

LIMITAÇÕES FOTOSSINTÉTICAS EM FOLHAS DE CAFEIEIRO ARÁBICA PROMOVIDAS PELO DÉFICIT HÍDRICO

Anelisa de Figueiredo Peloso¹, Sandro Dan Tatagiba², Edvaldo Fialho dos Reis³,
José Eduardo Macedo Pezzopane⁴, José Francisco Teixeira do Amaral⁵

(Recebido: 24 de setembro de 2016; aceito: 18 de novembro de 2016)

RESUMO: Objetivou-se com este estudo, investigar as limitações fotossintéticas em folhas de café arábica, 'Catuai Vermelho' (IAC 144), submetido ao déficit hídrico, utilizando para isso, os parâmetros de trocas gasosas da fotossíntese [assimilação líquida de CO₂ (*A*), condutância estomática (*g_s*), taxa de transpiração (*E*) e concentração interna de CO₂ (*C_i*)], os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* {fluorescência mínima (*F₀*), fluorescência máxima (*F_m*), eficiência quântica máxima do fotossistema II (*F_v/F_m*), rendimento da fotoquímica [Y(II)], rendimento da dissipação de energia regulada [Y(NPQ)] e o rendimento das perdas de dissipação não regulada [Y(NO)]}, bem como as concentrações de pigmentos cloroplastídicos e o extravasamento de eletrólitos (*EE*) em folhas de plantas cultivadas a 30, 60 e 100% de água disponível (*AD*) no substrato. De acordo com os resultados obtidos foi verificado que o déficit hídrico afetou negativamente a fotossíntese das plantas, seja através da menor eficiência de utilização de energia pelo aparato fotoquímico, quanto por decréscimos significativos obtidos em *g_s*, os quais, estiveram associados à diminuição nos valores de *A*. Redução em Y(II) e aumentos em Y(NPQ) e Y(NO) foram associados ao déficit hídrico, sugerindo que houve diminuição na taxa de transporte de elétrons, levando a um menor aproveitamento da energia luminosa para a fotoquímica. Curiosamente, os valores de *F₀*, *F_m* e *F_v/F_m* não estiveram associados com a perda de função fotoquímica, de clorofilas e ao dano celular provocado pela intensificação do déficit hídrico.

Termos para a indexação: *Coffea arabica*, fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, estresse hídrico.

PHOTOSYNTHETIC LIMITATIONS IN LEAVES OF ARABIC COFFEE PROMOTED BY THE WATER DEFICIT

ABSTRACT: The objective of this study was to investigate the photosynthetic limitations in leaves of *Coffea arabica*, Catuai Vermelho (IAC 144), subjected to water deficit, using this, the parameters of gas exchange photosynthesis [net CO₂ assimilation rate (*A*), stomatal conductance (*g_s*), transpiration rate (*E*) and internal CO₂ concentration (*C_i*)], the chlorophyll fluorescence parameters {minimal fluorescence (*F₀*), maximum fluorescence (*F_m*), maximum quantum efficiency of photosystem II (*F_v/F_m*), yield of photochemical [Y(II)], yield of regulated energy dissipation [Y(NPQ)] and yield of non-regulated dissipation losses [Y(NO)]} as well as on the concentrations of chloroplastidic pigments and the electrolyte leakage (*EE*) in leaves plants grown at 30, 60 and 100% of water available (*WA*) on the substrate. According to the results it was found that the water deficit affected photosynthesis of plants, either through lower efficiency of energy use by the photochemical apparatus, and by significant decreases obtained in *g_s*, which were associated with the decrease in the amounts of *A*. Reduction in Y(II) and increases in Y(NPQ) and Y(NO) have been associated with water deficit, suggesting that there was a decrease in the electron transport rate, leading to less use of light energy for photochemical. Interestingly, the *F₀* values *F_m* and *F_v/F_m* were not associated with the loss of photochemical function, chlorophylls and cell damage caused by the intensification of the water deficit.

Index terms: *Coffea arabica*, fluorescence of chlorophyll *a*, gas exchange, photosynthetic pigments, water stress.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o café (*Coffea arabica* L.) é uma cultura de reconhecida importância econômica e social, devido sua representatividade no volume de produção, consumo interno, pela sua participação na pauta de exportação e na capacidade de geração de emprego e de renda (SAKIWAMA et al., 2015). Na safra 2015/2016, a produção brasileira foi estimada em 43,20 milhões de sacas beneficiadas, representando 30,13% da produção mundial (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION - ICO, 2016). Desse montante, o café arábica

representa em média 76,8% da produção total do café produzido no país (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2016).

Apesar de toda importância do café arábica, a produção tem sido afetada pelas condições climáticas, principalmente devido à ocorrência de períodos cada vez mais prolongados de seca, como consequência do fenômeno do aquecimento global (DAMATTA et al., 2010). Dentre todos os fatores abióticos, o déficit hídrico é o principal fator do ambiente que limita o crescimento e a produtividade das culturas agrícolas (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009). Na cultura do

^{1,3,4,5} Universidade Federal do Espírito Santo/UFES - Campus Alegre - Alto Universitário, s/n - Guararema - 29.500-000 - Alegre - ES - anelisapeloso@hotmail.com, edreis@cca.ufes.br, pezzopane2007@yahoo.com.br, jftamaral@yahoo.com.br

²Instituto Federal do Pará - Campus Itaituba/ IFPA - Estrada Jacarezinho, s/n - Maria Magdalena - 68.180-000 - Itaituba - PA - sandrodantatagiba@yahoo.com.br

café, por exemplo, em períodos de muita seca, a produtividade pode ser reduzida em até 80%, caso não seja adotada a irrigação (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

Assim, a capacidade de adaptação e aclimação à baixa disponibilidade de água no solo, reveste-se de grande importância para o crescimento e a produtividade das culturas (GALLÉ; FELLER, 2007). Uma resposta marcante de plantas submetidas à deficiência hídrica é a redução das taxas transpiratórias. Esse processo envolve o fechamento estomático, com consequente redução da condutância estomática (g_s), que contribui para o aumento ou para a manutenção do potencial hídrico dentro de limites que permitam a manutenção do crescimento vegetal (CAVATTE et al., 2012). No entanto, a redução de g_s leva a um menor influxo de CO_2 para o interior dos cloroplastos (TATAGIBA; PEZZOPANE; REIS, 2015), causando reduções nas taxas fotossintéticas e, em última análise, contribuindo para um menor acúmulo de biomassa pela planta. De fato, reduções em g_s têm sido consideradas como os principais fatores limitantes do processo fotossintético nos estádios iniciais de deficiência hídrica (GALLÉ et al., 2011). Sob condições mais severas de déficit hídrico, reduções nas taxas fotossintéticas podem ocorrer devido à inibição de processos metabólicos específicos como, por exemplo, a fotofosforilação, a capacidade de regeneração da ribulose - 1,5 - bisfosfato (RuBP) e redução de atividade da ribulose 1,5 bifosfato carboxilase oxigenase (Rubisco) e de outras enzimas envolvidas no ciclo de Calvin (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A exposição ao déficit hídrico geralmente leva a um desbalanço entre a absorção e a utilização da energia luminosa nos cloroplastos. Tal desbalanço pode causar um expressivo aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, as quais estão associadas a diversos danos celulares, tais como a oxidação de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, o que, em última instância, pode causar a morte do tecido vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os métodos não-invasivos para avaliar a fotossíntese, tais como, a fluorescência da clorofila a , quando combinados com medições de trocas gasosas, podem fornecer uma análise detalhada de como a planta responde a mudanças no ambiente (ROLFE; SCHOLE, 2010). Na verdade, a técnica de fluorescência clorofila a tem sido utilizado com sucesso numa variedade de estudos para avaliar as interações entre as plantas e estresses abióticos (ROLFE; SCHOLE, 2010; ROUSSEAU et al., 2013). Esta técnica fornece parâmetros únicos

associados com a fotossíntese nas folhas que mapeiam o aparato fotoquímico (KRAUSE; WEIS, 1991; ROLFE; SCHOLE, 2010; ROUSSEAU et al., 2013), permitindo um avanço no conhecimento dos processos fotoquímicos que ocorrem na membrana dos tilacóides dos cloroplastos, além de possibilitar o estudo de características relacionadas à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons (ROUSSEAU et al., 2013). Entre os vários parâmetros de fluorescência de clorofila a que podem ser avaliados, a eficiência máxima na qual a luz é absorvida pelo fotossistema (FS) II, é frequentemente representada pela eficiência quântica máxima da fotoquímica (F_v/F_m), o qual, tem sido amplamente utilizado para comparar tecidos foliares em condições de estresse (ROLFE; SCHOLE, 2010; ROUSSEAU et al., 2013). Esta proporção é próxima ou ligeiramente acima de 0,8 em tecido foliar maduro e livre de estresse, porém, é progressivamente reduzido à medida que danos nos centros de reação FS II são acentuados (KRAUSE; WEIS, 1991).

A energia absorvida pelos centros de reação do FS II na fotossíntese pode ser analisada ainda pela fração de energia usada na fotoquímica [Y(II)] e a perdida na não-fotoquímica, a qual pode ser separada em duas concorrentes: o rendimento induzido pelo processo de dissipação térmica regulada [Y(NPQ)] e o rendimento da dissipação não regulada [Y(NO)], a que se refere a perda de energia na forma constitutiva nas antenas do FS II e via fluorescência. Normalmente, o estresse provocado por algum fator ambiental na planta, como por exemplo, o déficit hídrico, pode levar a uma redução inicial em Y(II), um aumento em Y(NPQ) e um declínio em F_v/F_m , ligado a perda de funcionalidade do aparato fotossintético (KRAUSE; WEIS, 1991; ROLFE; SCHOLE, 2010). Todos estes parâmetros podem rapidamente diminuir à medida que é intensificado o déficit hídrico, levando a danos as estruturas dos cloroplastos e a limitações bioquímicas na fotossíntese.

Dessa forma, o objetivo com este estudo foi investigar as limitações fotossintéticas em folhas de cafeeiro arábica, 'Catuaí Vermelho' (IAC 144), submetidos a diferentes déficits hídricos e compará-los com as plantas mantidas com água no substrato próximo a capacidade de campo, utilizando para tal finalidade, as análises de trocas gasosas, os parâmetros fornecidos pela fluorescência da clorofila a , as concentrações de pigmentos fotossintéticos e o extravasamento de eletrólitos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, material experimental e substrato

O experimento foi realizado em casa de vegetação climatizada, na área experimental do Núcleo de Estudos e Difusão de Tecnologia em Florestas, Recursos Hídricos e Agricultura Sustentável (NEDTEC), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), localizado no município de Jerônimo Monteiro, situado na latitude 20°47'25" S, longitude 41°23'48" W e altitude de 120 m.

Assementes para produção das mudas foram obtidas da cultivar de café arábica (*C. arabica*), "Catuaí Vermelho", IAC 144, provenientes do Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural - INCAPER, Venda Nova do Imigrante - ES. As mudas foram formadas em sacos de polietileno perfurados, de cor preta, com as dimensões usuais para mudas de café (0,15 x 0,25 m). Depois de encanteirados, foram semeadas duas sementes por saco plástico. As sementes foram cobertas por substrato, a fim de manter a umidade durante a germinação. Após a germinação das sementes, foi deixada apenas uma plântula por saco plástico. Durante os 20 primeiros dias de desenvolvimento, as mudas foram mantidas em canteiros dentro de viveiro, apresentando 50% de sombreamento. Posteriormente, foram selecionadas quanto à uniformidade e transplantadas para vasos com capacidade de 14 dm³. Os vasos apresentavam furos circulares de 1 cm de diâmetro na parte inferior, permitindo aeração das raízes e escoamento do excesso de água. Durante todo o período experimental as mudas ficaram suspensas em bancadas com aproximadamente 1 m de altura, com dimensões de 2 m de comprimento e 1,20 m de largura.

Após o transplante para os vasos, as mudas cresceram em casa de vegetação, com teor de umidade do substrato próximo à capacidade de campo (CC) (BERNARDO; SOARES; MONTOVANI, 2006) por 130 dias, quando, então, foram iniciados os tratamentos diferenciados de disponibilidade hídrica de 30, 60 e 100% de água disponível (AD), permanecendo por 100 dias, totalizando 230 dias de experimentação.

O substrato utilizado para o enchimento dos vasos foi constituído de solo extraído à profundidade de 40 a 80 cm, de um Latossolo Vermelho-Amarelo (70%), areia lavada (20%) e esterco bovino curtido (10%), destorroado e passado em peneira de 2,0 mm para obtenção da terra fina seca ao ar. Foi realizada análise granulométrica do substrato (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 1997), obtendo-se a classificação textural argilo-arenoso (Tabela 1).

A necessidade da aplicação de corretivos e adubos químicos foi feita com base na análise química do substrato (Tabela 2). No plantio não foi necessário fazer adubação e correção da acidez do solo. Durante o período experimental foram realizadas quatro adubações de cobertura em intervalos de 45 dias, até o final do experimento, conforme preconizado por Prezotti et al. (2007).

As adubações foram realizadas de modo a fornecer 1,20 mg de nitrogênio e 1,25 mg de potássio para cada vaso, aplicados na forma de uréia e cloreto de potássio. Os adubos foram diluídos em frasco contendo 100 mL de água.

Também foi utilizado o fertilizante osmocote de formulação (15-10-10), parcelado em cobertura. As adubações foram realizadas de modo a fornecer 0,10 kg do adubo para cada vaso.

TABELA 1 - Análise granulométrica das proporções existentes de cada fração no solo.

Areia grossa (0,201mm)	Areia Fina (0,053mm)	Areia Total	Argila (<0,002mm)	Silte
(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)
334	196	530	440	30

TABELA 2 - Análise química do substrato.

pH	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	C	M.O
H ₂ O	----- (mg dm ⁻³) -----			----- (cmol _c dm ⁻³) -----			----- (g kg ⁻¹) -----		
7,3	35	100	2	2,8	1,2	0,0	0,0	3,1	5,3

2.2 Lâmina de irrigação e água disponível

Para determinação da lâmina de água, amostras do substrato deformadas e previamente peneiradas, foram saturadas por 12 horas (EMBRAPA, 1997) e levadas à câmara de pressão de Richards com placa porosa para estabilização, adotando-se um tempo de três dias e posterior determinação da umidade gravimétrica (U), correspondente às tensões de 0,010 MPa para capacidade de campo e 1,5 MPa para o ponto de murcha permanente. A umidade volumétrica (θ) para cada uma das tensões foi obtida pelo produto da umidade gravimétrica pela densidade do solo ($\theta = U \cdot D_s$). Os valores médios, resultantes de três repetições para densidade do solo, umidade gravimétrica na capacidade campo e no ponto de murcha permanente para o cálculo dos níveis de água, foram 1,04 g cm⁻³; 23,9 e 14,5%, respectivamente.

A água disponível (AD) encontrada foi de 9,4%, calculada observando-se os valores de umidade volumétrica obtida para a capacidade de campo (CC) em 23,9% determinada na tensão de 0,010 MPa e para o ponto de murcha permanente (PMP) em 14,5 % na tensão de 1,5 MPa, utilizando-se a seguinte expressão: $AD = CC - PMP$ (CENTURION; ANDREOLI, 2000). Os valores médios de umidade volumétrica e da tensão utilizados foram ajustados pelo modelo matemático proposto por Vangenuchten (1980), através do software Soil Retention Curves (SWRC), versão 2.0.

Para o estabelecimento da disponibilidade hídrica, foram utilizadas três lâminas de água, definidas a partir da água total disponível, com valores de 30, 60 e 100% (EMBRAPA, 1997). O controle da irrigação foi realizado pelo método gravimétrico (pesagem diária dos vasos), adicionando-se água até que a massa do vaso atingisse o valor prévio determinado em cada lâmina, considerando-se a massa do solo e de água (DARDENGO; REIS; PASSOS, 2010). Ajustes nos pesos dos vasos foram realizados em intervalos de 40 dias, até o final do experimento, considerando a massa fresca total obtida pelas plantas durante o crescimento.

2.3 Obtenção dos dados microclimáticos

Para obtenção dos dados microclimáticos, foi instalada uma estação meteorológica automática no interior de cada casa de vegetação climatizada. Nas estações estavam acoplados sensores de temperatura e umidade relativa do ar modelo

CS500 (Vaisala, Estados Unidos da América). Os dados foram coletados e armazenados por um “datalogger”, modelo CR10x (Campbell Scientific, Estados Unidos da América). O tempo de leitura foi de dez segundos, e os dados médios foram armazenados a cada 15 minutos. Durante o período experimental a temperatura média foi de 23°C e a umidade relativa média do ar registrada foi de 85%.

2.4 Determinação do teor relativo de água (TRA)

Aos 230 dias de experimentação, a quantificação do TRA foi realizada conforme metodologia descrita por Maia et al. (2007), com algumas modificações. Foram coletadas amostras de 7 cm² de tecidos foliares maduros retiradas a partir da parte externa do terço superior das plantas de cada repetição por tratamento e imediatamente pesadas para obtenção da massa fresca (P1). Posteriormente, foram colocadas para hidratar no escuro por 12 h obtendo o peso da massa túrgida (P2). Para obtenção do peso da massa seca (P3) as amostras foram colocadas em estufa de ventilação forçada de ar à 75 °C por 48 h. O TRA foi calculado pela seguinte fórmula:

$$TRA = [(P1-P3)/(P2-P3)] \times 100$$

As amostras foram coletadas no horário compreendido entre 5:00 h a 5:30 h (antemanhã), momento em que as folhas apresentavam máxima turgidez e menores perdas por transpiração.

2.5 Determinação do extravasamento de eletrólitos (EE)

Aos 230 dias de experimentação, a quantificação da concentração de eletrólitos extravasados foi realizada conforme metodologia descrita Resende et al. (2012), com algumas modificações. Foram coletadas amostras de 7 cm² de tecido foliar maduro a partir da parte externa do terço superior das plantas de cada repetição por tratamento. As amostras obtidas foram lavadas por duas vezes em água deionizada imediatamente após o corte. Em seguida, foram incubados em 60 mL de água deionizada a 25°C. Após quatro horas, foi realizada a primeira leitura da condutividade elétrica (CE1) em condutivímetro (Tecnoiponm CA-150 - MS Tecnoipon Instrumentação Científica). Logo em seguida, foram incubadas a 90°C, por duas horas, sendo, então, determinada a condutividade elétrica novamente (CE2). O valor do extravasamento de eletrólitos foi obtido

pela porcentagem de eletrólitos extravasados em relação aos eletrólitos totais conforme a seguinte fórmula:

$$EE(\%) = \left(\frac{CE1}{CE2} \right) \times 100$$

2.6 Determinação da concentração dos pigmentos fotossintéticos

Aos 230 dias de experimentação foram coletadas amostras de tecidos foliares maduros retiradas a partir da parte externa do terço superior das plantas de cada repetição por tratamento para a determinação da concentração dos pigmentos fotossintéticos. As amostras foram mantidas em nitrogênio líquido durante a coleta e, em seguida, armazenadas a -80 °C até posterior análise. A clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides foram extraídos em acetona a 80% e suas concentrações foram estimadas conforme Lichtenthaler (1987). Todo o procedimento foi realizado em ambiente fechado sob luz verde.

2.7 Avaliação das trocas gasosas e da fluorescência da clorofila *a*

Faltando 15 dias para o término do experimento foi realizada a avaliação dos parâmetros de trocas gasosas usando um sistema portátil de gases a infravermelho de fluxo aberto (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE, EUA). A assimilação líquida de carbono (*A*), a condutância estomática ao vapor de água (*g_s*), a taxa transpiratória (*E*) e a concentração interna de CO₂ (*C_i*) foram avaliadas em folhas totalmente expandidas do terço superior das plantas de cada repetição por tratamento em dois dias consecutivos. As medidas foram realizadas das 09:00 às 10:30 horas, momento em que *A* encontrava em seu máximo valor, sob radiação fotossinteticamente ativa artificial de 1.000 μmol de fótons m⁻² s⁻¹ no nível folha e 400 μmol de CO₂ mol⁻¹ de ar. Todas as medições foram realizadas a 25 °C e o déficit de pressão de vapor foi mantido a aproximadamente 1,0 kPa.

Na antemã, foi obtida a fluorescência mínima (*F₀*) via excitação dos tecidos foliares por luz vermelha modulada de baixa intensidade (0,03 μmol fótons m⁻² s⁻¹), quando todos os centros de reação do FS II estavam “abertos”. A fluorescência máxima (*F_m*) foi obtida pela aplicação de um pulso de 0,8 s de luz actínica saturante (2400

μmol fótons m⁻² s⁻¹), quando todos os centros de reação do FS II foram “fechados”. A partir destas medições iniciais, a eficiência máxima na qual a luz é absorvida pelo FS II foi estimada através da eficiência quântica máxima da fotoquímica pela determinação da razão: $F_v/F_m = [(F_m - F_0)/F_m]$. Os tecidos foliares foram subsequentemente expostos a irradiação actínica (530 μmol m⁻² s⁻¹) por 120 s para obter o rendimento de fluorescência no estado estacionário (*F_s*). Após um pulso de luz branca saturante (2400 μmol m⁻² s⁻¹; 0,8 s) foi aplicada para atingir a máxima fluorescência adaptada a luz (*F_m'*). A fluorescência inicial adaptada a luz (*F₀'*) foi estimada de acordo com Oxborough (2004). Seguindo os cálculos formulados por Kramer et al. (2004), foram determinadas a energia absorvida pelo FS II para os três componentes de dissipação do rendimento quântico a seguir: o rendimento da fotoquímica [$Y(II) = (F_m' - F_s)/F_m'$], o rendimento induzido pelo processo de dissipação regulada [$Y(NPQ) = (F_s/F_m') - (F_s/F_m)$] e o rendimento de dissipação não regulada de energia [$Y(NO) = F_s/F_m$] (KRAUSE; WEIS, 1991).

As avaliações dos parâmetros de fluorescência de clorofila *a* foram realizadas nas mesmas folhas e intervalos de dias em que foram avaliadas as trocas gasosas.

2.8 Delineamento experimental e análise estatística dos dados

O experimento foi montado num delineamento inteiramente casualizado, utilizando três tratamentos de disponibilidades hídricas (30, 60 e 100% da AD), com seis repetições. A parcela para as avaliações foi constituída de uma planta por vaso. Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando o software SISVAR®, versão 5.1.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *TRA* foi significativamente reduzido à medida que diminuía a água disponível no substrato (Figura 1a). As plantas sob 30 e 60% de AD apresentaram reduções significativas no *TRA* de 68 e 24%, respectivamente, quando comparadas com as plantas mantidas a 100% de AD. O *TRA* é uma boa referência das condições hídricas da planta, particularmente durante períodos de seca e no presente trabalho observa-se que a imposição do déficit hídrico causou redução no *TRA* das plantas, indicando que a condição imposta afetou o conteúdo de água nas folhas. A redução do *TRA*

nos tecidos foliares à medida que se intensifica o déficit hídrico, sugere que a planta passou por uma desidratação do protoplasma, podendo ter prejudicado os processos vitais de crescimento celular. De fato, observou-se que a redução na disponibilidade hídrica promoveu prejuízos as membranas celulares. O aumento significativo do EE encontrado nas plantas sob 30% de AD quando comparadas com as plantas mantidas a 60 e 100% de AD é um indicativo de danos às membranas (Figura 1b). Resultados similares foram encontrados por Lima et al. (2002), onde o estresse promovido pelo déficit hídrico aumentou significativamente o EE em folhas de clones de *C. canephora* Pierre ex A. Froehner. Tal fato pode resultar no aumento da fluidez das membranas, o que pode levar a uma fuga de eletrólitos dos compartimentos celulares, tal como sugerido por Langaro (2014). Dessa forma, percebe-se claramente, que o déficit hídrico aplicado foi suficiente para causar danos celulares, indicando que a cultivar utilizada no presente estudo é sensível ao déficit hídrico de maior intensidade (30% de AD).

Decréscimos significativos na ordem de 16 e 10% para a concentração de clorofila $a + b$ foram encontrados nas plantas sob 30 e 60% de AD, respectivamente, quando comparadas com as plantas mantidas na capacidade de campo (100% da AD) (Figura 2a), evidenciando que o déficit hídrico contribuiu de forma decisiva para diminuir a concentração das clorofilas.

Araújo (2008) ressalta que é necessária uma diminuição no teor de água na folha suficientemente grande para promover a degradação das clorofilas. DaMatta, Maestri e Barros (1997) estudando o efeito do estresse hídrico em plantas de *C. arabica*, cultivar 'Catuaí Vermelho' não encontraram diferenças significativas na concentração da clorofila $a + b$, apesar de ser uma cultivar sensível à seca. Provavelmente, o tempo de exposição ao déficit hídrico severo (potencial hídrico foliar de -2,7 MPa) de 9 dias, imposto por DaMatta, Maestri e Barros (1997) não foi suficiente para promover alterações no conteúdo das clorofilas. Da mesma maneira como aconteceu para a concentração de clorofila $a + b$, a razão clorofila a/b foi significativamente reduzida à medida que diminuía o conteúdo de água disponível no substrato (Figura 2b). Resultados semelhantes, foram encontrados por DaMatta, Maestri e Barros (1997) em *C. canephora* submetido ao déficit hídrico, onde o conteúdo de clorofila b foi

significativamente aumentado em 37% quando comparado com as plantas mantidas hidratadas, levando assim, à redução na razão de clorofila a/b . Valores ótimos para a razão clorofila a/b estão próximos de 3 (TAIZ; ZEIGER, 2013). Fica evidente, dessa forma, que tanto a concentração de clorofila $a + b$ quanto sua razão, foram negativamente afetadas pelo déficit hídrico.

Diferentemente das clorofilas, os carotenóides não apresentaram diferenças significativas à medida que intensificou o déficit hídrico (Figura 2c). Cavatte et al. (2012) estudando o efeito do déficit hídrico sobre o crescimento e a fisiologia de *C. arabica*, também não encontraram diferenças significativas na concentração de carotenóides.

A fotossíntese é um dos principais drenos de elétrons nos cloroplastos e reduções nesse processo em condições de déficit hídrico podem gerar um quadro potencialmente danoso ao metabolismo celular (TAIZ; ZEIGER, 2013). Nessas situações, as plantas tendem a absorver uma quantidade de energia maior do que são capazes de utilizar, gerando, assim, um desbalanço energético que é um dos principais responsáveis pelo aumento de produção de espécies reativas de oxigênio podendo levar a danos celulares (TATAGIBA et al., 2016). Contudo, o déficit hídrico não foi suficiente para causar alterações nos valores de F_0 , F_m e principalmente em F_v/F_m (Figuras 3 a, b e c), este último parâmetro, um indicativo de que as plantas de *C. arabica* expostas à seca podem não ter sofrido fotoinibição, mantendo a integridade da proteína D1 do FS II (TAIZ; ZEIGER, 2013). Estudos anteriores relatam uma alta estabilidade da eficiência fotoquímica do FS II ao déficit hídrico em *C. canephora* (DAMATTA; MAESTRI; BARROS, 1997) e *C. arabica* (CAVATTE et al., 2012).

Ao contrário dos resultados encontrados para a eficiência fotoquímica do FS II (F_v/F_m), os rendimentos fotoquímicos [Y(II)] e não fotoquímicos [Y(NPQ) e Y(NO)] apresentaram alterações com a intensificação do déficit hídrico. Decréscimo significativo de 63% em Y(II) foi encontrado nas plantas mantidas sob déficit hídrico severo (30% de AD) quando comparadas com as plantas mantidas na capacidade de campo (100% de AD) (Figura 3d), evidenciando que uma menor quantidade de energia de excitação foi dissipada para a síntese de ATP (adenosina trifosfato) e NADPH (Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) nos cloroplastos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

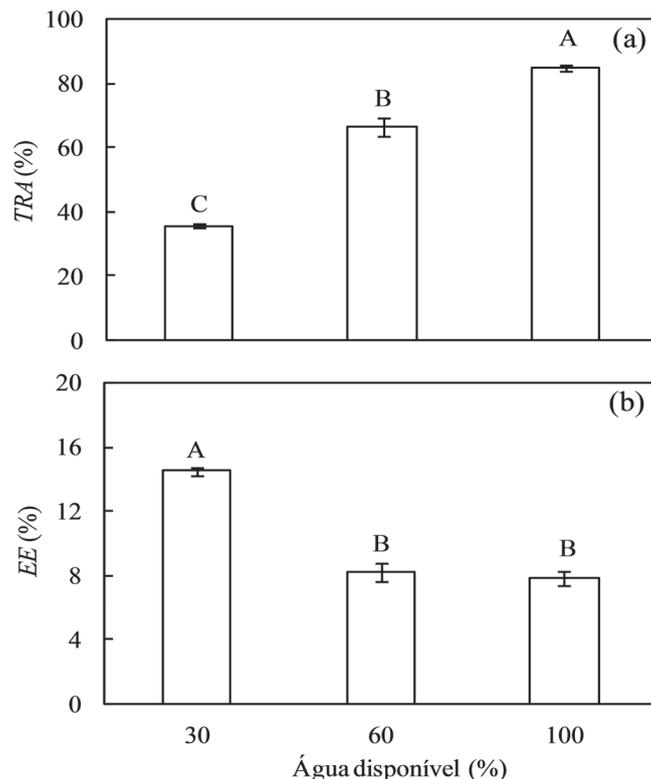


FIGURA 1 - Teor relativo de água (*TRA*) (a) e extravazamento de eletrólitos (*EE*) (b) em folhas de *Coffea arabica*, sob diferentes disponibilidades hídricas no substrato. Médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferenciam entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey. Barras em cada ponto dos gráficos representam o erro padrão da média.

Esta constatação, juntamente com as menores concentrações de clorofilas nas plantas sob déficit hídrico, indica uma menor absorção e uso da luz, o que pode ter diminuído a taxa de transporte de elétrons através dos fotossistemas (KRAUSE; WEIS, 1991). Por sua vez, aumentos significativos de 9 e 10% em *Y(NPQ)* foram encontrados nas plantas sob 30% de AD em relação às plantas mantidas em 60 e 100% de AD (Figura 3e), respectivamente, sugerindo que uma maior quantidade energia de excitação foi dissipada na forma de calor, indicando, portanto, que o déficit hídrico severo, favoreceu a dissipação de energia não fotoquímica em contrapartida da dissipação de energia fotoquímica, promovendo assim efeitos negativos na fotossíntese. Em adição, o aumento significativo de 15% em *Y(NO)* verificado no tratamento de 30% de AD em comparação com as plantas mantidas na capacidade de campo (100% de AD) (Figura 3f), evidencia que o déficit hídrico contribuiu de forma efetiva para aumentar a dissipação de energia na forma não regulada, representando a energia perdida de forma constitutiva nas antenas

do FS II e pela fluorescência, favorecendo ainda mais a dissipação da energia para os eventos não fotoquímicos. Entretanto, em condições de déficit hídrico, fica claro, que a energia de excitação foi direcionada para ambos os eventos, fotoquímico e não fotoquímico, de uma forma eficiente. Coletivamente, estas respostas são consistentes com uma menor utilização da energia de excitação fotoquímica para conduzir menores taxas *A* nas folhas das plantas sob déficit hídrico.

Pode-se constatar que além da menor utilização de energia fotoquímica nas folhas das plantas sob déficit hídrico, decréscimos significativos em g_s também estiveram associados aos menores valores de *A* (Figuras 4a e 4b). O fechamento estomático é o principal mecanismo de controle das trocas gasosas nas plantas superiores terrestres em condições de déficit hídrico (DAMATTA; RAMALHO, 2006; TATAGIBA et al., 2009). O funcionamento dos estômatos constitui um comprometimento fisiológico, pois, quando abertos, permitem a assimilação de CO_2 e a perda de H_2O . Fechando-se, reduz a entrada de CO_2 para os sítios de carboxilação da rubisco

no interior dos cloroplastos e conservam H_2O , reduzindo o risco de desidratação (TATAGIBA; PEZZOPANE; REIS, 2015).

Observa-se ainda que à medida que foi intensificado o déficit hídrico os valores de E foram significativamente reduzidos (Figura 4c). Segundo Ronchi et al. (2015), à medida que a disponibilidade de água no solo diminui, os valores de E decrescem, como resultado do fechamento dos estômatos. Esse é um dos importantes mecanismos de defesa que as plantas apresentam contra as perdas exageradas de água e eventual morte por dessecação (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Em última análise, é importante notar, que as plantas sob déficit hídrico mostraram decréscimos em A e g_s , sem alterações de F_v/F_m , os quais estiveram associados a aumentos significativos em C_i (Figura 4d), sugerindo indicar que a fotossíntese foi principalmente limitada por fatores bioquímicos. Embora faltassem dados para mensurar a concentração CO_2 nos cloroplastos [o que seria de extrema importância para provar limitações bioquímicas (GALMÉS et al., 2011)], pode-se esperar que a limitação bioquímica esteja ligado à rubisco.

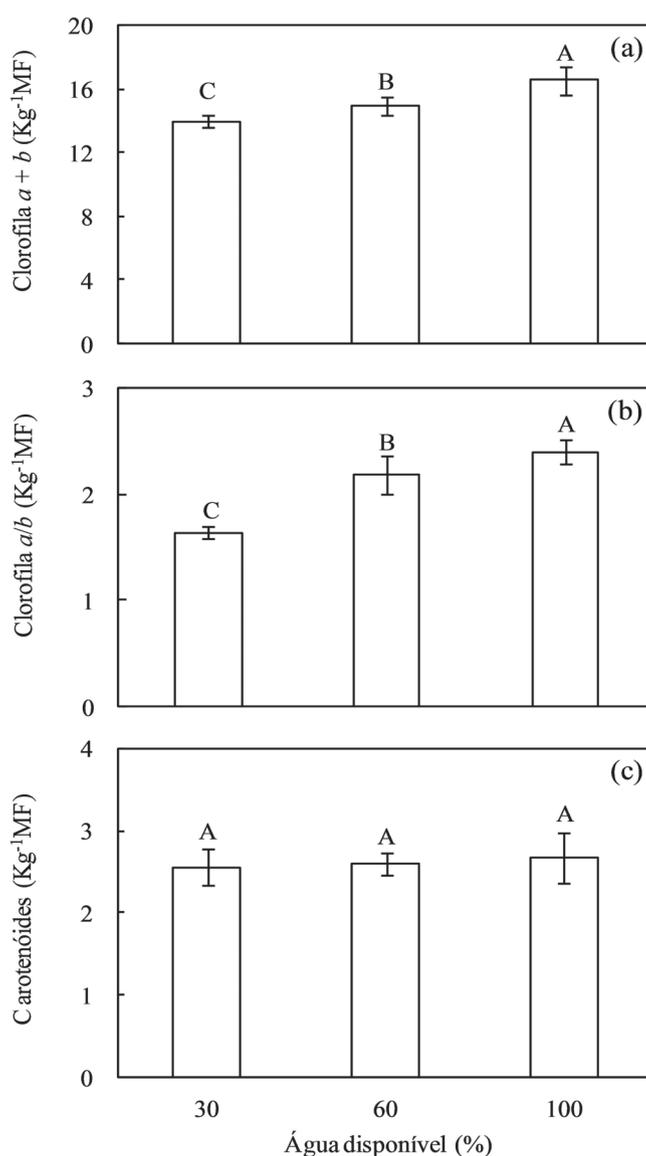


FIGURA 2 - Clorofila $a + b$ (a), razão clorofila a/b (b) e carotenóides (c) em folhas de *Coffea arabica*, sob diferentes disponibilidades hídricas no substrato. Médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferenciam entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey. Barras em cada ponto dos gráficos representam o erro padrão da média.

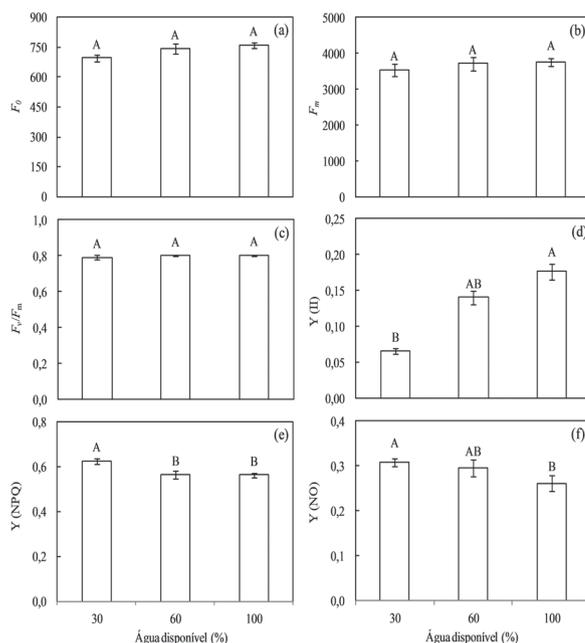


FIGURA 3 - Fluorescência mínima (F_0) (a), fluorescência máxima (F_m) (b), rendimento quântico máximo do FS II (F_v/F_m) (c), rendimento quântico efetivo do FSII $Y(II)$ (d), rendimento quântico da dissipação regulada $Y(NPQ)$ (e) e rendimento quântico da dissipação não regulada $Y(NO)$ (f) em folhas de *Coffea arabica*, sob diferentes disponibilidades hídricas no substrato. Médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferenciam entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey. Barras em cada ponto dos gráficos representam o erro padrão da média.

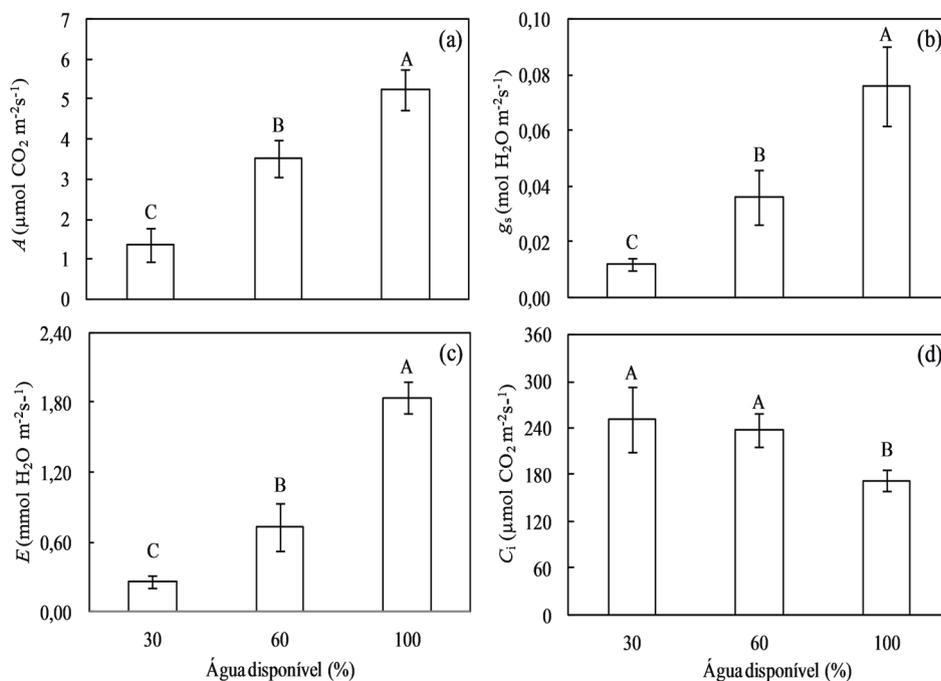


FIGURA 4 - Assimilação líquida de CO_2 (A) (a), condutância estomática (g_s) (b), taxa transpiratória (E) (c) e concentração interna de CO_2 (C_i) (d) em folhas de *Coffea arabica*, sob diferentes disponibilidades hídricas no substrato. Médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferenciam entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey. Barras em cada ponto dos gráficos representam o erro padrão da média.

4 CONCLUSÕES

As plantas de café arábica, 'Catuaí Vermelho' (IAC 144), cultivadas sob déficit hídrico apresentaram redução em A , o qual esteve associado a decréscimos em g_s , a menor utilização de energia fotoquímica [$Y(II)$] e a aumentos na dissipação de energia na forma de calor [$Y(NPQ)$] e de fluorescência [$Y(NO)$], indicando uma diminuição da taxa de transporte de elétrons e do aproveitamento da energia luminosa para a síntese de ATP e NADPH no aparato fotossintético.

5 REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, W. L. Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 46, n. 10, p. 884-890, Oct. 2008.
- BERNARDO, S.; SOARES, A. A.; MANTOVANI, E. C. **Manual de irrigação**. 8. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2006. 625 p.
- CAVATTE, P. C. et al. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee?: a morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 144, n. 2, p. 111-122, Feb. 2012.
- CENTURION, J. F.; ANDREOLI, I. Regime hídrico de alguns solos de Jaboticabal. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 701-709, out./dez. 2000.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 4, p. 551-560, Feb. 2009.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: café**. Brasília, DF, 2016. 68 p.
- DAMATTA, F. M. et al. Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. **Food Research International**, Kidlington, v. 43, n. 7, p. 1814-1823, Aug. 2010.
- DAMATTA, F. M.; MAESTRI, M.; BARROS, R. S. Photosynthetic performance of two coffee species under drought. **Photosynthetic**, Prague, v. 34, n. 2, p. 257-264, Jan. 1997.
- DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impact of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 55-81, Jan./Mar. 2006.
- DARDENGO, M. C. J. D.; REIS, E. F.; PASSOS, R. R. Influência da capacidade de campo na taxa de crescimento do cafeeiro conilon. **Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 1, p. 33-38, jan./mar. 2010.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.
- GALLÉ, A. et al. The Mediterranean evergreen *Quercus ilex* and the semi deciduous *Cistus albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimation to repeated drought and re-watering cycles. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 14, p. 1-10, Oct. 2011.
- GALLÉ, A.; FELLER, U. Changes of photosynthetic traits in beech saplings (*Fagus sylvatica*) under severe drought stress and during recovery. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 131, n. 3, p. 412-421, Nov. 2007.
- GALMÉS, J. et al. Physiological and morphological adaptations in relation to water use efficiency in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 2, p. 653-665, Feb. 2011.
- INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Trade statistic tables**. Disponível em: <http://www.ico.org/trade_statistics.asp>. Acesso em: 5 ago. 2016.
- KRAMER, D. M. et al. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 79, p. 209-218, 2004.
- KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Reviews Plant Physiology**. Plant Molecular Biology, Zurich, v. 42, n. 1, p. 313-349, June 1991.
- LANGARO, A. C. Alterações fisiológicas na cultura do tomateiro devido à deriva simulada de herbicidas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 13, n. 1, p. 40-46, jan./abr. 2014.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. In: DOUCE, R.; PACKER, L. (Ed.). **Methods enzymology**. New York: Academic, 1987. p. 350-832.
- LIMA, A. L. S. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, Gothenburg, v. 47, n. 3, p. 239-247, May 2002.

- MAIA, P. S. P. et al. Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 918-920, jul, 2007.
- OXBOROUGH, K. Using chlorophyll a fluorescence imaging to monitor photosynthetic performance. In: GOVINDJEE, P. G. (Ed.). **Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis**. Dordrecht: Springer, 2004. p. 409-428.
- PREZOTTI, L. C. et al. **Manual de recomendação de calagem e adubação para o Estado do Espírito Santo: 5ª aproximação**. Vitória: SEEA/INCAPER/CEDAGRO, 2007. 305 p.
- RESENDE, R. S. et al. Leaf gas exchange and oxidative stress in *Sorghum* plants supplied with silicon and infected by *Colletotrichum sublineolum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 102, n. 9, p. 892-898, Sept. 2012.
- ROLFE, S. A.; SCHOLE, J. D. Chlorophyll fluorescence imaging of plant-pathogen interactions. **Protoplasma**, Bethesda, v. 247, n. 3/4, p. 163-175, Dec. 2010.
- RONCHI, C. P. et al. Respostas ecofisiológicas de cafeeiros submetidos ao déficit hídrico para concentração da florada no Cerrado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 1, p. 24-32, jan. 2015.
- ROUSSEAU, C. et al. High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. **Plant Methods**, Melbourne, v. 9, p. 1-13, June 2013.
- SAKIYAMA, N. et al. **Café arábica do plantio a colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015. 316 p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.
- TATAGIBA, S. D. et al. Changes in gas exchange and antioxidant metabolism on rice leaves infected by *Monographella albescens*. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 41, n. 1, p. 33-41, fev. 2016.
- TATAGIBA, S. D. et al. Desempenho de clones de eucalipto em resposta da disponibilidade de água no substrato. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 17, n. 3, p. 179-189, maio/jun. 2009.
- TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. Fotossíntese em *Eucalyptus* sob diferentes condições edafoclimáticas. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 336-345, jul./ago. 2015.
- VANGENUCHTEN, M. T. A closed-form for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 41, n. 5, p. 892-898, Sept. 1980.