e/ou abióticos) (JALEEL et al., 2008; MIGNOLET-SPRUYT et al., 2016).

Os mecanismos de resistência à seca foram divididos em escape, retardo e tolerância. O escape é uma estratégia onde as plantas aceleram o seu ciclo produtivo, devido a um rápido desenvolvimento fenológico e alta plasticidade, a fim de completar o seu ciclo de vida sem que o estresse hídrico se torne severo a ponto de provocar danos fisiológicos. O retardo da desidratação é o mecanismo onde a planta procura manter a hidratação dos tecidos, seja pelo aumento da captação de água do solo por um sistema radicular vigoroso como pela diminuição da perda de água pela transpiração. A tolerância é um mecanismo que permite a manutenção das atividades metabólicas, mesmo sob condições de estresse, principalmente pelo aumento na concentração de solutos compatíveis ou osmólitos, proteínas de osmoproteção e à capacidade antioxidante (VERSLUES et al., 2006).

Quando a planta tem a tolerância aumentada por ter sido anteriormente exposta ao estresse, é dito que a planta está aclimatada. Se a tolerância for devido a características genéticas obtidas através de um processo de seleção que ocorreu por várias gerações ao longo do tempo, diz-se que a planta é adaptada. A adaptação e a aclimação ao estresse são decorrentes de uma série de eventos integrados que ocorrem nos diferentes níveis de organização da planta, provocando alterações anatômicas, morfológicas, celulares, bioquímicas e moleculares (TAIZ; ZEIGER, 2006).

Logo, como a produtividade das culturas é limitada pela seca, e depende da disponibilidade de água e de como as plantas utilizam esse recurso, a seleção e desenvolvimento de genótipos tolerantes à seca por

programas de melhoramento genético é de grande importância para a agricultura, já que plantas tolerantes têm estratégias que possibilitam um bom rendimento, mesmo sob condições de estresse hídrico (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

#### **2.4. Tolerância à seca em *Coffea canephora***

A tolerância à seca está associada com a adaptação/aclimatação de determinada cultivar à diferentes condições ambientais. Espera-se que cultivares tolerantes sejam capazes de sobreviver e produzir em condições de baixa disponibilidade hídrica (SILVA et al., 2010).

No café, conforme o nível de exposição ao estresse hídrico, a produção e qualidade dos grãos podem ser mais ou menos afetadas. A fase de enchimento até o florescimento é o período mais crítico. Nesse período, o estresse hídrico pode comprometer seriamente a produção e qualidade dos frutos, pela redução da quantidade e tamanho dos frutos, além de comprometer o desenvolvimento da planta e, conseqüentemente, a produção do ano e a do ano consecutivo, acentuando a bienalidade da produção (FERRÃO et al., 2007).

Sabe-se que *C. canephora* é uma espécie formada de populações que apresentam grande variabilidade genética (CONAGIN; MENDES, 1961; BERTHAUD, 1980). Esse polimorfismo pode ser observado em relação à característica de tolerância à seca, apresentando variações entre e dentro das diferentes variedades da espécie. Porém, de forma geral, parece existir uma maior tolerância ao estresse hídrico em cafeeiros da variedade Conilon (do grupo Guineano) em comparação aos cafeeiros da variedade Robusta (do grupo Congolês) (BOYER, 1965; COSTE, 1992).

Clones da variedade Robusta sob condições adequadas, podem ter ótimos desempenhos (DAMATTA; RAMALHO, 2006). Porém, sob condições de estresse hídrico, embora apresentem um sistema radicular vigoroso (ALFONSI et al., 2005), também apresentam um controle deficiente da transpiração (FAHL et al., 2001; CAVATTE et al., 2008). Estas características contribuem para o rápido consumo da água disponível no solo, o que pode levar maiores riscos a produção, caso o estresse persista, pela susceptibilidade à cavitação e a danos celulares de maior extensão (CAVATTE et al., 2008).

O melhor desempenho sob condições de seca do café Conilon, em relação ao Robusta, está relacionado ao controle estomático mais eficiente da transpiração, o que favorece maior tolerância à seca (DAMATTA; RENA, 2001). Ferrão et al. (2000) avaliando o desempenho de 54 clones elites e de três variedades como testemunhas de café Conilon, sob condições de estresse hídrico, observou que a produtividade variou de 13,47 a 108,73 sc/ha, tendo a média geral de 55,85 sc/ha. Isso mostra a grande variabilidade quanto à produção do café Conilon em condições de estresse hídrico, como é esperado da espécie.

A tolerância diferencial ao estresse hídrico entre clones de café Conilon se deve a variações morfofisiológicas, que influenciam a eficiência de absorção da água disponível no solo e as taxas de uso da água na planta (DAMATTA; RAMALHO, 2006). De acordo com avaliações fisiológicas, clones com melhores desempenhos em condições de seca conseguem manter o potencial hídrico foliar adequado por maior período de tempo. Isso é possível através do aprofundamento radicular associado a um eficiente controle estomático, e pela manutenção da área foliar apresentando folhas de inclinação mais verticalizada (DAMATTA et al., 2003; PINHEIRO et al., 2005). Somado a isso, características bioquímicas relacionadas à tolerância ao estresse oxidativo (LIMA et al., 2002; PINHEIRO et al., 2004) e a manutenção da exportação de fotoassimilados da parte aérea para as raízes também pode contribuir com a tolerância à seca (PRAXEDES et al., 2006), uma vez que permite maior crescimento do sistema radicular e, conseqüentemente, aumentam a captação de água pelo acesso a maiores profundidades do solo (SILVA et al., 2010).

A partir da observação dos resultados de ensaios anteriores, Ronchi e DaMatta (2007) sugeriram a existência de três estratégias relacionadas à tolerância diferencial ao estresse hídrico em clones de café Conilon.

A primeira estratégia é caracterizada por clones sensíveis ao estresse hídrico apresentando controle estomático ineficiente, devido aos estômatos responderem de forma limitada à redução da água disponível no solo ou à demanda evaporativa do ar. De outra forma, mesmo que mostrem controle estomático adequado, podem exibir menor capacidade de captação de água, ocasionada por um sistema radicular mais superficial. Em ambos os casos, os tecidos desidratam mais rapidamente sob condições de seca, provocando

disfunções metabólicas, resultando na significativa perda da área foliar, e em casos de seca severa, prejudicando profundamente a produção. Portanto, a irrigação é necessária para o cultivo desses clones em regiões susceptíveis à seca.

A segunda estratégia corresponde à clones tolerantes com raízes relativamente profundas, com estômatos sensíveis à disponibilidade hídrica e exibindo baixas taxas de uso da água, retardam a desidratação dos tecidos, conservando o balanço hídrico satisfatório por mais tempo e, assim, o vigor. No entanto, com o fechamento estomático para limitar a perda de água por transpiração, o influxo de CO<sub>2</sub> para fotossíntese também é limitado (clone 14). Isso, conseqüentemente, reduz a produção. Clones com essa estratégia geralmente não respondem satisfatoriamente à irrigação caso a demanda evaporativa do ar seja alta, pois em resposta à baixa umidade relativa, os estômatos se fecham, mesmo que a água ainda esteja disponível no solo. Essa estratégia favorece a sobrevivência ao invés da produção.

A terceira estratégia corresponde à clones tolerantes com raízes relativamente profundas e estômatos sensíveis à disponibilidade hídrica, com alta condutividade hidráulica, e apresentando comportamento intermediário relativo a manutenção da hidratação dos tecidos sob estresse hídrico (clone 120). Clones que adotam essa estratégia, normalmente, podem ser cultivados tanto em condições de seca como irrigadas, mostrando, em ambas, bom desempenho. Com disponibilidade hídrica, esses clones associam taxas relativamente elevadas de transpiração (e, assim, aumento da fotossíntese pelo maior influxo de CO<sub>2</sub>) com rápida absorção da água perdida por transpiração. Com a diminuição da água disponível no solo, o sistema radicular pode garantir o suprimento parcial da água por ser capaz de absorver a água presente nas camadas mais profundas do solo, embora, isso provoque um esgotamento mais rápido das reservas hídricas do solo, contribuindo para o desenvolvimento do estresse hídrico. Além disso, esses clones apresentam, ao que tudo indica, mecanismos que oferecem maior tolerância protoplasmática à dessecação, devido a um sistema antioxidante mais eficiente, o que reduz os danos sob o metabolismo celular.

No entanto, considerando a grande variabilidade existente na espécie, podem existir outras estratégias, já que essas foram elaboradas a partir de um número reduzido de genótipos.

Outras características fisiológicas como o ajuste osmótico e elástico, e eficiência do sistema antioxidante podem ser usadas para identificação de genótipos tolerantes (CAVATTE et al., 2008). Além dessas, também podem ser utilizadas características moleculares como aquelas relacionadas à via de sinalização do ABA e o óxido nítrico, que controlam e explicam, através de uma complexa rede de respostas, a melhor eficiência no controle estomático dos clones tolerantes à seca (MARRACCINI et al., 2012).

Como descrito, não existe uma característica isolada que possa prever precisamente a tolerância e a produção do café Conilon sob estresse hídrico (DAMATTA; RAMALHO, 2006). Assim, se faz necessário obter mais informações das variações morfofisiológicas relacionadas à tolerância à seca nas plantas de café, a fim de auxiliar o melhoramento na seleção de índices e parâmetros adequados para identificar materiais genéticos tolerantes.

## **2.5. Padrões e características relacionados à tolerância à seca**

Características da parte aérea são diretamente afetadas pela disponibilidade hídrica. O estresse hídrico associado a altas temperaturas provoca várias alterações na anatomia e na estrutura foliar como a redução no tamanho das folhas e do número de estômatos, espessamento da parede celular e cutinização da superfície foliar. Com a evolução do estresse, pode reduzir significativamente o crescimento da parte aérea e produção de folhas, além de estimular a senescência foliar, diminuindo a área foliar (LISAR et al., 2012).

Acredita-se que a redução foliar funciona como uma estratégia que provoca a diminuição da transpiração, pela diminuição da superfície transpirante, e do gasto energético destinado à manutenção dos tecidos (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005; INMAN-BAMBER et al., 2008). Porém, como observado em clones de *C. canephora* sensíveis à seca, que perdem quantidades consideráveis da sua folhagem, essa estratégia não foi suficientemente eficiente, pois o estado hídrico das folhas remanescentes se mostrou gravemente comprometido (DAMATTA et al., 2003).

DaMatta et al. (2003) associou que o melhor desempenho apresentado por um clone tolerante à seca de *C. canephora*, em comparação com um clone sensível, foi devido à melhor manutenção da área foliar e do maior potencial hídrico, como consequência de raízes mais profundas e de uma melhor eficiência no uso da água. No entanto, referindo-se à eficiência no uso da água, Blum (2009) sugere que para identificação de genótipos com melhor desempenho sob condições de seca, devem-se selecionar genótipos que maximizem a captação da água disponível no solo, em conjunto com o aumento da transpiração e da condutância estomática. Isso promove uma maior assimilação de CO<sub>2</sub> e, portanto, da fotossíntese, o que resulta em uma menor eficiência no uso da água. Pinheiro et al. (2005) identificou um clone resistente à seca de *C. canephora* que apresentava menor eficiência no uso da água do que um susceptível, onde a resistência foi associada a raízes profundas e, possivelmente, maior uso de água.

De toda forma, o atraso ou redução da senescência foliar induzidas pelo estresse hídrico, economiza recursos que, de outro modo, seriam utilizados para a restauração da área foliar e não para a produção (DAMATTA et al., 2003). Em geral, plantas com maior longevidade foliar possuem menor área foliar específica (ou maior massa foliar específica), devido ao fato de apresentarem maior espessamento da lâmina foliar e da cutícula, e maior área lignificada. Isso aumenta a razão massa/área, o que permite que as folhas suportem maiores períodos expostas a fatores de estresse, como à seca (LIMA et al., 2006).

Apesar disso, a manutenção da área foliar não é obrigatoriamente vantajosa para manutenção da produção sob estresse, pois se a condutância estomática diminuir consideravelmente, levando a uma forte limitação para as trocas gasosas, a sobrevivência da planta será favorecida em detrimento da manutenção da produção. Por outro lado, se condutância estomática não diminuir significativamente, e se a planta tiver características que restaurem a água perdida, como uma boa condutância hidráulica associada a raízes profundas, a manutenção da produtividade das culturas é favorecida, pois a possível queda no estado da água da parte aérea é minimizada (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

Outra característica que tem sido associada com a tolerância à seca é a densidade do lenho caulinar. Plantas que apresentam alta densidade utilizam a água disponível no solo mais lentamente e possuem maior eficiência hidráulica em condições de estresse. Isso se deve a uma possível segurança hidráulica contra a cavitação, que promove uma satisfatória hidratação dos tecidos. Enquanto plantas que demonstram menor densidade, sob limitação hídrica, esgotam a água rapidamente e mostram desidratação tecidual, menor troca gasosa e acúmulo de biomassa (SILVA et al., 2013).

As concentrações teciduais de clorofilas e carotenoides, também são afetadas de forma negativa pelo estresse hídrico, principalmente devido a produção de EROs nos tilacoides, sendo os carotenoides, na maioria dos casos, menos sensíveis ao estresse hídrico do que a clorofila (LISAR et al., 2012). Já a concentração de compostos fenólicos nas folhas aumenta (CAVATTE et al., 2012), pois estes compostos são relacionados com a proteção contra o excesso de energia (WILHELM; SELMAR, 2011) e danos associados à radiação UV-B (GILL; TUTEJA, 2010).

Igualmente, também se observa um aumento na concentração de solutos osmoticamente ativos não tóxicos (assim compatíveis), como prolina e compostos de amônio quaternário, estando estes relacionados ao ajuste osmótico. A relação do ajuste osmótico com a produção sob estresse às vezes mostrou ser mediada pela manutenção da turgescência e/ou maior condutância estomática (pela diminuição do potencial osmótico) e, conseqüentemente, do crescimento mesmo com baixo potencial hídrico foliar, provocado pela restrição hídrica. Já para outros casos, como no trigo, milho, sorgo e girassol, o ajuste osmótico foi associado a um crescimento melhor ou mais profundo das raízes e melhora a captação de umidade do solo (BLUM, 2016). Embora o ajuste osmótico seja geralmente medido nas folhas, as raízes também se ajustam osmoticamente, o que aumenta o crescimento das raízes e a captação da água da raiz (VELÁZQUEZ-MÁRQUEZ et al. 2015). Contudo para o cafeeiro, tal acúmulo não se associa satisfatoriamente com a tolerância à seca em várias cultivares de *C. arabica* e *C. canephora* (RONCHI; DAMATTA, 2007). De toda forma, o aumento da concentração de tais compostos em condições de seca parece ser um indicador sensível do estado de hidratação das folhas (MAESTRI et al., 1995). Além disso, o acúmulo de prolina em plantas de *C.*

*arabica* pode estar ligada à lesão causada pela seca (MAZZAFERA; TEIXEIRA, 1989).

A falta d'água pode levar a deficiência de nutrientes, já que a água é o meio de absorção da maioria elementos minerais pelas raízes (DAMATTA et al., 2002), sendo o nitrogênio (N) um dos nutrientes mais afetados pela disponibilidade hídrica. O nitrogênio faz parte da composição do DNA, RNA, proteínas e clorofila, desempenhando um papel vital em muitos processos metabólicos (GLIBERT et al., 2016). Cerca de 50% do N foliar está diretamente envolvido na fotossíntese, fazendo parte do cloroplasto e de muitas enzimas que atuam no ciclo de Calvin, especialmente ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase (Rubisco). Sua indisponibilidade reduz a fotossíntese da cultura, reduzindo o desenvolvimento da área foliar e a taxa de fotossíntese foliar e acelerando a senescência foliar (BANZIGER et al., 2000). Também reduz a condutividade hidráulica, a captação de água e a síntese de ABA nas raízes (KRAMER; BOYER, 1995).

A ruptura no metabolismo de N é um dano frequente que a planta sofre sob condições de déficit hídrico. Estudos mostram que ocorre redução da captação de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), pela menor absorção de nutrientes pelas raízes, e diminuição da atividade da redutase do  $\text{NO}_3^-$  sob estresse (LISAR et al., 2012), sendo essa queda mais proeminente em genótipos susceptíveis, o que gera um maior acúmulo desse composto. A manutenção da atividade dessa enzima, e, portanto, da continuidade da redução do  $\text{NO}_3^-$  representa um mecanismo de dissipação de energia, já que sua transformação nas folhas do cafeeiro, passando pelos cloroplastos, é dependente de energia, reduzindo assim os efeitos do estresse oxidativo.

Além disso, o suprimento adequado de N pode indiretamente melhorar a tolerância à seca, pois estimula mecanismos de fotoproteção do cloroplasto e mudanças qualitativas da membrana em condições com excesso energia de excitação, que acontece quando o fechamento estomático é ocasionado pelo estresse hídrico (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Objetivou-se estudar duas populações provenientes de cruzamentos de clones de *C. canephora* var. Conilon (76x04 e 76x48) contrastantes quanto à tolerância à seca, avaliando as variações em características morfológicas, fotossintéticas e na concentração de compostos nos tecidos foliares quando submetidas à seca, a fim de identificar genótipos superiores e as variáveis mais discriminatórias para tolerância à seca.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Verificar a alteração em características morfofisiológicas de acordo com as condições ambientais, entre diferentes épocas de avaliação e entre os genótipos;
  - Caracterizar os clones progenitores 76, 04 e 48;
  - Determinar qual das duas populações (76x04 e 76x48) apresentam melhores características morfológicas, fotossintéticas e concentrações de compostos em condições de estresse hídrico;
  - Analisar a variabilidade existente entre as progênies dentro de cada população, de acordo com as épocas de avaliação.
  - Determinar quais genótipos apresentam melhor tolerância à seca, após exposição ao estresse hídrico;
  - Identificar as variáveis mais relevantes para seleção de genótipos tolerantes à seca.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Material vegetal**

Os genótipos utilizados são provenientes do Programa de Melhoramento Genético de Café do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). Os clones progenitores (76, 48 e 04) apresentam 5 repetições cada e as populações são provenientes de cruzamentos controlados entre 76x48, com 130 indivíduos, e 76x04, com 43 indivíduos. Segundo observações de campo realizadas pelo Incaper, o clone 76 apresenta tolerância à seca, resistência a ferrugem, qualidade superior de bebida, maturação tardia, grãos de tamanho médio e boa estabilidade de produção. Já os clones 04 e 48 são susceptíveis à seca e ferrugem, têm alto potencial produtivo e grãos de tamanho grande.

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Marilândia (FEM), pertencente ao Incaper, no noroeste do Espírito Santo. A fazenda se encontra na latitude de 19°24' sul e longitude de 40°31' oeste, está a 104 m de altitude, solo cristalino, de baixa fertilidade. A região apresenta topografia ondulada acidentada (FEITOSA, 1986), temperatura média de 24.3°C, índice pluviométrico anual de 1135 mm, evapotranspiração potencial anual média de 1302 mm e a deficiência hídrica 226 mm. Pela classificação climática de Thornthwaite, o clima da região é do tipo megatérmico subúmido seco com excedente hídrico pequeno ou nulo (NÓBREGA et al., 2008).

O experimento foi conduzido sem irrigação e adotando o manejo convencional da cultura (Ferrão et al., 2012).

### **4.2. Épocas de avaliação**

Foram realizadas três coletas de dados de características morfológicas, fotossintéticas e de composição química dos tecidos foliares em períodos diferentes, que foram: i) de 14 a 21 de julho de 2015; ii) de 10 a 18 de dezembro de 2015; e iii) de 21 a 27 de abril de 2016.

### **4.3. Características Morfológicas**

Para cada época de avaliação foram escolhidos dois ramos plagiotrópicos sem frutos, correspondentes ao oitavo ramo plagiotrópico, do

ápice para base. A partir desses ramos, foram obtidas as características morfológicas de comprimento foliar (CF) e largura foliar (LF). A área foliar unitária (AFU) e a área foliar total (AFT) foram calculadas a partir das folhas dos dois ramos, conforme modelo de potência única: Área foliar =  $0,6626 (CF \times LF)^{1,0116}$ , proposto por Antunes et al. (2008).

A área foliar específica (AFE) foi estimada a partir de 20 discos foliares com 1,5 cm de diâmetro de quatro folhas índices do quarto ou terceiro par do ramo plagiotrópico por indivíduo (SILVA et al., 2013) e a espessura destas folhas (EF) foi medida utilizando Paquímetro Inox Digital 150 Mm 684132 - Lee Tools. Em todas as coletas, foi feita a análise da massa seca das folhas, de ramos plagiotrópicos e ortotrópicos, e de discos foliares, após processo de secagem à 60° C em estufa até atingir massa constante e, logo depois, a pesagem foi realizada utilizando balança semianalítica modelo Marte ad200.

A partir dessas avaliações foi permitido calcular a razão de área foliar (RAF), que descreve o investimento de área foliar por unidade de biomassa investida no ramo.

O comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) foi também medido, a partir dos ramos plagiotrópicos selecionados, e o comprimento entrenódio (CE) foi obtido a partir da contagem do número de rosetas desses ramos.

Em julho de 2015, a poda das populações foi realizada, o que permitiu medir a densidade do lenho caulinar (DLC) no ramo ortotrópico, segundo o modelo sugerido por Silva et al. (2013), usando um segmento de 2 cm de comprimento do caule, coletado 10 cm abaixo do ponto de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos (mais antigo). O DLC foi calculado como a massa seca por unidade de volume do caule, com o pressuposto de que o caule da planta do café era cônico.

#### **4.4. Teor de compostos nos tecidos foliares**

Para as análises químicas realizadas foram coletadas quatro folhas do terceiro ou quarto par do ramo plagiotrópico, e depois essas foram armazenadas à -80°C, liofilizadas e maceradas. A partir desse material foram realizadas as análises descritas a seguir:

##### **4.4.1. Quantificação de clorofilas e carotenoides totais**

Com 25 mg do material macerado, utilizando tubos de 2 mL, se adicionou 1.5 mL de acetona 80% v/v e, em seguida, o conteúdo foi homogeneizado em vórtex. Logo depois, os tubos foram centrifugados durante 5 min a 13600 rpm (Thermo Scientific - Heraeus Pico e Fresco). Ao fim da centrifugação, foi retirado 1 mL do extrato para outros tubos de 2 mL e procedeu-se com a leitura das amostras em espectrofotômetro nas absorvâncias de 470 nm, 646,8 nm e 663.2 nm. As medidas esperadas da absorvância encontram-se entre 0.2 nm e 0.8 nm (LICHTENTHALER, 1987).

A quantificação dos teores de clorofila e de carotenoides ( $\text{ng L}^{-1}$ ) foram calculados a partir das seguintes equações:

$$\text{Clorofila a (Ca)} = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$$

$$\text{Clorofila b (Cb)} = 21.50 A_{646.8} - 5.10 A_{663.2}$$

$$\text{Clorofilas totais (CLO)} = 7.15 A_{663.2} + 18.71 A_{646.8}$$

$$\text{Carotenoides} = (1000 A_{470} - 1.82 Ca - 85.02 Cb) / 198$$

Para definição da concentração da clorofila e carotenoides (CAR) presente nas amostras, considerou-se a quantidade inicial da amostra pesada, as diluições realizadas e o volume do extrato usado para a leitura no espectrofotômetro.

#### 4.4.2. Quantificação de nitrogênio nítrico ( $\text{NO}_3^-$ )

Essa análise seguiu a metodologia proposta por Cataldo et al. (1975). O extrato bruto foi preparado em tubos de ensaio com 0.1 g do material macerado, onde adicionou-se 1 mL de etanol absoluto e 10 mL de água destilada.

Em seguida, foi levado ao banho-maria a uma temperatura de 45°C durante 60 minutos. Após os tubos esfriarem, adicionou-se cerca de 250 mg de carvão ativo, agitado e filtrado em papel de filtro lento, sendo esta etapa repetida até a obtenção de um filtrado cristalino.

A determinação de  $\text{NO}_3^-$  no extrato foi realizada fazendo uso de curva padrão. As concentrações da curva padrão foram de 0  $\mu\text{g/mL}$ , 5  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 25  $\mu\text{g/mL}$ , 50  $\mu\text{g/mL}$  e 100  $\mu\text{g/mL}$ . Foi utilizada uma solução estoque de nitrato de potássio na concentração de 0,1628% como referência. Preparou-se a reação com 20  $\mu\text{L}$  do extrato bruto, 80  $\mu\text{L}$  de ácido salicílico 5% em ácido sulfúrico absoluto e 1900  $\mu\text{L}$  de hidróxido de sódio 2N em tubos de 2 mL.

Passado 30 minutos em repouso, levou-se a amostra para leitura em espectrofotômetro na absorvância de 410 nm.

Para estimar a concentração do  $\text{NO}_3^-$  presente nas amostras, foi considerada a equação da curva padrão, o peso inicial da amostra, as diluições e o volume do extrato utilizado na leitura no espectrofotômetro.

#### 4.4.3. Quantificação nitrogênio orgânico ( $\text{NH}_4^+$ )

O extrato bruto foi preparado a partir de 0.1 g do material macerado em tubos digestor, onde foi adicionado 1 mL de ácido sulfúrico P.A. e deixado para pré-digestão por cerca de 12 horas.

Em seguida, foi aplicado 1 mL de peróxido de hidrogênio 35% em cada amostra, e transferiu-se os tubos para um bloco digestor, onde elevou-se a temperatura lentamente até  $300^\circ\text{C}$ , mantendo-se essa temperatura durante 30 minutos.

Após as amostras atingirem a temperatura de  $150^\circ\text{C}$ , verificou-se a presença de tubos com extrato amarelo ou preto, que receberam novamente o volume de 1 mL de peróxido de hidrogênio, e foram levados para outra digestão, a  $200^\circ\text{C}$  durante 15 minutos, para clarificar essas amostras.

Após os extratos resfriarem, adicionou-se em cada tubo 24 mL de água destilada, e esse volume foi homogeneizado utilizando vórtex.

As concentrações da curva padrão utilizadas foram de 0  $\mu\text{g/mL}$ , 1  $\mu\text{g/mL}$ , 2  $\mu\text{g/mL}$ , 4  $\mu\text{g/mL}$ , 6  $\mu\text{g/mL}$  e 8  $\mu\text{g/mL}$ . Foi utilizada a solução estoque de sulfato de amônio na concentração de 0.025% como referência. As amostras foram preparadas em tubos de ensaio de 5 mL, com o volume de 100  $\mu\text{L}$  do extrato, 3.9 mL de água destilada, 500  $\mu\text{L}$  de tartarato de sódio 10% e 500  $\mu\text{L}$  de reagente de Nessler. Após 20 minutos em repouso, a amostra foi levada para espectrofotômetro a 480 nm para leitura da absorvância.

Para estimativa da quantidade do  $\text{NH}_4^+$  presente nas amostras, foi considerado a equação da curva padrão, o peso inicial da amostra, as diluições e o volume utilizado na leitura no espectrofotômetro.

A partir a soma dos valores de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ , obteve-se a quantidade de nitrogênio total (Nt).

#### 4.4.4. Preparação do extrato etanólico para quantificação de compostos fenólicos e aminoácido prolina

O extrato foi preparado em tubos de 2 mL, com 50 mg do material vegetal em uma série etanólica com 500 µL de etanol 98%, 80% e 50%. Em cada passo foi feita a homogeneização em vórtex, banho maria à temperatura de 80°C durante 20 minutos, e centrifugação a 14000 rpm durante 5 minutos. O sobrenadante também foi coletado em cada processo, e misturado em um tubo de 2 mL.

##### 4.4.4.1. *Quantificação de compostos fenólicos solúveis totais*

A amostra foi preparada a partir da diluição do extrato etanólico, onde foi utilizado 50 µL do extrato para um volume de 2mL completado com etanol 80%. Foi coletado 30 µL desse volume, 470 µL de água destilada, 250 µL de reagente de Folin-Ciocalteu (diluído na proporção de 1:9 mL em água destilada) e 1250 µL de carbonato de sódio 10%.

Para quantificação de fenol total (FST) foi definido como padrão o ácido tânico, pesando-se 500 mg e diluindo em 100 mL de etanol 80%. Do volume resultante, coletou-se 1mL, que foi rediluído em 100 mL de etanol 80%. O preparo da curva padrão foi feito com a solução de ácido tânico rediluída nas concentrações de 0 µg/mL, 1.25 µg/mL, 2.5 µg/mL, 5 µg/mL, 7.5 µg/mL e 10 µg/mL.

Logo após, a leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro a 725 nm. A quantificação do fenol foi determinada considerando a equação da curva padrão, o peso inicial da amostra, a diluição do extrato etanólico e o volume do extrato usado no espectrofotômetro.

##### 4.4.4.2. *Quantificação do aminoácido prolina*

Essa análise seguiu a metodologia proposta por Bates et al. (1973).

No preparo das amostras foram aplicados 150 µL do extrato etanólico bruto, 2.75 mL de água destilada, 100 µL de glicina 126 mM, 2 mL de ácido acético glacial e 2 mL de reagente de ninhidrina. As amostras foram para o banho maria à 95°C, onde permaneceu por 35 minutos. Posteriormente, a reação foi inibida colocando os tubos em banho de gelo. Depois, foi adicionado 4 mL de tolueno, seguindo para agitação dos tubos no vórtex por 10 segundos.

O cromóforo com tolueno (fase rósea superior) foi coletado, com pipeta descartável, e posto em tubos de vidro. A seguir, procedeu-se com a leitura da absorbância a 515 nm no espectrofotômetro.

Uma solução de prolina a 57.565 µg/mL nas concentrações de 0 µg/mL, 0.02302 µg/mL, 0.05756 µg/mL, 0.09901 µg/mL, 0.01842 µg/mL, 0.02164 µg/mL, 0.02993 µg/mL e 0.03338 µg/mL foi usada para obtenção da curva padrão.

A determinação de prolina (PRO) presente nas amostras considerou a equação da curva padrão, a quantidade total produzida do extrato etanólico e o peso inicial da amostra utilizada.

#### **4.5. Características fotossintéticas**

Em folhas do terceiro ou quarto par do ramo plagiotrópico, foram avaliadas as características fotossintéticas. Foram determinadas a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), a condutância estomática (g<sub>s</sub>) e a taxa de transporte de elétrons (ETR). Essas variáveis foram obtidas em analisador de gás infravermelho (IRGA) (modelo Li 6400XT - Li-Cor), sempre entre 08h00 e 11h00, sob luminosidade e concentração de CO<sub>2</sub> artificial e pressão parcial de CO<sub>2</sub> de 40 Pa e radiação fotossinteticamente ativa de 1000 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>. Também foi estimada, a partir desses dados, a eficiência no uso da água intrínseca (A/g<sub>s</sub>).

#### **4.6. Análises Estatísticas**

Os dados dos clones progenitores e das populações foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F (p<0.05, com exceção de DLC, coletado somente em julho/2015, que foi analisado em DIC. As médias foram submetidas ao teste de Duncan a 5% de probabilidade, e, quando houve efeito significativo da interação clone x época, foi realizado o seu desdobramento. Essas análises foram feitas com auxílio do programa R.

Também foram obtidos para as populações os gráficos Box Plot, a partir de dados descritivos (valor mínimo, valor máximo, mediana, primeiro e terceiro quartil) das diferentes variáveis analisadas, o que facilitou, para cada variável, identificar a posição, dispersão, assimetria, comprimento da cauda e *outliers* (dados discrepantes). Foram considerados *outliers* aqueles que

ultrapassaram a distância correspondente a  $1,5dq$ , sendo  $dq =$  (terceiro quartil)  $Q3 -$  (primeiro quartil)  $Q1$ . Ou seja, todos os valores abaixo de  $Li = Q1 - 1.5dq$  ou acima de  $Ls = Q3 + 1.5dq$  foram considerados *outliers*.

Essas análises foram feitas com auxílio do programa Microsoft Office Excel 2010.

Também foram obtidas as medidas de dissimilaridade, baseadas em variáveis quantitativas. Para estimar as distâncias entre os diferentes indivíduos foi utilizada a distância euclidiana média, com valores individuais de cada genótipo em cada época de análise separada. Na posse da matriz de dissimilaridade, uma análise de agrupamento foi feita pelo método hierárquico de ligação média entre grupos ou *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA), que agrupou os indivíduos que apresentam maior similaridade em dendogramas, adotando-se o ponto de corte de acordo com o método de Mojena (1977), baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias). Os agrupamentos foram realizadas com auxílio do programa Genes (CRUZ, 2016).

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1. Observações climáticas nos períodos de coletas de dados**

Durante todo o período de análises do experimento, registrou-se médias elevadas para as temperaturas máxima e mínima, e baixas médias de precipitação, em relação à série histórica de 1984-2014. Segundo os dados do sistema de informações meteorológicas do Incaper, no mês de julho/2015 observou-se anomalias de temperatura, tanto as máximas quanto as mínimas, registrando-se valores em torno de 0.5 a 2°C acima do normalmente esperado. Nos meses de dezembro/2015 e abril/2016, também se registrou anomalias positivas para a temperatura máxima, de 3 a 5°C, e mínima, de 0.5 a 2°C. Nesses três meses, observou-se desvios negativos de chuva superiores a 75% (INCAPER, 2015; 2016).

Ressalta-se que desde de 2014, o estado do Espírito Santo se encontrava com problemas climáticos severos, que ocasionou redução de cerca de 50% da produção do café Conilon, elevadíssima desfolhas, baixo crescimento e redução do vigor das plantas devido ao prolongado período de seca, com cerca de 1000 dias, que acabou no final de 2016 (CONAB, 2017).

Assim, podemos considerar que, desde o início das análises, o estresse hídrico já estava instalado, devido às condições de cultivo em sequeiro das plantas avaliadas, e que foi evoluindo durante o período de coleta de dados, ocorrendo também o aumento da temperatura mínima e máxima, o que pode explicar a não diminuição da temperatura do ar o suficiente, durante a noite, para formação do orvalho nas folhas, como foi observado.

Com isso, podemos considerar a terceira avaliação (21 a 27 de abril de 2016) como a época com mais estressante as plantas dentre as épocas de realização do experimento, já que as plantas já estavam expostas a um longo período de seca, e altas temperaturas, com algumas plantas apresentando aspecto crítico de sobrevivência (SOBREIRA, 2017).

### **5.2. Análise das variáveis morfofisiológicas**

#### **5.2.1. Clones progenitores**

### 5.2.1.1 Características morfológicas

Dentre as características morfológicas analisadas observou-se que não houve interação entre clones e épocas para as variáveis: CF, LF, AFU, AFT, RAF, CRP e CE, no entanto, observaram-se diferenças intergenotípicas, e entre as épocas de avaliação em sua maioria (Tabela 1).

**Tabela 1** Médias do comprimento foliar (CF) (cm), largura foliar (LF) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm<sup>2</sup>), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>), razão da área foliar (RAF) (cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>), comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), densidade do lenho caulinar (DLC) (g cm<sup>3</sup>) de acordo com os clones progenitores e com as épocas de avaliação

Clones	CF**	LF**	AFU**	AFT*	RAF <sup>ns</sup>	CRP*	CE*	DLC <sup>ns</sup>
04	12.212a	5.300a	45.694a	660.758a	59.107a	50.393a	4.213a	0.717a
48	11.014b	4.515b	35.103b	636.101a	63.724a	44.750b	3.816b	0.755a
76	10.310b	4.903b	35.765b	544.443b	59.989a	44.847b	4.322a	0.753a
Época	CF**	LF**	AFU**	AFT**	RAF**	CRP**	CE**	DLC
jul/2015	12.252a	5.491a	47.391a	833.160a	48.511b	49.333b	3.230c	-
dez/2015	11.605a	4.841b	39.580b	595.768b	69.791a	57.740a	5.306a	-
abr/2016	9.679b	4.387c	29.591c	412.375c	64.520a	32.917c	3.816b	-
CV (%)	10.71	11.29	20.42	29.83	17.26	13.96	12.8	5.57

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. ns: diferença estatística não significativa ( $p>0,05$ ), \*, \*\*= diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p<0,05$  e  $0,01$ ).

As médias de CF, LF, AFT e AFU do clone 04 diferiram dos demais, o que demonstra que esse clone mantém maior superfície foliar, o que contribui para manutenção da capacidade de transpiração, e, conseqüente, produção de fotoassimilados e matéria seca, o que também pode ter influenciado esse clone a exibir o maior CRP. No entanto, essas características podem ser prejudiciais em períodos prolongados de seca com alta radiação solar e altas temperaturas, pois além exaurirem a água disponível do solo mais rapidamente, principalmente quando se tem um sistema radicular superficial, apresentam maior susceptibilidade à danos foto-oxidativos, pela maior superfície de captação de energia, o que resultaria na maior produção de EROs.

A menor área foliar em plantas sob estresse hídrico, como observado nesse estudo para o clone 76, funciona como uma estratégia de redução da perda de água, pela redução da transpiração, sendo importante para manutenção do potencial hídrico dos tecidos. A manutenção do potencial hídrico, conseguido através da redução da área foliar ou por meio do fechamento estomático efetivo, são exemplos de características apresentadas por plantas mais tolerantes à seca, que conseguem manter a atividade

fisiológica por longos períodos sob estresse hídrico, e, portanto, produzir sem grandes perdas sobre a produção (CHESEREK; GICHIMU, 2012).

A abscisão foliar é um mecanismo que limita a transpiração, embora clones de café Conilon sensíveis à seca, que perdem quantidades consideráveis de sua folhagem, essa estratégia não é suficientemente eficiente, pois o potencial hídrico no restante das folhas é gravemente prejudicado. Segundo observações de campo, cultivares de café tolerantes atrasam ou reduzem a queda de folhas induzidas pela seca, o que economiza recursos que seriam desviados para a restauração da área foliar durante a estação chuvosa. Porém, isso não é necessariamente positivo, caso  $g_s$  diminuir consideravelmente, provocando uma forte limitação para as trocas gasosas, o que favoreceria a sobrevivência em detrimento da produção (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

Quando consideramos o parâmetro CE, vemos que os clones 04 e 76 apresentam valores superiores a aquele apresentado pelo clone 48. Maiores valores de CE representam maior crescimento entre as gemas reprodutivas, local de onde surgem os frutos, provocando assim, menor produtividade.

As variáveis RAF e DLC não foram estatisticamente significativas, não diferindo assim entre os clones estudados.

Em relação às épocas, a maioria dos parâmetros apresentaram redução das médias ao longo do tempo, com exceção de RAF e CE. RAF é uma variável que depende tanto da área foliar, quanto da biomassa total. O estresse hídrico diminui ambos, portanto, o aumento apresentado pelo RAF sugere maior queda da biomassa total do que a redução da área foliar, visto que RAF é entendido como a razão entre a área foliar e a biomassa produzida/investida. O aumento de CE também concorda com isso, pois indica menor produtividade, ou seja, menor produção de biomassa.

Somente foi verificado a existência de interação para os parâmetros EF e AFE (Tabela 2), com diminuição de EF e aumento de AFE no decorrer das épocas de avaliação, o que concorda com Lima et al. (2006), que observou que esses dois parâmetros apresentam uma tendência de se correlacionarem negativamente, ou seja, o aumento em um desses seria acompanhado pela diminuição do outro.

**Tabela 2** Médias da espessura foliar (EF) ( $\mu\text{m}$ ) e área foliar específica (AFE) ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ) dos clones progenitores, segundo as épocas de avaliação

<b>Espessura foliar* (CV 7.56%)</b>			
<b>Clones</b>	<b>jul/2015**</b>	<b>dez/2015**</b>	<b>abr/2016*</b>
04**	285.2aA	252.8aB	210.4aC
48**	239.6bA	255.2aA	181.6bB
76**	255.2bA	220.8bB	183.2bC
<b>Área foliar específica* (CV 7.18%)</b>			
<b>Clones</b>	<b>jul/2015<sup>ns</sup></b>	<b>dez/2015*</b>	<b>abr/2016<sup>ns</sup></b>
04**	97.996aC	140.4114abA	111.975aB
48**	106.549aC	132.1958bA	119.435aB
76**	99.119aC	149.2286aA	119.545aB

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. ns: diferença estatística não significativa ( $p > 0,05$ ), \*, \*\* = diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ).

O clone 04 apresentou as maiores médias de EF na avaliação de julho/2015 e abril/2016, e em dezembro/2015, não diferindo do clone 48. O clone 48 e 76 apresentaram as menores médias, em julho/2015 e abril/2016, e em dezembro/2015, o clone 76 ficou isolado, com a menor média de EF. Quanto a AFE, as médias dos clones progenitores não diferiram estatisticamente nos meses de julho/2015 e abril/2016. Em dezembro/2015, o clone 76 apresentou a maior média, o clone 48 a menor média, e o clone 04 apresentou média intermediária, não se diferenciando estatisticamente dos clones 48 e 76. Vale observar, que apesar de AFE não ter significância nos meses de julho/2015 e abril/2016, a relação inversa entre esse parâmetro e EF ainda é presente.

A AFE é um parâmetro morfológico de crescimento reconhecido pela sua importância como indicador da produtividade da planta, estando inversamente relacionado com a EF (COSTA et al., 2006). Além disso, folhas mais finas, e, conseqüentemente, com maior AFE, fazem melhor uso do N disponível, apesar de apresentar menor teor de clorofila e menores teores de N e fósforo por unidade de área (POORTER; EVANS, 1998; REICH et al., 1998; MARENCO et al., 2009)

Folhas com maior espessura, e menor AFE, apresentam maior longevidade foliar, por alocarem mais em massa por unidade de área na construção foliar, afim de aumentar a resistência das folhas às condições de estresse, provocadas por exemplo devido às temperaturas elevadas e/ou seca (ARAÚJO; HARIDASAN, 2007), o que pode ser indicativo de um maior impacto

do estresse sob a planta, já que isso se caracteriza como uma estratégia de sobrevivência. Além disso, segundo Costa et al. (2006) uma maior EF é relacionado ao menor crescimento e produtividade, reflexo de uma menor AFE, e portando, do menor ganho de carbono por unidade da massa foliar, além do maior emprego de fotoassimilados na construção foliar, o que pode está desviando recursos que poderiam ser investidos na produção.

Com isso, os dados sugerem, dentre os clones progenitores avaliados, o clone 04, como observado pela maior maior CF, LF, AFU e AFT, e conseqüente, maior superfície transpirante, tende a apresentar estratégias não eficientes para longos períodos de seca, apresentando possivelmente uma menor conservação de água nos tecidos, o que reduz a atividade fisiológica da planta. Apesar de tentar compensar isso com uma maior EF, o que influencia a queda de AFE e aumenta a resistência e a longevidade das folhas ao estresse, isso reduz a produtividade, sendo isso indicado, principalmente, pela média superior de CE. Os clones 76 e 48 apresentam alterações morfofisiológicas similares para a maioria dos parâmetros analisados, com estratégias que privilegiam a manutenção do potencial hídrico dos tecidos, como é indicado pelas menores médias de CF, LF e AFU. Também apresentam menor EF, o que contribui para a menor perda na produtividade, além de indicar melhor eficiência na utilização do N disponível. Apesar da semelhança entre esses clones, o clone 48 expõe menor valor médio para CE, o que sugere menor perda da produtividade em relação ao clone 76. No entanto, o clone 76 também apresenta menor valor de EF e maior de AFE, o que influencia positivamente no ganho de carbono, além de indicar maior eficiência no uso de nutrientes, características essenciais sob condições de limitantes.

#### *5.2.1.2 Teor de compostos nos tecidos*

Não foi verificado interação entre os clones progenitores e as épocas de avaliação para Nt, FST e PRO, entretanto, Nt apresentou diferença significativa entre as épocas, e FST e PRO apresentaram diferenças entre os clones e entre as épocas.  $\text{NO}_3^-$  não apresentou nenhuma diferença significativa pelo teste F (Tabela 3).

**Tabela 3** Médias do conteúdo de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) ( $\% \text{ g}^{-1}$ ), nitrogênio total (Nt) ( $\% \text{ g}^{-1}$ ), fenol total (FST) ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e aminoácido prolina (PRO) ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) de acordo com os clones progenitores e com as épocas de avaliação

<b>Clones</b>	<b><math>\text{NO}_3^-</math><sup>ns</sup></b>	<b>Nt<sup>ns</sup></b>	<b>FST*</b>	<b>PRO*</b>
04	0.284a	2.890a	2.460b	3.578b
48	0.308a	2.815a	2.584a	4.256ab
76	0.279a	3.030a	2.498ab	4.763a
<b>Época</b>	<b><math>\text{NO}_3^-</math><sup>ns</sup></b>	<b>Nt*</b>	<b>FST**</b>	<b>PRO**</b>
jul/2015	0.277a	2.768b	2.336b	4.670a
dez/2015	0.258a	3.193a	2.352b	4.696a
abr/2016	0.337a	2.774b	2.853a	3.232b
CV (%)	34.92	15.12	4.77%	25.61%

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. ns: diferença estatística não significativa ( $p > 0,05$ ), \*, \*\*= diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ).

A menor média de Nt foi exibida em julho/2015, porém não se diferenciou da média exibida em abril/2016, e em dezembro/2015 foi observado a maior média de Nt. Sabe-se que o estresse hídrico reduz a absorção de N, principalmente devido a menor absorção de água pelas raízes, meio pelo qual ocorre a absorção da maioria dos elementos minerais, sendo o N um dos mais afetados (DAMATTA et al., 2002). O comportamento dos dados, quanto a Nt, parece discordar disso, no entanto, devemos considerar que as plantas quando submetidas ao déficit hídrico, induz o crescimento radicular, afim de alcançar a água ainda disponível em maiores profundidades do solo. Isso pode explicar o aumento na média de Nt, comparando abril e dezembro de 2015. Após a continuidade do estresse hídrico nos meses seguintes, pode ter ocorrido a interrupção do crescimento radicular pela falta de recursos e de água, o que pode ter ocasionado a queda do teor de Nt novamente, como observado em abril de 2016. Também vale atentar que, apesar da diferença entre as médias do teor de Nt e  $\text{NO}_3^-$  entre os clones não serem significativas, o clone 76 têm vantagem principalmente em relação ao clone 04, por apresentar menor espessamento foliar, e, portanto, maior eficiência no uso do N disponível, como discutido anteriormente.

O clone 48 apresentou a maior média de FST, enquanto o clone 04 exibiu a menor média. O valor médio de FST do clone 76 foi intermediário aos demais, não se diferenciando estatisticamente pelo teste de Duncan. Houve um aumento gradual em FST no decorrer das épocas de avaliação, com julho e dezembro de 2015 com as menores médias, e abril/2016 apresentando o maior valor médio de FST.

A produção de compostos fenólicos é uma das estratégias utilizadas por plantas para evitar/reduzir o efeito do dano oxidativo provocado pela seca, através da dissipação do excesso de energia e da capacidade de eliminação de EROs, sendo a variação no conteúdo de FST proporcional à capacidade antioxidante, e inversamente relacionado à peroxidação lipídica (VARELA et al., 2016). Assim, trata-se de um importante mecanismo de proteção da estrutura celular dos danos causados pelo estresse oxidativo durante longos períodos de seca (SURWESWARAN et al., 2007; KRISHNAIAH et al., 2011).

Ramalho et al. (2018), observou que clones de cafeeiro mais tolerantes à seca, apresentam uma capacidade antioxidante melhorada, com ampla expressão de moléculas antioxidantes, enzimáticas e não enzimáticas, o que refletiu no menor impacto das condições de estresse hídrico e recuperação fotossintética mais rápida e completa.

Com relação ao nível de PRO, o clone 76 apresentou a maior média, e o clone 04, a menor média. O clone 48 apresentou média intermediária, não diferindo estatisticamente dos clones 76 e 04. Observou-se maior acúmulo de PRO, nos meses de dezembro e julho de 2015, respectivamente, não se diferindo estatisticamente, e em abril/2016 foi exibido o menor valor médio desse parâmetro.

Em determinadas espécies, o acúmulo de solutos osmoticamente ativos não-tóxicos na célula, como o aminoácido prolina, é considerado como uma estratégia adaptativa, em resposta à seca, associada ao ajuste osmótico, tendo função de osmorregulação, necessária para manutenção da turgescência celular e do gradiente de absorção de água, além de outras funções como proteção da integridade e da estrutura de enzimas e membranas, manutenção da conformação proteica em baixos potenciais hídricos, eliminação de EROs e estabilização de estruturas e macromoléculas celulares como componentes de membrana. Devido ao alto gasto energético para síntese e acúmulo de solutos compatíveis, também se caracteriza como um mecanismo dissipador de energia, importante para reduzir possíveis danos foto-oxidativos (LISAR et al., 2012). No entanto, segundo Ronchi e DaMatta (2007), tal acúmulo não se associa satisfatoriamente com a tolerância à seca em várias cultivares de *C. arabica* e *C. canephora*. Logo, ao considerar esse parâmetro, se faz necessário a análise conjunta com outras características, como foi realizado.

Apenas foi verificado a existência de interação significativa entre os clones progenitores e as épocas de avaliação para CLO e CAR (Tabela 4).

**Tabela 4** Médias do teor de clorofila total (CLO) ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e carotenoides (CAR) ( $\text{g kg}^{-1}$ ) dos clones progenitores, segundo as épocas de avaliação

<b>Clorofila total* (CV 13.21%)</b>			
<b>Clones</b>	<b>jul/2015*</b>	<b>dez/2015*</b>	<b>abr/2016**</b>
04 <sup>ns</sup>	4.491bA	3.826aA	3.882aA
48 <sup>**</sup>	4.648bA	3.120bB	2.295bC
76 <sup>**</sup>	5.471aA	4.157aB	4.019aB
<b>Carotenoides** (CV 11.78%)</b>			
<b>Clones</b>	<b>jul/2015*</b>	<b>dez/2015**</b>	<b>abr/2016**</b>
04 <sup>ns</sup>	0.769bA	0.787aA	0.769aA
48 <sup>**</sup>	0.822abA	0.653bB	0.478bC
76 <sup>ns</sup>	0.922aA	0.872aA	0.803aA

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. ns: diferença estatística não significativa ( $p > 0,05$ ), \*, \*\* = diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ).

Esses pigmentos são lipídeos fundamentais para a fotossíntese, estando relacionados à eficiência fotossintética, ao crescimento, e a adaptabilidade às diferentes condições ambientais, sendo a queda na concentração desses compostos, sob condições de estresse hídrico, bem conhecida, (LISAR et al., 2012), como observado no decorrer das avaliações.

A redução das concentrações teciduais de CLO e CAR provocada por estresse hídrico no cafeeiro, é ocasionada, principalmente, devido a perda do controle da produção de EROs nos tilacoides, levando a danos foto-oxidativos (DAMATTA; RAMALHO, 2006), principalmente, sob o cloroplasto, maior produtor e foco de danos de EROs.

Podemos observar, na tabela 04, que o clone 76 apresentou o maior valor médio para CLO e CAR em todas as épocas avaliadas, no entanto, não diferiu significativamente do clone 04 nos meses de dezembro/2015 e abril/2016. Já o clone 48 apresentou, a partir de dezembro/2015, a menor média, além de ter apresentado maior redução da concentração de CLO e CAR ao longo das épocas de avaliação.

O melhor desempenho das plantas contra o estresse hídrico está frequentemente associado a um mecanismo de proteção mais eficiente contra o estresse oxidativo, pelo controle da produção e eliminação de EROs no cloroplasto através de mecanismos de proteção metabólica (MILLER et al.,

2010), além de uma melhor eficiência de dissipação de energia (WILHELM; SELMAR, 2011).

Resultados similares foram encontrados por Lima et al. (2002), que ao avaliarem dois clones de café Conilon sob condições de estresse hídrico, observaram maior eficiência do sistema antioxidante do clone tolerante em relação ao clone susceptível à seca. Sugerindo, assim, que a tolerância à seca no café Conilon pode, ao menos parcialmente, estar correlacionada a atividade do sistema antioxidante, impulsionando a maior neutralização das EROs no clone tolerante.

Portanto, como indicado pelas concentrações teciduais de clorofilas e carotenoides mais elevadas, os clones 76 e 04 parecem exibir mecanismos mais eficientes de proteção e de redução de danos provocados pelo estresse oxidativo, se destacando o clone 76 pelo valor médio superior aos demais. Isso pode estar sendo influenciado pelo maior teor de PRO e de FST apresentado por esse clone, principalmente em relação ao clone 04, já que esses compostos estão envolvidos em mecanismos de proteção contra o estresse oxidativo, além da manutenção da turgescência celular e do gradiente de absorção de água. Além disso, o clone 76 também apresenta menor área foliar (menor CF, LF, AFU e AFT), o que reduz a captação de energia, diminuindo, portanto, o dano provocado pelo estresse oxidativo causado pela seca.

Apesar do clone 48 apresentar várias dessas características em comum com o clone 76, ele se mostra bastante sensível ao estresse oxidativo, como é indicado pela redução nos teores de CLO e CAR. Portanto, isso pode indicar que os teores de PRO e FST não sejam inteiramente relacionados à melhor eficiência de mecanismos de defesa sob estresse hídrico, podendo este estar relacionado a atividade e biossíntese de enzimas ou outros compostos antioxidantes, não avaliadas nesse experimento.

### 5.2.1.3 *Características fotossintéticas*

Na avaliação das características fotossintéticas, a interação entre os clones e épocas de avaliação não foi significativa para as variáveis  $g_s$  e  $A/g_s$  (Tabela 5), enquanto que foi observada interação significativa para  $A$  e  $ETR$  (Tabela 6).

**Tabela 5** Médias da condutância estomática ( $g_s$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e da eficiência do uso da água ( $A/g_s$ ) ( $\mu\text{mol}$ ) de acordo com os clones progenitores e com as épocas de avaliação

Clones	$g_s^{\text{ns}}$	$A/g_s^*$
04	0.052a	115.785a
48	0.065a	90.267b
76	0.068a	107.860ab
Época	$g_s^{**}$	$A/g_s^{**}$
jul/2015	0.099a	103.698b
dez/2015	0.069b	80.460c
abr/2016	0.017c	129.754a
CV (%)	50.29	23.94

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. <sup>ns</sup>: diferença estatística não significativa ( $p > 0,05$ ), \*, \*\*= diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ).

**Tabela 6** Médias da fotossíntese (A) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e da taxa de transporte de elétrons (ETR) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) dos clones progenitores, segundo as épocas de avaliação

<b>Fotossíntese* (CV 31.62%)</b>			
Clones	jul/2015**	dez/2015 <sup>ns</sup>	abr/2016 <sup>ns</sup>
04**	9.5764aA	4.6756aB	2.1552aB
48**	6.3922bA	5.4716aA	2.0478aB
76**	11.6036aA	6.3198aB	2.2788aC
<b>Taxa de transporte de elétrons** (CV 18.37%)</b>			
Clones	jul/2015**	dez/2015 <sup>ns</sup>	abr/2016 <sup>ns</sup>
04**	87.543aA	94.368aA	34.992aB
48**	45.373bB	80.732aA	22.195aC
76**	100.023aA	80.120aB	34.965aC

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente, pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. <sup>ns</sup>: diferença estatística não significativa ( $p > 0,05$ ), \*, \*\*= diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ).

Não houve diferença significativa entre os clones para  $g_s$ , no entanto, verifica-se que o clone 76 apresentou um maior valor para  $g_s$ , que pode ter influenciado a maior A apresentada por esse clone. Ao observar as épocas, houve uma redução contínua de 82.83% em  $g_s$ , considerando todo o período de avaliação, com julho/2015 apresentando a maior  $g_s$ , e abril/2016 a menor. Além de  $g_s$ , as características A e ETR também apresentaram queda de 76.50% e 60.44%, respectivamente, o que demonstra que o estresse hídrico foi severo.

A queda em A é um efeito comum em plantas sob condições de estresse hídrico, gerado, principalmente, pela limitação estomática (redução de  $g_s$ ), e em seguida, pelo comprometimento metabólico. O fechamento estomático não apenas reduz a transpiração, afim de perder menos água, mas

também reduz a absorção de CO<sub>2</sub>, o que diminui a fotossíntese (LISAR et al., 2012).

O estresse hídrico também provoca a queda na ETR, devido a uma limitação sobre o transporte fotossintético de elétrons, principalmente sob o ciclo não-cíclico, resultando na diminuição da síntese de NADPH e ATP (EDZIRI et al., 2017). Além disso, a queda na atividade da cadeia transportadora de elétrons, sobrecarregam a ação de eliminação das EROs pelo sistema de defesa, resultando em danos oxidativos (CARVALHO, 2008; KIM & KWAK, 2010). Esses fatores, causados pelo estresse hídrico, afetam simultaneamente a intensidade da fotoassimilação e a estabilidade do aparato fotossintético (LISAR et al., 2012).

De modo contrário a essas variáveis, considerando a primeira e última avaliação, A/g<sub>s</sub> aumentou (Tabela 4). Segundo Blum (2009), o aumento em A/g<sub>s</sub> implica na existência de características que reduzem a transpiração e o uso de água sob condições de estresse hídrico, levando, na sua maioria, redução da produtividade e da tolerância à seca.

Portanto, plantas que priorizam a produção sob condições de estresse hídrico, são caracterizadas por maximizar a captação da água do solo, apresentando para isso uma maior condutância estomática ao longo do tempo, permitindo maior assimilação de CO<sub>2</sub> e, portanto, um maior uso efetivo da água disponível no solo para transpiração, o que frequentemente gera menor A/g<sub>s</sub>. Isso corrobora com Pinheiro et al. (2005) e Sobreira (2017) que identificaram genótipos de café Conilon com menor A/g<sub>s</sub> que apresentavam maior tolerância ao estresse hídrico.

O maior uso efetivo da água pode ser influenciado pelo ajuste osmótico, visto que se trata de uma resposta adaptativa à nível celular, que tem como principais funções a manutenção da turgescência foliar e melhoria da capacidade de absorção radicular de água (BLUM, 2009). Assim, o maior acúmulo de prolina (PRO), soluto osmoticamente ativo não-tóxico, associado ao ajuste osmótico, observado nos clones 48 e 76, pode ter influenciado esses clones a exibirem menores valores para A/g<sub>s</sub>.

As variáveis A e ETR apresentaram diferenças entre os clones, de acordo com a época de avaliação. Em julho de 2015, o clone 76 apresentou a maior média para A e para ETR, embora, não tenha se diferenciado

significativamente do clone 04. Já o clone 48 apresentou o menor valor médio de A e ETR. Em dezembro/2015 e abril/2016 não foram observadas diferenças significativas entre os clones, porém, vale observar que o clone 76 continuou apresentando valores mais elevados de A.

A menor queda no valor de ETR observada nos clones 04 e 76 reforçam o indicativo de uma maior eficiência de proteção e de redução dos possíveis danos provocados pelo estresse oxidativo, apontado, anteriormente, pelas concentrações teciduais de clorofilas e carotenoides mais elevadas.

Assim, contrastando os clones progenitores quanto as características apresentadas sob condições de estresse hídrico, o clone 76 apresenta melhor desempenho morfofisiológico sob os demais, em condições de estresse hídrico, concordando, assim, com as observações de campo. Com relação ao clone 48, se deve, principalmente, a ETR e a concentração de CLO e CAR superiores no clone 76, indicando uma maior eficiência contra o estresse oxidativo ocasionado pela seca. Em relação ao clone 04, o clone 76 apresenta: menor superfície foliar, o que reduz a perda de água e o estresse oxidativo; menor espessamento foliar, o que indica maior eficiência no uso de nutrientes e maior produtividade; menor  $A/g_s$ , que indica maior captação de água do solo, maior condutância estomática ao longo do tempo, possibilitando maior A.

## 5.2.2. Populações 76x04 e 76x48

### 5.2.2.1. *Características morfológicas*

Não foi verificada interação entre as populações e as épocas de avaliação para as variáveis CF, LF, AFU e AFT. No entanto, essas variáveis apresentaram diferença entre as populações, e entre as épocas de avaliação. A variável DLC, obtida somente em julho/2015, não diferiu entre as populações (Tabela 7).

Observa-se que a pop. 76x04 exibiu as maiores médias para todas essas variáveis, o que indica que essa população apresenta uma maior superfície foliar em relação a pop. 76x48.

**Tabela 7** Médias do comprimento foliar (CF) (cm), largura foliar (LF) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm<sup>2</sup>), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>) e densidade do lenho caulinar (DLC) (g cm<sup>3</sup>) de acordo com a população (pop.) e com as épocas de avaliação

Pop	CF**	LF*	AFU**	AFT*	DLC <sup>ns</sup>
76x04	10.9399a	5.0328a	39.1628a	604.2803a	0.7155a
76x48	10.5233b	4.6013b	34.2673b	546.5109b	0.7018a
Época	CF**	LF**	AFU**	AFT**	DLC
jul/2015	11.7355a	5.2545a	43.2390a	689.9286a	-
dez/2015	10.8496b	4.6793b	36.0135b	545.7508b	-
abr/2016	9.2954c	4.1919c	27.1999c	446.9298c	-
CV (%)	11.68	38.36	42.81	43.19	10.2

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. ns: diferença estatística não significativa ( $p > 0,05$ ), \*, \*\*= diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ).

A maior superfície foliar pode ser prejudicial caso não se tenha um fechamento estomático efetivo, que por um lado, pode provocar uma forte limitação as trocas gasosas, afim de reduzir a perda de água. Por outro lado, a maior superfície foliar, pode exaurir rapidamente a água disponível do solo pela maior transpiração. No entanto, se as limitações gasosas não forem muito acentuadas, de forma que a capacidade de transpiração não seja severamente afetada, a produção de fotoassimilados e de matéria seca sofreria menor queda, além de sofrer menor dano foto-oxidativo (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

Considerando as épocas, foi em julho de 2015 que se observou os maiores valores, e em abril os menores valores para CF, LF, AFU e AFT. Considerando todo o período de avaliação, essas variáveis apresentaram queda de 20.79%, 20.22%, 37.09% e 35.22%, respectivamente.

A seca provoca a redução da área foliar e altera a distribuição de fotoassimilados entre órgãos, devido os efeitos negativos sobre o metabolismo e absorção e transporte de nutrientes, o que leva a sérios danos sob a produção (LISAR et al., 2012).

A redução da área foliar, em plantas de café, é ocasionada pela redução do tamanho e da produção de folhas, e de taxas mais elevadas de senescência foliar (MEINZER et al., 1992; DAMATTA et al., 2003). Assim, acredita-se que a pop. 76x48 seja mais afetada pela seca, devido exibir as menores médias relacionadas a sua área foliar.

Verificou-se a existência de interação entre as populações e as épocas de avaliação para as variáveis EF, AFE, RAF, CRP e CE. Houve o decréscimo de EF e CRP, e aumento de AFE, RAF e CE (Tabela 8).

**Tabela 8** Médias da espessura foliar (EF) ( $\mu\text{m}$ ) e área foliar específica (AFE) ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ), razão da área foliar (RAF) ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ), comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) (cm) e comprimento entrenódio (CE) (cm) das populações (pop.) 76x04 e 76x48, segundo as épocas de avaliação

<b>Espessura foliar** (CV 8.22 %)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015<sup>ns</sup></b>	<b>dez/2015**</b>	<b>abr/2016<sup>ns</sup></b>
76x04**	270.5581aA	217.7209bB	198.9767aC
76x48**	266.8899aA	238.8723aB	205.3231aC
<b>Área foliar específica** (CV 12.35 %)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015<sup>ns</sup></b>	<b>dez/2015*</b>	<b>abr/2016*</b>
76x04**	101.9012aC	137.7357aA	111.4997bB
76x48**	105.4863aC	132.1487bA	117.0868aB
<b>Razão da área foliar** (CV 21.29 %)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015*</b>	<b>dez/2015<sup>ns</sup></b>	<b>abr/2016<sup>ns</sup></b>
76x04**	48.9095bB	65.4634aA	69.1279aA
76x48**	56.9677aB	69.8348aA	66.5912aA
<b>Comprimento do ramo plagiotrópico** (CV 21.04 %)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015**</b>	<b>dez/2015**</b>	<b>abr/2016<sup>ns</sup></b>
76x04**	48.5105aB	54.9384aA	34.80233aC
76x48**	42.3123bB	45.2861bA	32.74692aC
<b>Comprimento Entrenódio** (CV 17.38 %)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015**</b>	<b>dez/2015*</b>	<b>abr/2016**</b>
76x04**	3.3580aC	5.2591aA	3.8389aB
76x48**	3.1021bC	4.2796bA	3.4251bB

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. <sup>ns</sup>: diferença estatística não significativa ( $p > 0,05$ ), \*, \*\* = diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ).

A EF somente diferiu entre as populações em dezembro de 2015, com a pop. 76x04 apresentando valor médio inferior. Como esperado, também foi verificada a diferença entre as médias de AFE nesse período, com a pop. 76x04 apresentando média superior. Assim, a pop. 76x04 apresenta tanto uma maior superfície foliar (CF, LF, AFU e AFT) como uma maior AFE, sendo estas características indicativas de um possível menor impacto do estresse sob a manutenção da área foliar e do potencial hídrico dos tecidos foliares, no início das avaliações para essa população. Além disso, a menor EF indica melhor uso do N disponível (POORTER; EVANS, 1998).

No entanto, isso muda em abril de 2016, com a pop. 76x48 apresentando maior AFE e a pop. 76x04 menor valor médio de AFE. Isso pode estar indicando que a pop. 76x04 passou a alocar mais massa por unidade de área na construção foliar, em comparação com a pop. 76x48, afim de aumentar

a longevidade foliar, o que pode ter contribuído para a redução da abscisão foliar, economizando, assim, os recursos que poderiam ser direcionados para a restauração da área foliar após o longo período de seca.

A RAF diferiu entre as populações somente em julho de 2015, com a pop. 76x04 apresentando menor média, o que sugere menor perda na produção da biomassa para essa população. O aumento observado para esse parâmetro foi de 28.18%, demonstrando que houve uma maior redução da produção de biomassa do que em área foliar.

CRP diferiu significativamente entre as populações em julho e dezembro de 2015, com a pop. 76x04 apresentando maiores médias. A pop. 76x04 também exibiu as maiores médias para CE nas três épocas de avaliação. Uma média superior de CE na pop. 76x04 representa maior desenvolvimento entre as gemas reprodutivas dos ramos, o que pode provocar menor produtividade devido o distanciamento do local de onde surgem os frutos. No entanto, a pop. 76x04 pode ter balanceado o maior CE com o maior CRP, diminuindo assim a possível perda da produtividade pelo espaçamento das gemas reprodutivas com o maior comprimento dos ramos.

#### 5.2.2.2. Teor de compostos nos tecidos

As variáveis CLO, CAR,  $\text{NO}_3^-$ , FST não apresentaram interação entre populações e épocas, embora para CLO e CAR observaram-se diferenças entre as populações, com a pop. 76x04 exibindo médias superiores, e entre as épocas de avaliação.  $\text{NO}_3^-$  e FST não diferiram entre as populações, porém observou-se diferenças entre as épocas, com o teor  $\text{NO}_3^-$  diminuindo e FST aumentando ao longo das avaliações (Tabela 9).

**Tabela 9** Médias do teor de clorofila total (CLO) ( $\text{g kg}^{-1}$ ), carotenoides (CAR) ( $\text{g kg}^{-1}$ ), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) ( $\% \text{ g}^{-1}$ ) e fenol total (FST) ( $\text{g kg}^{-1}$ ) de acordo com a população (pop.) e com as épocas de avaliação

Pop	CLO**	CAR**	$\text{NO}_3^-$ <sup>ns</sup>	FST <sup>ns</sup>
76 x 04	4.1848a	0.7638a	0.2992a	2.5370a
76 x 48	3.6858b	0.6912b	0.2976a	2.5636a
Época	CLO**	CAR**	$\text{NO}_3^-$ **	FST**
jul/2015	3.9244a	0.6683b	0.3596a	2.3095c
dez/2015	3.8581a	0.7849a	0.2199c	2.4703b
abr/2016	3.6468b	0.6746b	0.3145b	2.8913a
CV (%)	19.91	20.77	34.14	7.14

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. ns: diferença estatística não significativa ( $p>0,05$ ), \*, \*\*= diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p<0,05$  e  $0,01$ ).

Os maiores teores de CLO e CAR apresentados pela pop. 76x04 reforçam o melhor desempenho sob condições de seca dessa população, já que esses pigmentos são diretamente relacionados a eficiência fotossintética e, conseqüentemente, a produção de biomassa.

Também se sugere que a pop. 76x04 tenha um sistema antioxidante mais eficiente do que a pop. 76x48 uma vez que apresentou maiores teores para CLO e CAR, e sob condições de estresse hídrico ocorre a redução de ambos, sendo ocasionado principalmente devido aumento da produção e dos danos gerados por EROs.

Houve interação significativa para as variáveis Nt e PRO, entretanto, observou-se diferença somente em dezembro entre as populações para Nt, onde a pop. 76x48 apresentou maior média, e para PRO em julho, com a pop. 76x04 apresentando maior valor médio (Tabela 10).

**Tabela 10** Médias do conteúdo de nitrogênio total (Nt) (% g<sup>-1</sup>) e aminoácido prolina (PRO) ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) das populações (pop.) 76x04 e 76x48, segundo as épocas de avaliação

<b>Nitrogênio total* (CV 11.6 %)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015<sup>ns</sup></b>	<b>dez/2015*</b>	<b>abr/2016<sup>ns</sup></b>
76x04**	2.9065aB	3.3495bA	2.7403aC
76x48**	2.8336aB	3.4926aA	2.6947aC
<b>Prolina** (CV 33.57 %)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015**</b>	<b>dez/2015<sup>ns</sup></b>	<b>abr/2016<sup>ns</sup></b>
76x04**	6.1840aB	8.1601aA	4.2694aC
76x48**	5.0896bB	8.2787aA	4.6386aB

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente, pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. ns: diferença estatística não significativa ( $p>0,05$ ), \*, \*\*= diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p<0,05$  e  $0,01$ ).

O comportamento do teor de Nt foi similar ao apresentado pelos clones progenitores, ocorrendo, primeiramente, um aumento no seu teor, possivelmente devido a indução do crescimento radicular afim de atingir a água disponível do solo em maior profundidade, absorvendo, assim os nutrientes juntamente com a água. Posterior a isso, ocorreu a queda do teor de Nt, que supostamente pode ter ocorrido devido a continuidade do estresse hídrico, pela redução da água disponível para absorção, gerando a interrupção do crescimento.

Com relação ao maior teor de PRO inicialmente apresentado pela pop. 76x04, este também pode estar indicando melhor manutenção da turgescência celular e do gradiente de absorção de água nessa população, devido sua atividade osmorreguladora.

### 5.2.2.3. Características fotossintéticas

A interação entre as populações e as épocas de avaliação foi significativa para todas as variáveis fotossintéticas (Tabela 11).

**Tabela 11** Médias da fotossíntese (A) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), taxa de transporte de elétrons (ETR) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e da eficiência do uso da água ( $A/g_s$ ) ( $\mu\text{mol}$ ) das populações (pop.) 76x04 e 76x48, segundo as épocas de avaliação

<b>Fotossíntese** (CV 29.53%)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015**</b>	<b>dez/2015<sup>ns</sup></b>	<b>abr/2016**</b>
76x04**	9.1239bA	6.6256aB	5.0962aC
76x48**	10.1776aA	6.8854aB	2.8900bC
<b>Condutância estomática** (CV 53.43%)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015**</b>	<b>dez/2015<sup>ns</sup></b>	<b>abr/2016**</b>
76x04**	0.1155bA	0.0725aB	0.0647aB
76x48**	0.1389aA	0.0801aB	0.0284bC
<b>Taxa de transporte de elétrons** (CV 24.82%)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015*</b>	<b>dez/2015*</b>	<b>abr/2016**</b>
76x04**	72.1947bB	79.6872aA	39.0235aC
76x48**	78.0543aA	73.5064bB	30.2922bC
<b>Eficiência do uso da água** (CV 27.94%)</b>			
<b>Pop.</b>	<b>jul/2015<sup>ns</sup></b>	<b>dez/2015<sup>ns</sup></b>	<b>abr/2016**</b>
76x04 <sup>ns</sup>	90.2057aA	95.4771aA	84.6465bA
76x48**	82.8492aC	92.1935aB	115.0153aA

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si, significativamente, pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade. <sup>ns</sup>: diferença estatística não significativa ( $p > 0,05$ ), \*, \*\*= diferença estatística significativa a 5 e 1%, respectivamente ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ).

Em julho de 2015, as populações diferiram nas variáveis A,  $g_s$  e ETR com a pop. 76x48 apresentando valores superiores a pop. 76x04. Em dezembro de 2015, as populações diferiram somente na ETR, onde a pop. 76x04 passou a apresentar média superior. Por fim, em abril de 2016, período mais crítico de seca, a pop. 76x04 apresentou médias superiores para as variáveis A,  $g_s$  e ETR, e a menor para  $A/g_s$ .

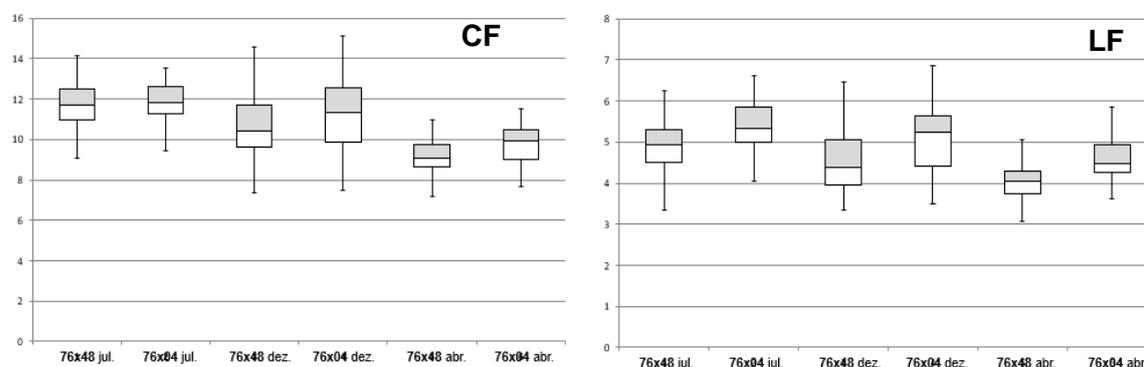
Na pop. 76x04, observou-se a redução de A (44.14%),  $g_s$  (43.98%), ETR (54.05%) e  $A/g_s$  (6.16%), enquanto na pop. 76x48, A,  $g_s$  e ETR apresentaram a queda de 71.6%, 79.55% e 61.19%, respectivamente. De

forma contrária ao observado na pop. 76x04, a média de  $A/g_s$  aumentou na pop. 76x48 ao longo das avaliações, sendo este de 38.82%.

O estresse hídrico não afeta somente as relações hídricas pela redução do teor de água, da turgescência e da água total nas plantas, também provoca o fechamento estomático, limita as trocas gasosas, reduz a transpiração, e, portanto, reduz a taxa de assimilação de carbono (A). A taxa de assimilação fotossintética nas folhas sofre queda devido à diminuição da atividade de metabólitos fotossintéticos e enzimas, baixa eficiência de carboxilação e inibição da atividade do cloroplasto em baixo potencial hídrico. A seca também perturba os tipos cíclicos e não-cíclicos de transporte de elétrons durante a fase fotoquímica da fotossíntese. Com menor taxa de transporte de elétrons (ETR), o processo de fotofosforilação é afetado negativamente e diminui a síntese de ATP, bem como a redução de  $NADP^+$ . A inibição da ATPase sob estresse hídrico também reduz os níveis de ATP nos cloroplastos. Todos esses fatores afetam conjuntamente a intensidade da fotoassimilação e a estabilidade do aparato fotossintético (LISAR et al., 2012).

Assim, como os dados das características fotossintéticas indicam, a pop. 76x04 se destaca frente a pop. 76x48 devido a apresentar médias superiores e menor redução para A,  $g_s$  e ETR sob condições de estresse hídrico, além de apresentar menor  $A/g_s$ , o que sugere maior uso efetivo da água.

Os gráficos box plot, apresentados na Figura 1, foram elaborados para cada variável analisada, afim de mostrar mais nitidamente as variações que ocorreram entre as épocas de avaliações.



**Figura 1** Gráficos box plot das variáveis CF (cm), LF (cm), AFU (cm), AFT (cm<sup>2</sup>), EF (μm), AFE (cmg<sup>-1</sup>), RAF (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), DLC (g cm<sup>3</sup>), CRP (cm), CE (cm), CLO (g kg<sup>-1</sup>), CAR (g kg<sup>-1</sup>), NO<sub>3</sub> (% g<sup>-1</sup>), Nt (% g<sup>-1</sup>), FST (g Kg<sup>-1</sup>), PRO (μmol g<sup>-1</sup>), A (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>),  $g_s$  (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), ETR (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e  $A/g_s$  (μmol) nas pop. 76x48 e 76x04. Continua

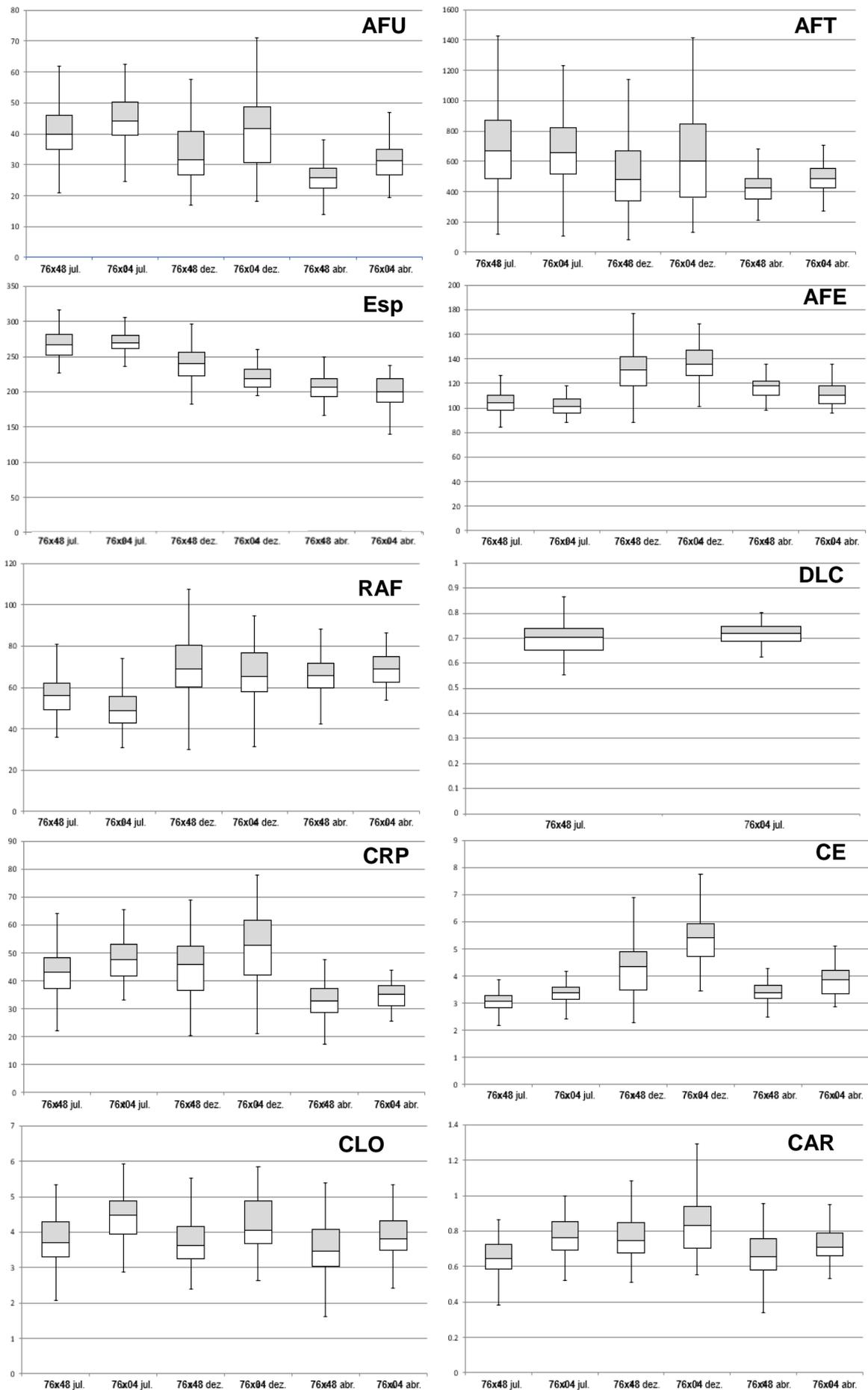
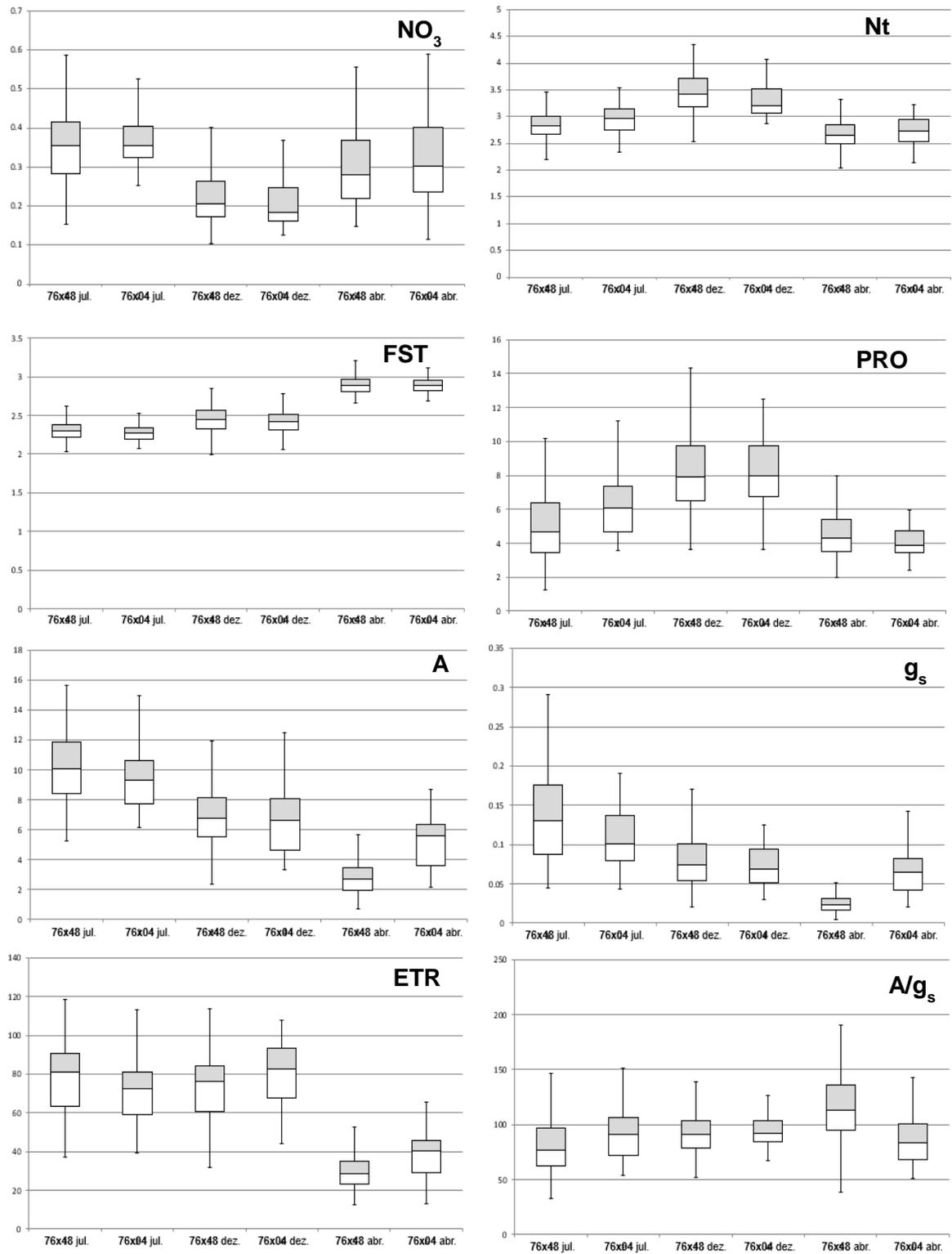


Figura 1 Continuação



**Figura 1 Conclusão**

Com a observação dos gráficos box plot, evidencia-se as diferenças existentes entre a maioria dos parâmetros avaliados, de acordo com a população e com as épocas de avaliação.

Pode-se observar que existem diferenças nas populações quanto a uma série de características avaliadas com a progressão do estresse hídrico, sendo a população 76x04, aquela que apresentou melhores características morfofisiológicas no período mais crítico de seca (abril/2016), com melhor manutenção da parte aérea (AFT), menor redução na fotossíntese (A), maior condutância estomática ( $g_s$ ), taxas mais elevadas de transporte de elétrons (ETR) e menor  $A/g_s$ , o que indica maior no uso efetivo da água. Além disso, a pop. 76x04 apresentou maiores concentrações de CLO e CAR nos tecidos foliares, indicando maior proteção contra danos foto-oxidativos.

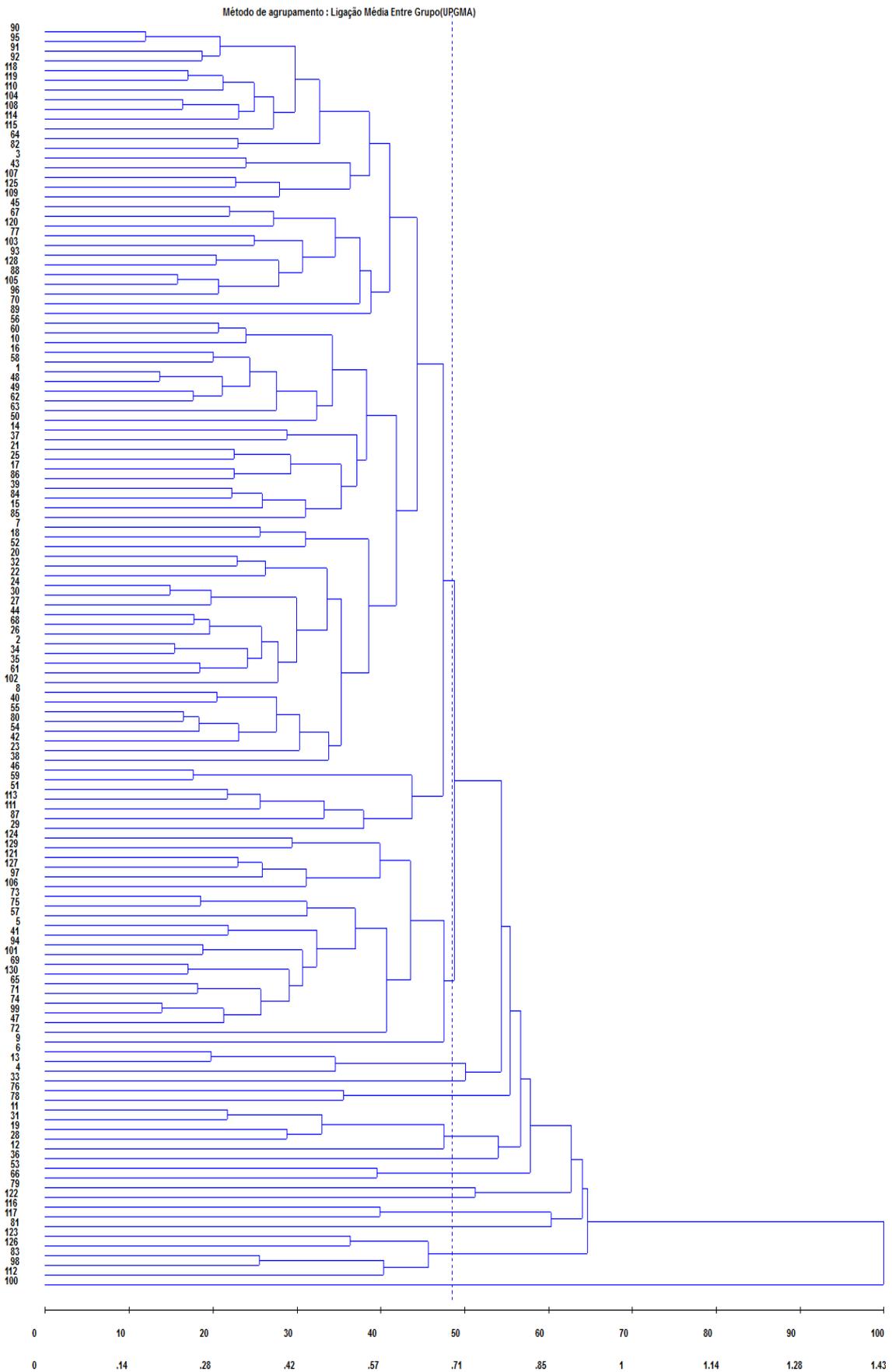
Com base nisso, a pop. 76x04 demonstra uma melhor condição de desenvolvimento e crescimento em comparação com a pop. 76x48. Isso provavelmente se deve a combinação das características dos clones progenitores dessa população, que apresentou uma maior área foliar, assim como o clone 04, e melhor manutenção do teor de pigmentos fotossintéticos, provavelmente devido a um eficiente sistema de proteção à danos oxidativos provocados pela seca, apresentado pelo clone 76.

No entanto, é importante lembrar que existe uma grande variação entre os indivíduos de cada população, sendo por isso necessário realizar o estudo separado entre os genótipos de cada população, afim de se identificar aqueles com desempenho superior em condições de estresse hídrico.

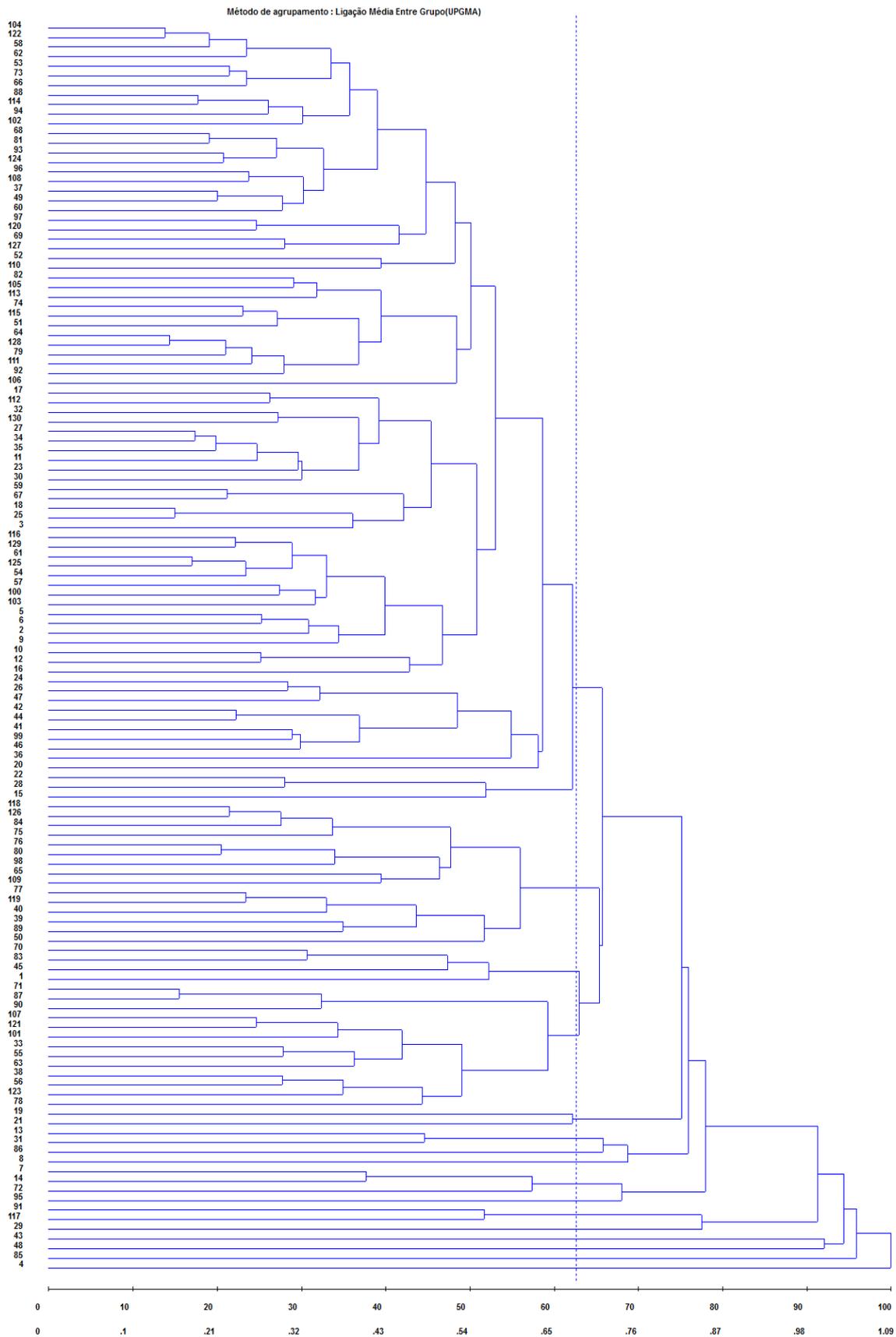
Assim, para cada população foi feita a análise de agrupamento através do método UPGMA, para reunir os genótipos mais similares em dendogramas.

### **5.3. Agrupamentos**

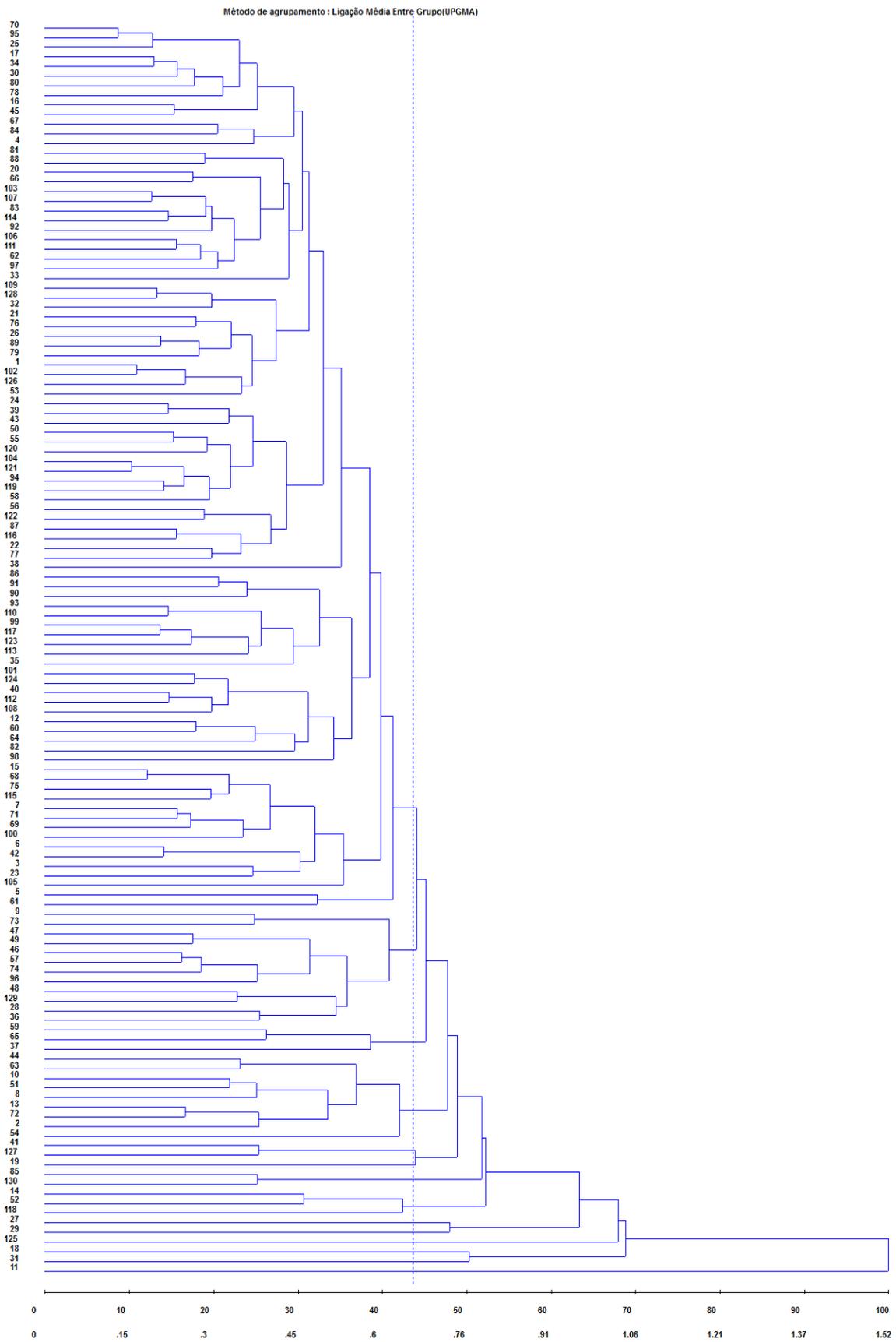
Para a pop. 76x48 constatou-se a existência de 14 grupos em julho/2015 (Figura 2) e em abril/2016 (Figura 4), e 16 grupos em dezembro/2015 (Figura 3). Para a pop. 76x04 observou-se a formação de sete grupos em julho (Figura 5) e dezembro de 2015 (Figura 6), e seis grupos em abril de 2016 (Figura 7).



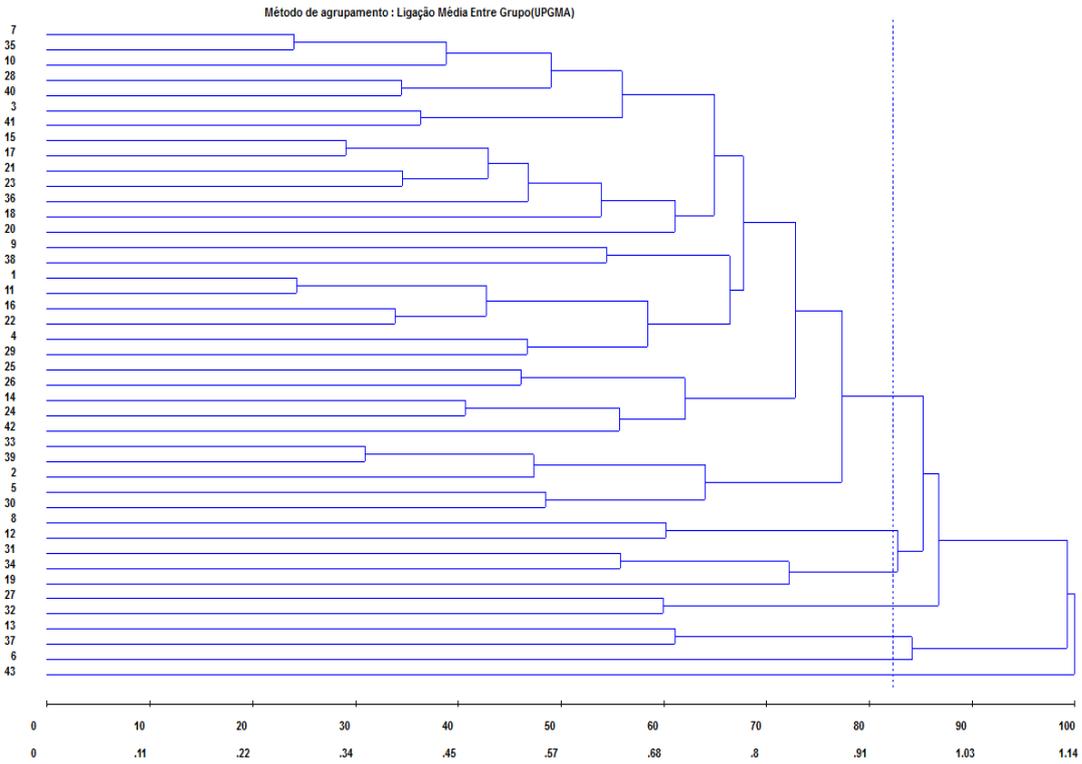
**Figura 2** Dendrograma baseado no método UPGMA dos indivíduos da população 76x48 de julho de 2015.



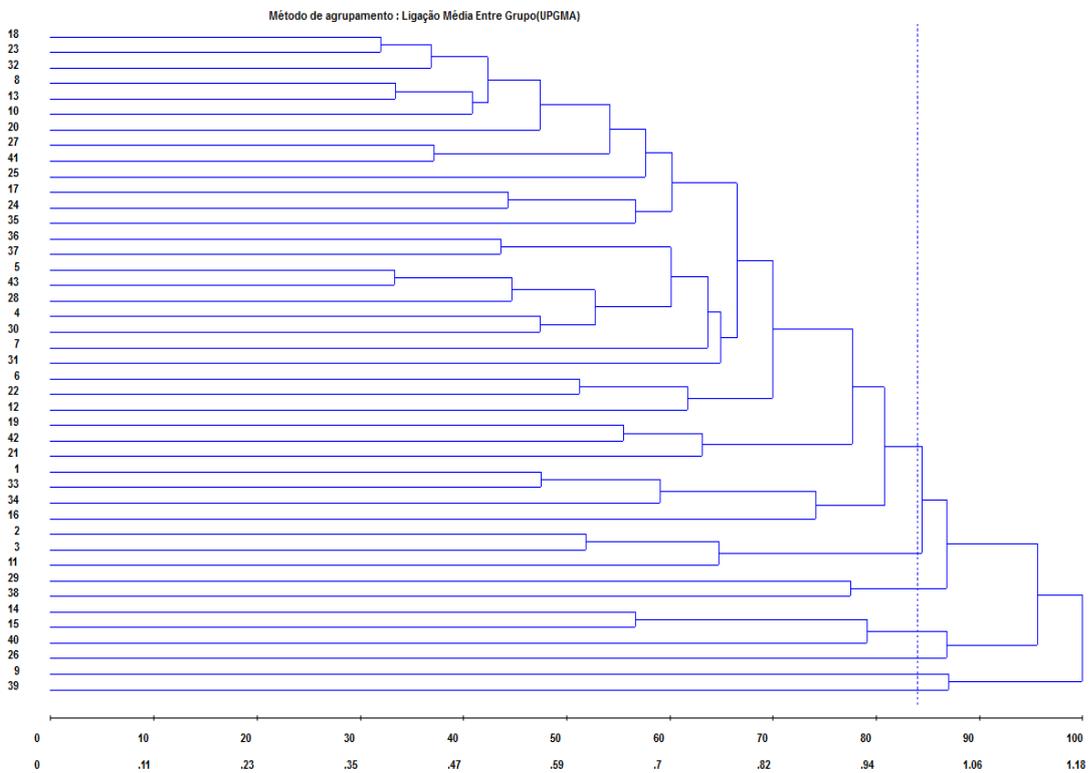
**Figura 3** Dendrograma baseado no método UPGMA dos indivíduos da população 76x48 de dezembro de 2015.



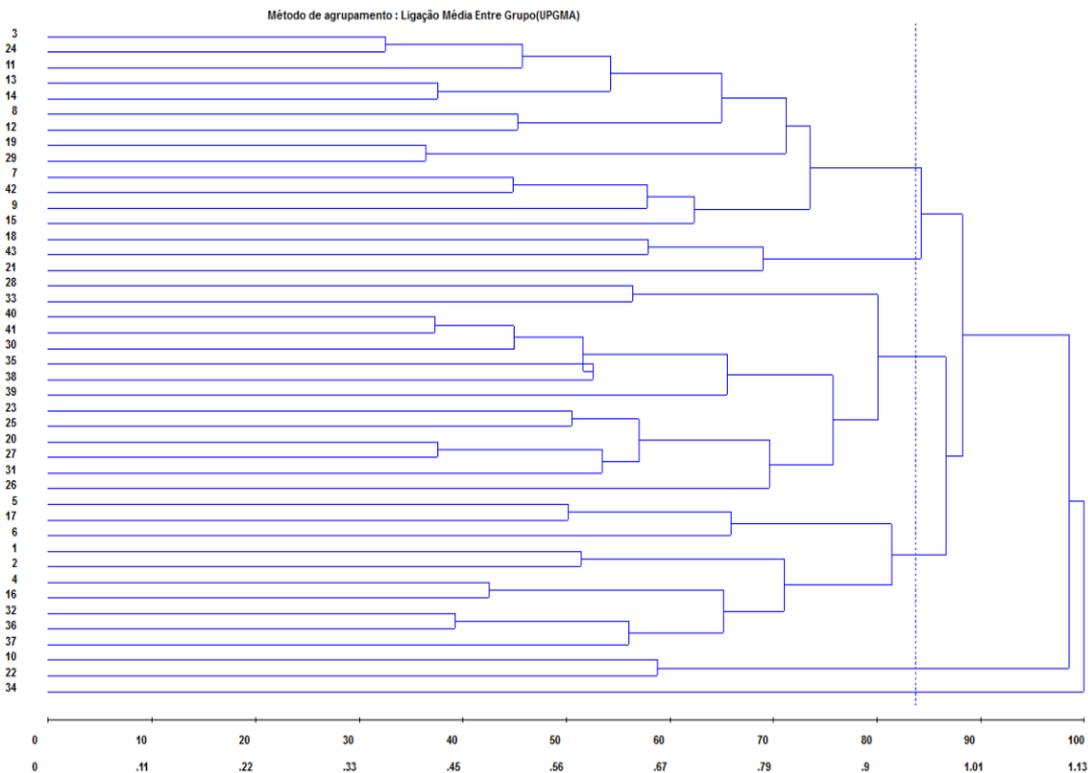
**Figura 4** Dendrograma baseado no método UPGMA dos indivíduos da população 76x48 de abril de 2016.



**Figura 5** Dendrograma baseado no método UPGMA dos indivíduos da população 76x04 de julho de 2015.



**Figura 6** Dendrograma baseado no método UPGMA dos indivíduos da população 76x04 de dezembro de 2015.



**Figura 71** Dendrograma baseado no método UPGMA dos indivíduos da população 76x04 de abril de 2016.

O conhecimento do grau de similaridade ou dissimilaridade é muito relevante, pois aponta, a partir das variáveis analisadas, aqueles genótipos mais parecidos ou distintos. Isso pode auxiliar na identificação de indivíduos superiores ou não para tolerância à seca, principalmente quando se encontram isolados (SOBREIRA, 2017). Como podemos observar nos dendogramas, a maioria dos indivíduos se concentram no grupo 1, e um menor número de genótipos ficam isolados dos demais.

A distribuição dos indivíduos de cada população em cada grupo, de acordo com a época, é exposta nas Tabelas 12 e 13.

**Tabela 127** Distribuição dos genótipos nos agrupamentos UPGMA da população 76x48 para cada época de avaliação do experimento.

Pop. 76x48	jul/15*	dez/15*	abr/16*
Grupo 1	1 2 3 7 8 10 14 15 16 17 18 20 21 22 23 24 25 26 27 29 30 32 34 35 37 38 39 40 42 43 44 45 46 48 49 50 51 52 54 55 56 58 59 60 61 62 63 64 67 68 70 77 80 82 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 95 96 102 103 104 105 107 108 109 110 111 113 114 115 118 119 120 125 128	2 3 5 6 9 10 11 12 15 16 17 18 20 22 23 24 25 26 27 28 30 32 34 35 36 37 41 42 44 46 47 49 51 52 53 54 57 58 59 60 61 62 64 66 67 68 69 73 74 79 81 82 88 92 93 94 96 97 99 100 102 103 104 105 106 108 110 111 112 113 114 115 116 120 122 124 125 127 128 129 130	1 3 4 5 6 7 12 15 16 17 20 21 22 23 24 25 26 30 32 33 34 35 38 39 40 42 43 45 50 53 55 56 58 60 61 62 64 66 67 68 69 70 71 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 119 120 121 122 123 124 126 128
Grupo 2	5 9 41 47 57 65 69 71 72 73 74 75 94 97 99 101 106 121 124 127 129 130	39 40 50 65 75 76 77 80 84 89 98 109 118 119 126	9 28 36 46 47 48 49 57 73 74 96 129
Grupo 3	4 6 13	1 45 70 83	37 59 65
Grupo 4	33	33 38 55 56 63 71 78 87 90 101 107 121 123	2 8 10 13 44 51 54 63 72
Grupo 5	76 78	19 21	41 127
Grupo 6	11 12 19 28 31	13 31	19
Grupo 7	36	86	85 130
Grupo 8	53 66	8	14 52 118
Grupo 9	79	7 14 72	27
Grupo 10	122	95	29
Grupo 11	116 117	91 117	125
Grupo 12	81	29	18
Grupo 13	83 98 112 123 126	43	31
Grupo 14	100	48	11
Grupo 15		85	
Grupo 16		4	

\*Genótipos em azul e negrito se mantiveram no mesmo grupo independente da época analisada.

**Tabela 13** Distribuição dos genótipos nos agrupamentos UPGMA da população 76x48 para cada época de avaliação do experimento.

Pop. 76x04	jul/15*	dez/15*	abr/16*
Grupo 1	1 4 5 6 7 8 10 12 13 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 27 28 30 31 32 33 34 35 36 37 41 42 43	1 2 3 4 5 7 9 10 11 14 15 16 17 18 20 21 22 23 24 25 26 28 29 30 33 35 36 38 39 40 41 42	3 7 8 9 11 12 13 14 15 19 24 29 42
Grupo 2	2 3 11	8 12	18 21 43
Grupo 3	29 38	19 31 34	20 23 25 26 27 28 30 31 33 35 38 39 40 41
Grupo 4	14 15 40	27 32	1 2 4 5 6 16 17 32 36 37
Grupo 5	26	13 37	10 22
Grupo 6	9	6	34
Grupo 7	39	43	

\*Genótipos em azul e negrito se mantiveram no mesmo grupo independente da época analisada.

Em julho/2015, na população 76x48, as maiores distâncias (1.4319 e 0.9251) foram encontradas entre os indivíduos 1 e 100 (100%) e entre 1 e 83 (64.60%). Os mais similares foram os indivíduos 90 e 95 (11,98%) e, 1 e 48 (13.61%) apresentando, respectivamente, as distâncias de 0.1716 e 0.195. Já

para a população 76x04, as maiores dissimilaridades foram encontradas entre os indivíduos 1 e 9 (100%) com distância de 1.1809 e, entre 1 e 14 (95.62%) com distância de 1.1292. Os mais similares foram 18 e 23 (32.02%) e, 5 e 43 (33.30%).

Em dezembro/2015, a população 76x48 teve os indivíduos 1 e 4 (100%), 1 e 85 (95.84%) e, 1 e 43 (94.42%) como os mais dissimilares, apresentando as distâncias de 1.0902, 1.0449 e 1.0292, respectivamente; e como mais similares, os indivíduos 104 e 122 (13.80%), 64 e 128 (14.33%), 18 e 25 (14.94%). A pop. 76x04 em dezembro/2015 apresentou novamente o indivíduo 1 mais dissimilar, nesse caso, 1 entre 43 (100%), 1 e 6 (99.27%), 1 e 27 (86.73%) e, 1 e 8 (85.27%). As menores distâncias foram observadas entre 7 e 35 (24.03%) e entre 1 e 11 (24.25%).

Por fim, em abril de 2016, as maiores distâncias observadas na pop. 76x48 foram entre os indivíduos 1 e 11 (100%) e entre 1 e 18 (68.83%). Já para a pop. 76x04, o indivíduo 1 apresentou as maiores dissimilaridades com 34 (100%), 10 (98.54%), 3 (88.25%) e 20 (86.68%). Os mais similares para a pop. 76x48 foram: 70 e 95 (8.63%), 104 e 121 (10.28%), 1 e 102 (10.91%). Já para a pop. 76x04, os indivíduos 3 e 24 (32.52%) e, 19 e 29 (36.46%) foram os mais similares.

Verifica-se que ocorre, entre as épocas, uma mudança de grupos para a maioria dos indivíduos, embora alguns genótipos (em azul e negrito) tenham permanecido no mesmo grupo em todas as épocas, especificamente no Grupo 1 da pop. 76x48, que apresentou 38 genótipos permanentes, e no Grupo 1 da pop. 76x04 com três genótipos.

A variação entre grupos se deve às modificações particulares, observadas ao longo do experimento, em cada genótipo nos parâmetros avaliados, o que ocasiona o distanciamento dos indivíduos que anteriormente compartilharam o mesmo grupo (SOBREIRA, 2017).

A partir desses resultados, foi feita a análise separada dos indivíduos, com base em seus grupos, para verificar aqueles que apresentaram características morfofisiológicas com melhor relação à tolerância à seca, de acordo com as variáveis AFU, CE, AFE, RAF, DLC, NO<sub>3</sub>, Nt, FST, PRO e ETR, utilizadas para gerar o dendograma.

Em julho de 2015, as maiores médias das variáveis analisadas na pop. 76x48 (Tabela 14) foram exibidas no grupo 4 (AFU e CE), no grupo 6 (AFE), no grupo 14 (RAF), no grupo 9 (DLC), no grupo 13 (NO<sub>3</sub>), no grupo 7 (Nt e ETR), no grupo 12 (FST) e no grupo 11 (PRO). As menores foram observadas nos grupos 14 (AFU), 11 (CE), 12 (AFE), 10 (RAF e ETR), 5 (DLC e FST), 3 (NO<sub>3</sub> e PRO) e 8 (Nt).

**Tabela 14** Média das variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para cada grupo da pop. 76x48 em julho/2015.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	DLC	NO <sub>3</sub>	Nt	FST	PRO	ETR
<b>Grupo 1</b>	41.349	3.147	100.403	55.145	0.697	0.339	2.816	2.300	4.780	81.812
<b>Grupo 2</b>	35.366	2.885	114.327	56.193	0.714	0.426	2.824	2.297	5.722	59.820
<b>Grupo 3</b>	35.856	2.870	111.100	55.434	0.716	0.190	2.714	2.442	2.491	47.344
<b>Grupo 4</b>	62.809	4.474	117.810	66.504	0.796	0.193	2.677	2.320	3.165	60.207
<b>Grupo 5</b>	38.591	2.733	111.426	48.368	0.431	0.379	2.991	2.100	6.680	89.766
<b>Grupo 6</b>	46.156	3.206	130.189	62.820	0.737	0.332	2.942	2.293	2.641	94.944
<b>Grupo 7</b>	50.803	2.929	107.100	54.946	0.726	0.264	3.606	2.193	4.244	118.055
<b>Grupo 8</b>	50.080	3.554	93.266	73.230	0.610	0.344	2.044	2.237	4.370	93.431
<b>Grupo 9</b>	37.250	3.350	95.522	74.732	1.001	0.324	2.956	2.200	9.142	72.281
<b>Grupo 10</b>	32.830	4.043	95.522	48.238	0.745	0.364	2.956	2.553	9.967	44.234
<b>Grupo 11</b>	37.126	2.677	110.555	51.556	0.647	0.309	2.726	2.590	10.593	99.211
<b>Grupo 12</b>	32.404	2.911	93.008	49.697	0.695	0.234	2.422	3.000	4.856	89.531
<b>Grupo 13</b>	37.852	3.055	122.927	57.967	0.754	0.614	3.275	2.404	8.085	80.129
<b>Grupo 14</b>	32.305	3.017	126.225	181.859	0.743	0.425	3.163	2.400	3.299	74.142

Área foliar unitária (AFU) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), área foliar específica (AFE) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), razão da área foliar (RAF) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), densidade do lenho caulinar (DLC) (g cm<sup>3</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (Nt) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FST) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (PRO) (μmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

A pop.76x48, entre julho e dezembro/2015, apresentou redução nas médias de AFU (5.57%), RAF (8.5%), NO<sub>3</sub> (15.75%), FST (3.45%) e ETR (8.3%), e aumento para CE (34.83%), AFE (27.13%), Nt (31.61%) e PRO (60.03%). O grupo 5 apresentou a maior média para AFU e a menor para NO<sub>3</sub>. No grupo 6 observou-se a menor média para AFE, e no grupo 7 a maior média para NO<sub>3</sub>. O grupo 10 exibiu a maior média para Prolina, já o grupo 11 a maior média para AFU. No grupo 13 verificou-se a maior média de CE, e as menores para RAF e Nt. O grupo 14 apresentou a maior média para AFE e FST, e a menor para ETR, enquanto o grupo 15 apresentou a maior para ETR, e as menores para FST e AFU. O grupo 16 exibiu a maior média para Nt, e as menores para CE e PRO (Tabela 15).

**Tabela 15** Média das variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para cada grupo da pop. 76x48 em dezembro/2015.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	Nt	FST	PRO	ETR
<b>Grupo 1</b>	29.834	4.037	130.983	69.349	0.196	3.367	2.479	7.864	71.709
<b>Grupo 2</b>	38.630	4.900	136.604	78.238	0.357	3.806	2.431	7.898	82.528
<b>Grupo 3</b>	48.513	4.397	104.804	71.307	0.219	3.586	2.435	12.911	78.291
<b>Grupo 4</b>	48.530	5.327	134.193	73.517	0.183	3.418	2.532	8.422	73.560
<b>Grupo 5</b>	43.012	3.057	139.373	121.167	0.144	3.249	2.181	8.070	83.111
<b>Grupo 6</b>	28.132	3.280	91.815	69.064	0.367	3.593	2.209	8.284	77.051
<b>Grupo 7</b>	29.890	4.494	114.010	33.565	0.562	3.811	2.465	5.991	60.493
<b>Grupo 8</b>	33.665	3.000	153.665	53.514	0.436	3.178	2.365	11.503	84.492
<b>Grupo 9</b>	28.268	2.951	137.157	57.371	0.177	4.343	2.561	13.396	81.514
<b>Grupo 10</b>	40.475	4.683	141.372	51.608	0.264	4.631	2.417	16.659	46.420
<b>Grupo 11</b>	67.308	6.349	135.935	54.685	0.333	3.743	2.389	7.274	65.020
<b>Grupo 12</b>	63.588	3.870	117.810	88.740	0.516	3.811	2.381	9.388	82.953
<b>Grupo 13</b>	29.546	6.760	186.016	24.642	0.219	2.603	2.529	5.896	79.255
<b>Grupo 14</b>	42.467	4.617	196.350	50.477	0.150	3.433	2.565	11.764	21.565
<b>Grupo 15</b>	19.749	4.623	141.372	41.913	0.264	3.652	0.339	6.062	113.733
<b>Grupo 16</b>	24.374	2.766	160.650	40.327	0.173	6.106	2.505	4.993	56.201

Área foliar unitária (AFU) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), área foliar específica (AFE) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), razão da área foliar (RAF) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (Nt) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FST) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (PRO) (µmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Em abril de 2016, na pop. 76x48 (Tabela 16), o grupo 2 teve a menor média para AFU, o grupo 3 mostrou as menores médias de NO<sub>3</sub> e Nt, o grupo 5 obteve a maior média de RAF e o grupo 7 exibiu o maior valor para FST, e o menores para PRO. O grupo 8 apresentou a maior AFE, e as menores médias para CE e NO<sub>3</sub>, o grupo 9 teve o maior CE e o grupo 10 a menor média para RAF. A maior média para ETR foi do grupo 11, e os grupos 12 e 13 exibiram as menores médias de AFE. O grupo 14 apresentou as maiores médias de AFU, NO<sub>3</sub>, Nt e PRO, e as menores para FST e ETR. No período de julho de 2015 a abril de 2016, houve redução das médias de AFU (33.13%), PRO (15.14%) e ETR (53.23%) e aumento de CE (12.26%), AFE (8.8%), RAF (4.53%), NO<sub>3</sub> (25.94%), Nt (3.3%) e FST (20.75%).

**Tabela 8** Média das variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para cada grupo da pop. 76x48 em abril/2016.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	Nt	FST	PRO	ETR
<b>Grupo 1</b>	26.563	3.465	116.289	65.945	0.277	2.595	2.913	4.469	29.635
<b>Grupo 2</b>	19.748	2.997	116.573	64.991	0.421	2.967	2.840	4.524	29.925
<b>Grupo 3</b>	18.661	3.105	109.049	63.369	0.206	2.378	2.751	2.958	41.649
<b>Grupo 4</b>	28.489	3.462	117.244	65.182	0.368	3.116	2.768	7.155	26.229
<b>Grupo 5</b>	26.327	3.915	115.910	93.867	0.213	2.630	2.781	4.589	24.844
<b>Grupo 6</b>	35.150	3.315	121.872	83.899	0.500	2.854	2.811	3.496	31.483
<b>Grupo 7</b>	20.204	3.549	117.941	70.218	0.287	2.578	3.289	2.952	23.713
<b>Grupo 8</b>	20.161	2.647	151.341	74.770	0.206	2.625	2.848	3.987	26.773
<b>Grupo 9</b>	37.081	5.553	110.447	84.133	0.478	2.924	2.827	3.995	52.565
<b>Grupo 10</b>	33.587	4.760	117.810	50.023	0.533	2.795	2.759	3.116	49.324
<b>Grupo 11</b>	30.944	3.467	114.010	51.642	0.335	2.631	3.019	2.979	110.583
<b>Grupo 12</b>	21.618	2.971	107.100	56.116	0.688	3.805	2.891	9.483	25.102
<b>Grupo 13</b>	24.390	3.868	107.100	62.357	0.633	3.692	3.039	4.162	26.857
<b>Grupo 14</b>	38.762	3.277	141.372	92.633	0.821	3.845	2.711	10.054	18.081

Área foliar unitária (AFU) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), área foliar específica (AFE) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), razão da área foliar (RAF) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (Nt) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FST) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (PRO) (μmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Considerando a pop. 76x04, em julho de 2015, verificou-se as maiores médias de AFU, NO<sub>3</sub> e ETR, e as menores médias de CE, AFE, RAF, Nt e FST. O grupo 3 apresentou a maior média para NO<sub>3</sub>, o grupo 4 para AFU e AFE, o grupo 5 para CE, RAF, DLC, Nt, FST e ETR, e o grupo 6 para PRO. As menores médias foram do grupo 2 para Nt e PRO, do grupo 3 para RAF, do grupo 6 para AFU, CE, AFE, NO<sub>3</sub> e ETR, e do grupo 7 para DLC e FST (Tabela 17).

**Tabela 9** Média das variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para cada grupo da pop. 76x04 em julho/2015.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	Nt	FST	PRO	ETR	AFU
<b>Grupo 1</b>	44.451	3.342	102.791	47.866	0.721	0.362	2.582	2.295	6.241	72.160
<b>Grupo 2</b>	50.798	3.581	97.388	53.060	0.729	0.374	2.019	2.338	5.131	71.879
<b>Grupo 3</b>	43.138	3.151	97.321	47.393	0.675	0.455	2.551	2.280	6.546	66.024
<b>Grupo 4</b>	51.980	3.406	105.178	52.875	0.681	0.348	2.627	2.278	5.708	78.041
<b>Grupo 5</b>	47.778	3.586	103.950	57.366	0.770	0.294	2.913	2.360	5.575	82.005
<b>Grupo 6</b>	41.916	2.856	90.623	48.593	0.699	0.284	2.417	2.273	7.665	59.561
<b>Grupo 7</b>	43.995	3.748	95.522	52.864	0.641	0.334	2.417	2.260	7.358	71.882

Área foliar unitária (AFU) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), área foliar específica (AFE) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), razão da área foliar (RAF) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (Nt) (% g<sup>-1</sup>),

fenol total (FST) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (PRO) (µmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Em dezembro de 2015, na pop. 76x04, o grupo 1 apresentou a maior média para ETR. O grupo 2 teve o maior RAF e as menores médias para CE e NO<sub>3</sub>. O grupo 3 exibiu os maiores valores para AFU e FST, e o menor para PRO. O grupo 4 mostrou a maior média de PRO e as menores de AFE e Nt. No grupo 5 observou-se as maiores médias para AFE e NO<sub>3</sub>, e a menor para FST. No grupo 6 foi identificado as maiores médias para Nt e também para NO<sub>3</sub>, e no grupo 7 as maiores médias para CE e as menores para AFU, RAF e ETR.

**Tabela 10** Média das variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para cada grupo da pop. 76x04 em dezembro/2015.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	Nt	FST	PRO	ETR
<b>Grupo 1</b>	41.844	5.517	138.860	64.221	0.190	3.307	2.412	8.261	85.002
<b>Grupo 2</b>	22.548	3.473	148.292	85.884	0.156	3.393	2.355	7.678	65.605
<b>Grupo 3</b>	50.554	4.184	126.381	65.648	0.196	3.195	2.473	4.478	61.859
<b>Grupo 4</b>	44.185	4.582	109.629	71.129	0.196	3.105	2.735	11.705	68.044
<b>Grupo 5</b>	35.629	4.848	150.464	73.322	0.367	3.317	2.307	8.901	59.554
<b>Grupo 6</b>	49.828	5.571	135.935	84.138	0.367	4.918	2.421	9.412	75.328
<b>Grupo 7</b>	18.690	5.665	147.263	18.114	0.253	4.078	2.561	7.131	59.189

Área foliar unitária (AFU) (cm), comprimento entrenócio (CE) (cm), área foliar específica (AFE) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), razão da área foliar (RAF) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (Nt) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FST) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (PRO) (µmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Na avaliação de dezembro/2015, em ambas as populações, foram observadas várias modificações nas médias analisadas, devido ao período de exposição à seca. Na pop. 76x04, em termos percentuais, AFU (18.75%) e NO<sub>3</sub> (29.58%) apresentaram maior redução, e CE (42.97%), AFE (38.11%) e Nt (44.43%) maior aumento. Para a pop. 76x48 houve maior aumento nos níveis de PRO (60.03%), e maior redução da ETR (8.3%). Os parâmetros RAF e Fenol também caíram na pop. 76x48, mas na pop. 76x04 verificou-se aumento.

Comparando as médias dos grupos das duas populações, a pop. 76x48 apresentou as maiores médias de AFU (grupo 11), CE (grupo 13), AFE (grupo 14), RAF (grupo 5), NO<sub>3</sub> (grupo 7), Nt (grupo 16), FST (grupo 14), PRO (grupo 10) e ETR (grupo 15). Também se verificou na pop. 76x48, as menores médias de CE (grupo 16), AFE (grupo 6), NO<sub>3</sub> (grupo 5), Nt (grupo 13), FST (grupo 15) e ETR (grupo 14). Na pop. 76x04 foi identificado as menores médias para AFU e RAF (grupo 7) e de PRO (grupo 3).

Por fim, em abril/2016, o grupo 1 da pop. 76x04 apresentou a maior média para RAF, o grupo 2 para ETR, o grupo 3 para Nt e Prolina. O grupo 4 apresentou as maiores médias para CE e as menores para FST e ETR. O grupo 5 mostrou as maiores médias para AFU e FST, e as menores para AFE, RAF, NO<sub>3</sub> e Nt. O grupo 6 exibiu as maiores médias para AFE e NO<sub>3</sub>, e as menores para AFU, CE e PRO (Tabela 19).

**Tabela 11** Média das variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para cada grupo da pop. 76x04 em abril/2016.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	Nt	FST	PRO	ETR
<b>Grupo 1</b>	27.413	3.421	111.926	71.713	0.258	2.560	2.894	3.493	36.127
<b>Grupo 2</b>	27.426	3.523	104.839	64.652	0.348	2.786	2.926	4.074	57.695
<b>Grupo 3</b>	32.702	3.925	107.704	65.027	0.431	2.915	2.873	5.370	40.496
<b>Grupo 4</b>	34.991	4.435	116.377	75.026	0.279	2.788	2.856	4.171	32.979
<b>Grupo 5</b>	38.431	4.063	104.040	55.574	0.241	2.323	3.027	3.005	35.496
<b>Grupo 6</b>	27.068	3.244	141.372	63.575	0.489	2.566	2.935	2.408	52.314

Área foliar unitária (AFU) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), área foliar específica (AFE) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), razão da área foliar (RAF) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (Nt) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FST) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (PRO) (μmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

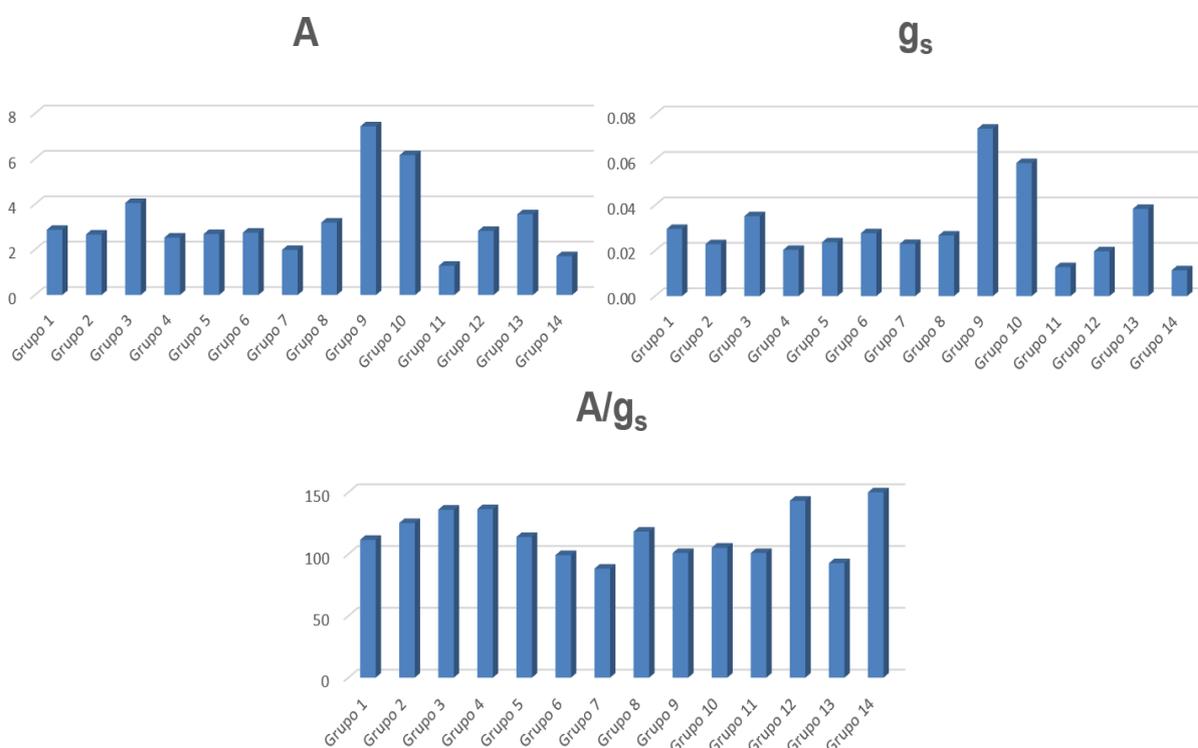
Comparando a variação nas médias do período de julho/2015 até abril/2016 constatou-se que a pop. 76x04 sofreu maior aumento nas médias de AFE, RAF, Nt e FST. A pop. 76x04 também apresentou maior diminuição nos níveis de PRO. Já a pop. 76x48 apresentou maior aumento nas médias de CE, e maiores diminuições para AFU e para ETR. NO<sub>3</sub> caiu na pop. 76x04, enquanto aumentou na pop. 76x48.

Verificando as médias obtidas dos grupos, em abril/2016, nas duas populações, percebemos que a pop. 76x04 apresenta as menores médias para AFE e Nt (grupo 5), e para PRO (grupo 6). Já a pop. 76x48 tem maior AFU, NO<sub>3</sub>, Nt e Prolina (grupo 14), maior CE (grupo 9), maior AFE (grupo 8), maior RAF (grupo 5), maior FST (grupo 7), e maior ETR (grupo 11). Também apresenta as menores médias para AFE (grupo 2), para CE e NO<sub>3</sub> (grupo 8), para RAF (grupo 10), para FST (grupo 14), e para ETR (grupo 7).

Como discutido anteriormente, a pop. 76x04, como um todo, apresentou melhores características para tolerância à seca, em abril/2016. No entanto, a pop. 76x48 demonstra maior variabilidade entre seus grupos, com alguns indivíduos merecendo destaque.

Considerando que a identificação e a seleção de clones de café tolerantes a seca devem ser realizadas sob condições de seca (SILVA et al., 2013), foi feita a avaliação dos parâmetros  $A$ ,  $g_s$  e  $A/g_s$  para os diferentes grupos de cada população para a época de abril/2016, já que se trata do período mais crítico e, portanto, é o mais adequado para identificar os indivíduos/grupos que apresentaram desempenho superior para tolerância à seca.

Podemos observar na Figura 8, que os grupos 9 e 10 da pop. 76x48 são os mais distintos em comparação com os demais, apresentando médias superiores de  $A$  de 7.435 e 6.16, respectivamente, enquanto a média dos outros grupos foi de 2.676. O mesmo é observado para  $g_s$ , com o grupo 9 apresentando o valor médio de 0.074 e o grupo 10 de 0.059, enquanto a média dos demais é de 0.024. A média de  $A/g_s$  desses dois grupos (G9- 100.854 e G10- 105.205) apresentaram valores inferiores com relação a maior parte da população, exceto para os grupos 7 (88.253), 13 (92.605), 6 (99.174) e 11 (100.846).

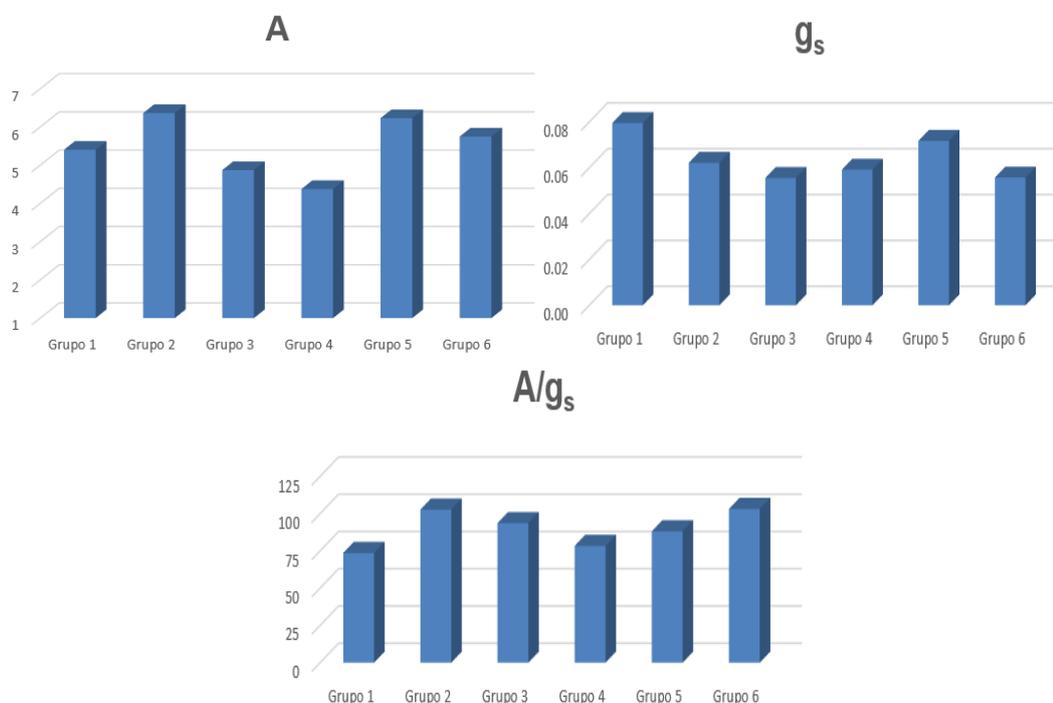


**Figura 2** Fotossíntese ( $A$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e eficiência no uso da água intrínseca ( $A/g_s$ ) ( $\mu\text{mol}$ ) dos 14 grupos da população 76x48 em abril/2016.

O grupo 9 apresentou o maior CE (5.55), valores elevados para AFU (37.08), RAF (84.13) e ETR (52.56), valores intermediários para Fenol (2.83), NO<sub>3</sub> (0.48) e Nt (2.92), e baixos para AFE (110.45) e Prolina (3.99). O grupo 10 apresentou o menor RAF (50.02), valores elevados para AFU (33.59), CE (4.76), NO<sub>3</sub> (0.53) e ETR (49.32), valores intermediários para AFE (117.81) e Nt (2.8), e baixos para FST (2.76) e Prolina (3.11).

Fazendo um paralelo com os grupos 11 (A: 1.288, g<sub>s</sub>: 0.013 e A/g<sub>s</sub>: 100.846) e 14 (A: 1.711, g<sub>s</sub>: 0.011 e A/g<sub>s</sub>: 150.628) para os mesmos parâmetros, observamos que o grupo 11 apresentou a maior média para ETR (110.58), valores elevados para FST (3.02), valores intermediários para AFU (30.94), CE (3.47), AFE (114.01) e NO<sub>3</sub> (0.33), e baixos para RAF (51.64), Nt (2.63) e PRO (2.98); e o grupo 14 teve as maiores médias para AFU (38.76), NO<sub>3</sub> (0.82), Nt (3.84), PRO (10.05), as menores médias para FST (2.71) e ETR (18.08), valores elevados para AFE (141.37) e RAF (92.63), e valor intermediário para CE (3.28).

Para a pop. 76x04, os parâmetros A, g<sub>s</sub> e A/g<sub>s</sub> se mostraram mais homogêneos, em comparação com a pop. 76x48. No entanto, podemos destacar os grupos 2 (A: 6.361, g<sub>s</sub>: 0.062 e A/g<sub>s</sub>: 102.712) e 5 (A: 6.229, g<sub>s</sub>: 0.072 e A/g<sub>s</sub>: 88.187) como aqueles com melhor desempenho (Figura 9).



**Figura 9** Fotossíntese (A) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (g<sub>s</sub>) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e eficiência no uso da água intrínseca (A/g<sub>s</sub>) (µmol) dos seis grupos da população 76x04 em abril/2016.

Na pop. 76x04, o grupo 2 apresentou a maior ETR (57.69), valor elevado para FST (2.92), valores intermediários para RAF (64.65), NO<sub>3</sub> (0.35), Nt (2.78), e PRO (4.07), e baixos para CE (3.52), AFU (27.42) e AFE (104.84). O grupo 5 apresentou as maiores médias de AFU (38.43) e FST (3.03), os menores valores para AFE (104.04), RAF (55.57), NO<sub>3</sub> (0.24), Nt (2.32), valor intermediário para CE (4.06) e ETR (35.50) e baixos para PRO (3.00)

Vemos que existe uma tendência dos grupos 9 e 10 da pop. 76x48 e dos grupos 2 e 5 da pop. 76x04 a exibirem médias mais baixas para AFE. Comparando a AFE apresentada pelo clone 76 (119.55), verificamos que esses grupos apresentam valores semelhantes para esse parâmetro, embora menores (G2- 104.84; G5-104.04; G9-110.447; G10-117.81), e isso pode estar contribuindo para o aumento de A, como se observa, pois um menor AFE pode proporcionar mais cloroplastos por unidade de área foliar e, assim, obter maior A por área (DAMATTA et al., 2002). Também observamos que A/g<sub>s</sub> foi menor para os grupos em questão em comparação ao clone 76 (129.34), o que pode significar um maior desenvolvimento do sistema radicular, maximizando da captação da água disponível do solo para transpiração, associado a maiores condutâncias estomáticas, o que também aumenta A (BLUM, 2009).

No cafeeiro, a tolerância à seca não se correlaciona satisfatoriamente com o acúmulo de solutos compatíveis, como o aminoácido prolina (RONCHI; DAMATTA, 2007). No entanto, parece funcionar como um indicador da severidade do estresse em relação ao status hídrico foliar do cafeeiro, ao invés de funcionar como um mecanismo protetor associado ao ajuste osmótico (MAESTRI et al., 1995). O maior acúmulo de prolina seria mais proeminente em genótipos sensíveis, pois ele seria promovido caso a desidratação das células supere um limite que passe a provocar maiores danos celulares (SILVA et al., 2010). Para esse estudo, observamos que os grupos 2, 5, 9 e 10 aproximaram-se de valores inferiores, o que pode significar que os genótipos desses grupos conseguem manter as células mais hidratadas. Porém, ainda não se pode descartar a possibilidade de que o aumento no teor de prolina possa contribuir para tolerância à seca, atuando no ajuste osmótico, como foi observado no clone 76 e também por Sobreira (2017), que identificou plantas que apresentavam maiores concentrações de Prolina e melhores características morfofisiológicas sob condições de estresse, embora também

tenha identificado genótipos tolerantes que não apresentaram essa característica.

A tolerância à seca pode ser indiretamente influenciada pela disponibilidade adequada de nitrogênio, pois permite o desenvolvimento de mecanismos fotoprotetores do cloroplasto e mudanças qualitativas na membrana sob estresse oxidativo promovido pela escassez de água (DAMATTA; RAMALHO, 2006). No entanto, observamos genótipos com maior desempenho e genótipos com menor desempenho, que apresentaram tanto níveis menores (pop.76x04 – G5 e pop. 76x48 – G3) como maiores níveis desses parâmetros (pop.76x04 – G2 e pop. 76x48 – G14), o que sugere que não foram determinantes quanto a tolerância à seca para esse trabalho. Sobreira (2017) também observou que não existiu uma relação positiva do desempenho fotossintético com a quantidade de nitrogênio foliar.

Com relação a ETR, verificou-se uma inclinação, por parte dos grupos com melhor desempenho, a apresentarem médias mais elevadas (G2-57.69, G5-35.49, G9-52.56, G10-49.32), o que também favorece maiores  $g_s$  e A, além de indicar menor dano sob o aparato fotossintético sob condições de estresse hídrico (LISAR et al., 2012).

Por fim, quando consideramos o parâmetro CE, vemos que os grupos 9 e 10 apresentam valores superiores a aqueles apresentados pelos grupos da pop. 76x04. Isso pode impactar negativamente a produção, pois um maior CE representa maior crescimento entre as gemas reprodutivas, local de onde surgem os frutos, provocando assim, menor produtividade (SOBREIRA, 2017).

Dessa forma, os grupos 2 (indivíduos 18, 21 e 43) e 5 (indivíduos 10 e 22) da pop. 76x04 demonstraram características fotossintéticas e morfológicas superiores aos demais grupos no período mais crítico de seca e, portanto, podem ser explorados para tolerância à seca em café Conilon. Também vale perceber que no agrupamento da pop. 76x04-abril/2016, o indivíduo 1 (grupo 4) e o 10 (grupo 5) apresentaram uma das maiores dissimilaridades (98.54%), o que, de certa forma, aponta esse grupo como o mais susceptível da pop. 76x04.

## 5. CONCLUSÕES

- A análise de características morfológicas e fisiológicas auxilia a avaliação do desempenho de genótipos de café Conilon em resposta ao estresse hídrico;
- O clone 76 exibiu melhores características morfofisiológicas sob condições de estresse, em relação aos clones progenitores, como esperado;
- Observou-se grande variação nos traços morfofisiológicos provocadas pelo estresse hídrico durante as avaliações, com maiores efeitos sob a pop. 76x48;
- A população 76x04 foi superior a população 76x48, no período mais crítico de seca;
- Existe grande variabilidade entre os indivíduos, principalmente na população 76x48;
- Os indivíduos 1 e 11 foram os mais distintos na população 76x48, e na população 76x04, as maiores distâncias foram apresentadas entre o indivíduo 1 e 34, e entre 1 e 10;
- Os genótipos 10, 18, 21, 22 e 43 apresentaram melhores características morfofisiológicas para tolerância à seca na população 76x04, sendo superiores aos indivíduos 27 e 29, que apresentaram o melhor desempenho para a população 76x48;
- AFE, CE, ETR, A,  $g_s$  e  $A/g_s$  foram as variáveis mais importantes para identificar os indivíduos/grupos mais tolerantes à seca.

## 6. REFERÊNCIAS

ALFONSI, E. L.; FAHL, J. I.; CARELLI, M.L.C.; FAZUOLI, L. C. Crescimento, fotossíntese e composição mineral em genótipos de *Coffea* com potencial para utilização como porta-enxerto. *Bragantia*, v.64, p.1-13, 2005. In: TOMAZ, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; JESUS JUNIOR, W. F.; PEZZOPANE, J. R. M. Seminário para a Sustentabilidade da Cafeicultura. Alegre, ES: UFES, Centro de Ciências Agrárias, cap. 09, p.127, 2008.

ALTER, S.; BADER, K. C.; SPANNAGL, M.; WANG, Y.; BAUER, E.; SCHÖN, C. C.; MAYER, K. F. X. DroughtDB: An expert-curated compilation of plant drought stress genes and their homologs in nine species. *Database*, p. 1-7, 2015.

ANTUNES, W. C.; POMPELLI, M. F.; CARRETERO, D. M.; DAMATTA, F.M. Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*). *Annals of Applied Biology*, n. 153, p. 33-40, 2008.

ARAÚJO, J. F.; HARIDASAN, M. Relação entre deciduidade e concentrações foliares de nutrientes em espécies lenhosas do cerrado. *Rev. bras. Bot*, v. 30, n. 3, p. 533-542, 2007.

BANZIGER, M., EDMEADES, G.O., BECK, D., & BELLON, M. Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize. From theory to practice. Mexico, D.F., CIMMYT. p. 23-29, 2000.

BATES, L.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, n. 39, p. 205-207, 1973. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A. da; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H., VERDIN FILHO, A. C.; VOLPI, P. S.; MARQUES, E. M. G.; ZUCATELI, F. *Café conilon: técnicas de produção com variedades melhoradas*. 4.ed. revisada e ampliada. Vitória, ES: Incaper: Circular Técnica, p. 74, 2012.

BERTHAUD, J. Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Evaluation de la recherche génétique des populations sylvestres et ses mécanismes organisateurs. Consequences pour l'application, Montpellier, France: ORSTOM, 1986. p.179. In: CARVALHO, C. H. S. *Cultivares de café: origem, características e recomendações*. Brasília: Embrapa Café, p. 334, 2008.

BERTHAUD, J.; CHARRIER, A. Genetic resources of *Coffea*. 1988. In: In: TOMAZ, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; JESUS JUNIOR, W. F.; PEZZOPANE, J. R. M. Seminário para a Sustentabilidade da Cafeicultura. Alegre, ES: UFES, Centro de Ciências Agrárias, p. 342, 2008.

BLUM, A. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, v. 112, p. 119-123, 2009.

BLUM, A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant Cell Environ.* 2016.

BOYER, J. Comportement hydrique des deux grands groupes de *Coffea canephora* de Côte d'Ivoire. *Café Cacao Thé*, 9: 263-282, 1965. In: DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

CARVALHO, A.; MÔNACO, L.C. Natural cross pollination in *Coffea arabica*. 1965. In: DE MELO, B.; DE SOUSA, L. B. *Biologia da Reprodução de Coffea arabica*. L. e *Coffea canephora* Pierre. *Revista Verde*, v. 6, p. 1-7, 2011.

CARVALHO, C. H. S. *Cultivares de café: origem, características e recomendações*. Brasília: Embrapa Café, p. 334, 2008.

CARVALHO, M. H. C. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. *Plant signaling & behavior*, v. 3, n. 3, p. 156-165, 2008.

CATALDO, D. A.; MAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 6, p. 71-80, 1975.

CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; WOLFGRAMM, R.; DAMATTA, F. M. Physiological responses of two coffee (*Coffea canephora*) genotypes to soil water deficit. *Droughts: Causes, Effects and Predictions*. Nova Science Publishers, 2008. In: TOMAZ, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; JESUS JUNIOR, W. F.; PEZZOPANE, J. R. M. *Seminário para a Sustentabilidade da Cafeicultura*. Alegre, ES: UFES, Centro de Ciências Agrárias, cap. 09, p. 128, 2008.

CAVATTE, P. C.; OLIVEIRA, A. A.; MORAIS, L. E.; MARTINS, S. C.; SANGLARD, L. M.; DAMATTA, F. M. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. *Physiologia Plantarum*, v. 144, p. 111-122, 2012.

CAVATTE, P.C.; OLIVEIRA, A. A. G.; MARTINS, S. C. V.; WOLFGRAMM, R.; DAMATTA, F. M. Desenvolvimento de variedades visando à tolerância à seca em *Coffea canephora*: um enfoque fisiológico. In: TOMAZ, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; JESUS JUNIOR, W. F.; PEZZOPANE, J. R. M. *Seminário para a*

Sustentabilidade da Cafeicultura. Alegre, ES: UFES, Centro de Ciências Agrárias, cap. 09, p. 123-136, 2008.

CHESEREK, J. J.; GICHIMU, B. M. Drought and heat tolerance in coffee: a review. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, v. 2 (12), p. 498-501, 2012.

CONAB. Compêndio de Estudos Conab / Companhia Nacional de Abastecimento. A cultura do café: Análise dos custos de produção e da rentabilidade nos anos-safra 2008 a 2017. v.1, Brasília, 2016.

CONAB. Compêndio de Estudos Conab / Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de café, v. 4 – Safra 2017. n.4- Quarto levantamento, Brasília, p. 1-84, 2017.

CONAB. Compêndio de Estudos Conab / Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de café, v. 4 – Safra 2016. n.4- Quarto levantamento, Brasília, p. 1-82, 2016.

CONAGIN, C. H. T. M.; MENDES, A. J. T. Pesquisas citológicas e genéticas de três espécies de *Coffea*: auto-incompatibilidade em *C. canephora*. *Bragantia*, v.20, n.34, p.787- 80, 1961. In: DE MELO, B.; DE SOUSA, L. B. *Biologia da Reprodução de Coffea arabica*. L. e *Coffea canephora* Pierre. *Revista Verde*, v. 6, p. 01-07, 2011.

COSTA, C. C.; OLIVEIRA, C. D.; SILVA, C. J.; TIMOSSI, P. C.; LEITE, I. C. Crescimento, produtividade e qualidade de raízes de rabanete cultivadas sob diferentes fontes e doses de adubos orgânicos. *Horticultura Brasileira*, v. 24, n. 1, p.118-122, 2006.

COSTE, R. *Coffee - The Plant and the Product*. MacMillan Press, London, 1992. In: DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

CRUZ, C. D. Genes Software - extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Sci., Agron* v. 38, p. 547-552, 2016.

DAMATTA, F. M. Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops, 2003. In: DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; PINHEIRO, H. A.; DUCATTI, C.; LOUREIRO, M. E. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. *Plant Science*, v. 164, p. 111-117, 2003.

DAMATTA, F. M.; LOOS, R. A.; SILVA, E. A.; LOUREIRO, M. E. Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. *Journal of Plant Physiology*, v. 159, p. 975-981, 2002. In: DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

DAMATTA, F. M.; RENA, A. B. Relações hídricas no cafeeiro. 2001. In: TOMAZ, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; JESUS JUNIOR, W. F.; PEZZOPANE, J. R. M. Seminário para a Sustentabilidade da Cafeicultura. Alegre, ES: UFES, Centro de Ciências Agrárias, cap. 09, p. 125, 2008.

DAMATTA, F. M.; RONCHI, C. P.; MAESTRI, M.; BARROS, R. S. Coffee: environment and crop physiology. 2010. In: MENEZES-SILVA; P.E.; CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; REIS, J. V.; PEREIRA, L. F.; ÁVILA, R. T.; ALMEIDA, A. L.; VENTRELLA, M. C.; DAMATTA, F. M. Wood density, but not leaf hydraulic architecture, is associated with drought tolerance in clones of *Coffea canephora*. *Trees*, v. 20, p. 20, 2015.

DAS, P.; NUTAN, K. K.; SINGLA-PAREEK, S. L.; PAREEK, A. Oxidative environment and redox homeostasis in plants: dissecting out significant contribution of major cellular organelles. *Frontiers in Environmental Science*, v. 2, p. 70, 2015

DAVIS, A. P.; TOSH, J.; RUCH, N.; FAY, M. Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. *Botanical Journal of the Linnean Society*. v. 167, p. 357-377, 2011.

DUSSERT, S.; LASHERMES, P.; ANTHONY, F.; MONTAGNON, C.; TROUSLOT, P.; COMBES, M.C.; BERTHAUD, J.; NOIROT, M.; HAMON, S. Le caféier *Coffea canephora*, 1999. In: CARVALHO, C. H. S. Cultivares de café: origem, características e recomendações. Brasília: Embrapa Café, p. 334, 2008.

EDZIRI, H.; MASTOURI, M.; CHEHEB, H.; LAAMERI, S.; BOUJNAH, D. The Effect of Water Stress on Leaf Phenolic Composition, Fluorescence Parameters, Xylem Hydraulic Properties and Antiradical Activity of Four Tunisian Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars. *J Plant Biochem Physiol*, v. 5: 193, 2017.

EMBRAPA. Consórcio Pesquisa Café / Embrapa Café. Evolução da cafeicultura brasileira nas últimas duas décadas. 2017. Disponível em: <[http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/publicacoes\\_tecnicas/Consortio-Embrapa-Cafe-Evolucao-24-1-2017.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/publicacoes_tecnicas/Consortio-Embrapa-Cafe-Evolucao-24-1-2017.pdf)>. Acesso: 02 fev. 2018.

FAZUOLI, L. C. Genética e melhoramento do cafeeiro. 1986. In: Tomaz, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; JESUS JUNIOR, W. F.; PEZZOPANE, J. R. M. Seminário para a Sustentabilidade da Cafeicultura. Alegre, ES: UFES, Centro de Ciências Agrárias, p. 342, 2008.

FERRÃO, R. G.; FERRÃO, M. A. G.; FONSECA, A. F. A.; PACOVA, B. E. V. Melhoramento genético de *Coffea canephora*. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A., BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Eds.). Café Conilon. Vitória, Seag/Incaper, cap. 05, p. 123-173, 2007.

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, M. A. G.; SANTOS, L. P. Avaliação de clones elites de café Conilon em condição de estresse hídrico no estado do Espírito Santo. In: I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas, MG: Resumos expandidos. Brasília, EMBRAPA Café e MINASPLAN, p. 402-404, 2000.

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, M. A. G.; VERDIN FILHO, A. C.; VOLPI, P. S.; DE MUNER, L. H.; LANI, J. A.; PREZOTTI, L. C.; VENTURA, J. A.; MARTINS, D. S.; MAURI, A. L.; MARQUES, E. M. G.; ZUCATELLI, F. Café Conilon: técnicas de produção com variedades melhoradas. 4. ed. revisada e ampliada. Vitória, ES: Incaper: Circular Técnica, p. 74, 2012.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 48, p. 909-930, 2010.

GLIBERT, P. M.; WILKERSON, F. P.; DUGDALE, R. C.; RAVEN, J. A.; DUPONT, C. L.; LEAVITT, P. R.; PARKER, A. E.; BURKHOLDER, J. M.; KANA, T. M. Pluses and minuses of ammonium and nitrate uptake and assimilation by phytoplankton and implications for productivity and community composition, with emphasis on nitrogen-enriched conditions. *Limnol. Oceanogr.*, v. 61, p. 165–197, 2016.

INCAPER. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Sistema de Informações Meteorológicas. 2017 Disponível em: <<https://meteorologia.incaper.es.gov.br/SPI>>. Acesso em: 24 mai. 2018.

INCAPER. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Boletim Climatológico Trimestral do Espírito Santo Abr-Jun 2016. ISSN 0102-5082, v.2, n.6, 2016.

INCAPER. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Boletim Climatológico Trimestral do Espírito Santo Jul-Set 2015. ISSN 01-02-5082, v.1, n.3, 2015.

INCAPER. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Boletim Climatológico Trimestral do Espírito Santo Out-Dez 2015. ISSN 01-02-5082, v.1, n.4, 2015.

INMAN-BAMBER, N. G.; BONNETT, G. D.; SPILLMAN, M. F.; HEWITT, M. L.; JACKSON, A. Increasing sucrose accumulation in sugarcane by manipulating leaf extension and photosynthesis with irrigation. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 59, p. 13-26, 2008.

INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. *Field Crops Research*, v. 92, p. 185-202, 2005.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. Working group III. Mitigation of Climate Change. p. 99, 2014. In: PARTELLI, F. L.; BONOMO, R. *Café Conilon: o clima e manejo da planta*. Alegre, ES: CAUFES, 2016.

IPMA. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Seca. Disponível em: <<https://www.ipma.pt/pt/educativa/tempo.clima/index.jsp?page=seca.index>>. Acesso em: 24 mar. 2018.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; LAKSHMANAN, G. M. A.; GOMATHINAYAGAM, M.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, v. 6, p. 298–303, 2008.

KIM, Y.H.; KWAK, S.S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA, S. D (Ed.). *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. Flórida: Science Publishers, p.129-150, 2010.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. Water relations of plants and soils. Academic Press, New York. 1995. In: DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM, R. A review on the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89,217–233, 2011.

LICHTENTHALER, H. K. The stress concept in plants: an introduction. In: Csermely P., (ed), *Stress of Life: From Molecules to Man*. Annals of the New York Academy of Sciences. v. 851, 1998 p. 187-98.

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*, v. 47, p. 239-247, 2002.

LIMA, A. L. S.; ZANELLA, F.; SCHIAVINATO, M. A.; HADDAD, C. R. B. Nitrogenous compounds, phenolic compounds and morphological aspects of leaves: comparison of deciduous and semideciduous arboreal legumes. *Scientia Agricola*, v. 63, p. 40-45, 2006.

LISAR, S.Y.S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M.M.; RAHMAN I.M.M. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses, In *Water Stress*; Prof. Ismail Md. Mofizur Rahman Ed., InTech: New York, USA, 2012.

MAESTRI, M.; DAMATTA, F. M.; REGAZZI, A. J.; BARROS, R. S. Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water stressed coffee plants (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *J. Hort. Sci.*, v. 70, p. 229-233, 1995. In: DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Café no Brasil*. Brasília, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>. Acesso: 02 fev. 2018.

MARENCO, R. A.; ANTEZANA-VERA, S. A.; NASCIMENTO, H. C. S. Relationship between specific leaf area, leaf thickness, leaf water content and SPAD-502 readings in six Amazonian tree species. *Photosynthetica*, v.47, n.2, p.184- 190, 2009.

MARLO, P. M. S. *Conilon capixaba: 100 anos de desafios, crescimento e inovação*. Vitória, ES: Bumerangue Produção e comunicação. 2012. 100p. In: PARTELLI, F. L.; GILES, J. A. D.; DA SILVA, M. B. (Ed.). *Café Conilon: manejo de pragas e sustentabilidade*. Alegre, ES: CCAUFES, p. 186, 2015.

MARRACCINI, P.; VINECKY, F.; ALVES, G. S. C.; RAMOS, H. J. O.; ELBELT, S.; VIEIRA, N. G.; CARNEIRO, F. A.; SUJII, P. S.; ALEKCEVETCH, J. C.; SILVA, V. A.; DAMATTA, F. M.; FERRÃO, M. A. G.; LEROY, T.; POT, D.; VIEIRA, L. G. E.; DA SILVA, F. R.; ANDRADE, A. C. Differentially expressed genes and proteins upon drought acclimation in tolerant and sensitive genotypes of *Coffea canephora*. *Journal of Experimental Botany*, v. 63, p. 4191-4212, 2012.

MAZZAFERA P.; TEIXEIRA, J. P. F. Prolina em cafeeiros submetidos a déficit hídrico. *Turrialba*, v. 39, p. 305-313, 1989. In: DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and

production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

MEINZER, F.C.; SALIENDRA, N. Z.; CRISOSTO, C. H. Carbon isotope discrimination and gas exchange in *Coffea arabica* during adjustment in different soil moisture regimes. *Aust. J. Plant Physiol*, v. 19, p. 171-184, 1992. In: DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 55-81, 2006.

MENDES, A. N. G.; GUIMARÃES, P. T. G.; MELLES, C. C. A.; BARTHOLO, G. F. Estudo do espaçamento entre e dentro de fileiras para as cultivares Catuaí e Mundo Novo. In: DE MELO, B.; DE SOUSA, L. B. *Biologia da Reprodução de Coffea arabica. L. e Coffea canephora Pierre*. Revista Verde, v.6, p. 01-07, 2011.

MIGNOLET-SPRUYT, L.; XU, E.; IDÄNHEIMO, N.; HOEBERICHTS, F. A.; MÜHLENBOCK, P.; BROSCHE, M.; VAN BREUSEGEM, F.; KANGASJÄRVI, J. Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. *J. Exp. Bot.*, v. 67, p. 3831-3844, 2016.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCIYILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.*, v. 33, p. 453-467, 2010.

MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. *The Computer Journal*, v. 20, p. 359-363, 1977.

MONDEGO, J. M. C.; VIDAL, R. O.; CARAZZOLLE, M. F.; TOKUDA, E. K.; PARIZZI, L. P.; COSTA, G. G. L.; PEREIRA, L. F. P.; ANDRADE, A. C.; COLOMBO, C. A.; VIEIRA, L. G. E.; PEREIRA, G. A. G. An EST-based analysis identifies new genes and reveals distinctive gene expression features of *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *BMC Plant Biology*, v. 11, p. 30, 2011.

MONTAGNON, C.; LEROY, T. Réaction à la sécheresse de jeunescaféiers *Coffea canephora* de Côte-d'Ivoire appartenant à différents groupes génétiques. *Café Cacao Thé* 37, 179–190, 1993. In: MARRACCINI, P.; VINECKY, F.; ALVES, G. S. C.; RAMOS, H. J. O.; ELBELT, S.; VIEIRA, N. G.; CARNEIRO, F. A.; SUJII, P. S.; ALEKCEVETCH, J. C.; SILVA, V. A.; DAMATTA, F. M.; FERRÃO, M. A. G.; LEROY, T.; POT, D.; VIEIRA, L. G. E.; DA SILVA, F. R.; ANDRADE, A. C. Differentially expressed genes and proteins upon drought acclimation in tolerant and sensitive genotypes of *Coffea canephora*. *Journal of Experimental Botany*, v. 63, p. 4191-4212, 2012.

NÓBREGA, N. E. F.; SILVA, J. G. F.; RAMOS, H. E. A.; PAGUNG, F. S. Balanço hídrico climatológico e classificação climática de Thornthwaite e

Köppen para o município de Marilândia - ES. In: CONGRESSO NACIONAL DE IRRIGAÇÃO E DRENAGEM, 18., 2008, São Mateus. O equilíbrio do fluxo hídrico para uma agricultura irrigada sustentável: anais... São Mateus: ABID, 2008.

OIC. ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CAFÉ . Relatório sobre mercado de dezembro de 2017. Londres, 2017.

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

PINHEIRO, H. A.; DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; LOUREIRO, M. E.; DUCATTI, C. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science* 167, 1307–1314, 2004. In: SILVA, P. E. M.; CAVATTE, P. C.; MORAIS, L. E.; MEDINA, E. F.; DAMATTA, F. M. The functional divergence of biomass partitioning, carbon gain and water use in *Coffea canephora* in response to the water supply: Implications for breeding aimed at improving drought tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, v. 87, p.49-57, 2013.

POORTER, H.; EVANS, J. R. Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia*, v. 116, n. 1, p. 26-37, 1998.

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* 56, 263–273, 2006. In: SILVA, P. E. M.; CAVATTE, P. C.; MORAIS, L. E.; MEDINA, E. F.; DAMATTA, F. M. The functional divergence of biomass partitioning, carbon gain and water use in *Coffea canephora* in response to the water supply: Implications for breeding aimed at improving drought tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, v.87, p.49-57, 2013.

RAMALHO, J. C.; RODRIGUES, A. P.; LIDON, F. C.; MARQUES, L. M. C.; LEITÃO, A. E.; FORTUNATO, A. S.; et al. Stress cross-response of the antioxidative system promoted by superimposed drought and cold conditions in *Coffea* spp. *PLoS ONE*, v. 13(6), 2018.

REICH, P. B.; ELLSWORTH, D. S.; WALTERS, M. B. Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis–nitrogen relations: evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology*, v.12, n.6, p.948-958, 1998.

RENA, A.B.; GUIMARÃES, P.T.G. Sistema radicular do cafeeiro: estrutura, distribuição, atividade e fatores que o influenciam. 2000. In: DE MELO, B.; DE SOUSA, L. B. *Biologia da Reprodução de Coffea arabica. L. e Coffea canephora Pierre*. Revista Verde, v. 6, p. 01-07, 2011.

RODRIGUES, W. P.; MARTINS, L. D.; PARTELLI, F. L.; LIDON, F. J. C.; LEITÃO, A. E.; RIBEIRO-BARROS, A. I. DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. C. Interação de altas temperaturas e déficit hídrico no cultivo de café Conilon (*Coffea canephora Pierre ex A. Froehner*). In: PARTELLI, F. L.; BONOMO, R. *Café Conilon: o clima e manejo da planta*. Alegre, ES: CCAUFES, cap. 3, p. 39-51, 2016.

RONCHI, C. P.; DAMATTA, F. M. Aspectos fisiológicos do café conilon. In: FERRÃO, G. F. et al. (Orgs.). *Café Conilon*. Vitória: Incaper, p. 94-119, 2007.

SEAG. Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca. Governo do Estado do Espírito Santo. Vitória, ES. 2015. Disponível em: <<https://seag.es.gov.br/cadeia-produtiva-do-conilon-e-tema-de-oficina>> Acesso em: 05 jun. 2018.

SILVA, E. C.; SILVA, M. F. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B. Growth evaluation and water relations of *Erythrina velutina* seedlings in response to drought stress. *Braz. J. Plant Physiol.*, v. 22, p. 225-233, 2010.

SILVA, J. G. F.; REIS, E. F. Irrigação do Cafeeiro Conilon. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A., BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Eds.). *Café Conilon*. Vitória, Seag/Incaper, cap. 13, p. 345-373, 2007.

SILVA, P. E. M. The functional divergence of biomass partitioning, carbon gain and water use in *Coffea canephora* in response to the water supply: Implications for breeding aimed at improving drought tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, v. 87, p. 49-57, 2013.

SILVA, V. A.; ANTUNES, W. C.; GUIMARÃES, B. L. S.; PAIVA, R. M. C.; SILVA, V. F.; FERRÃO, M. A. G.; DAMATTA, F. M. LOUREIRO, M. E. Resposta fisiológica de clone de café conilon sensível à deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 45, n. 5, p. 457-464, 2010.

SILVAROLLA, M. B.; MAZZAFERA, P.; FAZUOLI, L. C. A naturally decaffeinated arabica coffee. *Nature*, London, v. 429, p. 826, 2004. In: CARVALHO, C. H. S. *Cultivares de café: origem, características e recomendações*. Brasília: Embrapa Café, p. 334, 2008.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In:

GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (ed.). Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. 1 ed. Fortaleza: INCTSal. cap. 11, p. 161-18, 2010.

SOBREIRA, F. B. S. Respostas morfofisiológicas e herança materna para tolerância à seca em progênies de café conilon. Alegre, 2017. p. 95. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2017.

SURWESWARAN, S.; CAI, Y. Z.; CORKE, H.; SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. Food Chemistry, v. 102, p. 938–953, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Artmed, Porto Alegre, 2006.

TOMAZ, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; DE JESUS JUNIOR, W. C. Desafios para a sustentabilidade da cafeicultura. In: TOMAZ, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; DE JESUS JUNIOR, W. C.; PEZZOPANE, J. R. M. Seminário para a Sustentabilidade da Cafeicultura. Alegre, ES: CCAUFES, cap. 1, p. 13-26, 2008

VARELA, M. C.; ARSLAN, I.; REGINATO, M. A.; CENZANO, A. M.; LUNA, M. V. Phenolic compounds as indicators of drought resistance in shrubs from Patagonian shrublands (Argentina), Plant Physiology et Biochemistry, 2016.

VERSLUES, P.E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J.K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. The Plant Journal, v. 45, p. 523-539, 2006.

VILE, D.; PERVENT, M.; BELLUAU, M.; VASSEUR, F.; BRESSON, J.; MULLER, B.; GRANIER, C.; SIMONNEAU, T. Arabidopsis growth under prolonged high temperature and water deficit: independent or interactive effects? Plant, Cell; Environment, v. 35, p. 702–718, 2012.

WILHELM, C.; SELMAR, D. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. The Journal of Plant Physiology, n.168, p. 79-87, 2011.

ZHU, J. K. Abiotic stress signaling and responses in plants. Cell. v. 167, p. 313-324, 2016.