

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO**

**FRANCIELE BARROS DE SOUZA SOBREIRA**

**Respostas morfofisiológicas e herança materna para tolerância à  
seca em progênies de café conilon.**

**ALEGRE, ES**

**2017**

FRANCIELE BARROS DE SOUZA SOBREIRA

**Respostas morfofisiológicas e herança materna para tolerância à  
seca em progênies de café conilon.**

Tese apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Doutora em Genética e Melhoramento.

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup> Taís Cristina Bastos Soares.

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Maria Amélia Gava Ferrão

ALEGRE, ES  
FEVEREIRO – 2017

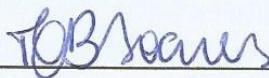
FRANCIELE BARROS DE SOUZA SOBREIRA

**Respostas morfofisiológicas e herança materna para tolerância à  
seca em progênies de café conilon.**

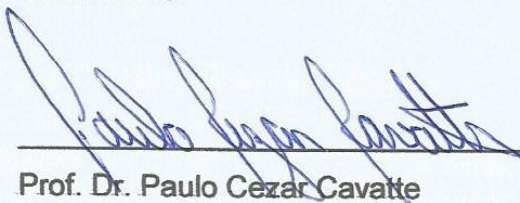
Tese apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Doutora em Genética e Melhoramento.

Aprovada: 22 de fevereiro de 2017

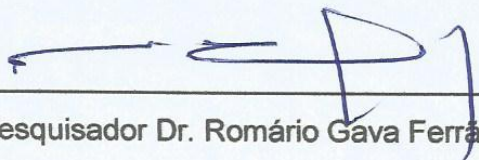
**COMISSÃO EXAMINADORA**



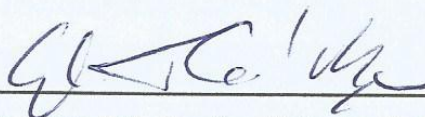
Prof. Dr<sup>a</sup>. Taís Cristina Bastos Soares  
Orientadora



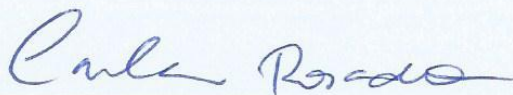
Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte



Pesquisador Dr. Romário Gava Ferrão



Pesquisadora Dr<sup>a</sup>. Eveline Teixeira Caixeta



Pesquisadora Dr<sup>a</sup> Carla Cristina Gonçalves Rosado

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

Sobreira, Franciele Barros de Souza, 1987-

S677r      Respostas morfofisiológicas e herança materna para tolerância à seca em progênies de café conilon / Franciele Barros de Souza Sobreira. – 2017.  
95 f. : il.

Orientador: Taís Cristina Bastos Soares.

Coorientador: Maria Amélia Gava Ferrão.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Café – Pesquisa. 2. Estresse hídrico. 3. Herança extracromossômica. 4. Fenologia vegetal. 5. Análise química. 6. Análise morfológica. 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: 575:631

---

**DEDICO**

*Aos meus queridos pais,  
Geraldo e Áurea,*

*Ao meu amado esposo,  
Rodrigo.*

*“Ninguém é suficientemente perfeito, que não possa aprender com o outro e, ninguém é totalmente destituído de valores que não possa ensinar algo ao seu irmão”.*

*São Francisco de Assis*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde, força, coragem para prosseguir diante às dificuldades e ter me proporcionado vencer mais esta etapa da minha vida.

Aos meus pais, Áurea e Geraldo, pelo apoio, incentivo, amparo e por terem sempre acreditado em mim.

Aos meus irmãos, Fabiana, Fabíola e Fábio, e todos os meus familiares, pela torcida e motivação.

Ao meu esposo Rodrigo pelo amor incondicional, paciência, por ser meu porto seguro, companheiro inseparável e me ajudar sempre quando percebe que eu não consigo sozinha. Dedicou dias de folga e férias para me acompanhar nos trabalhos de campo, me auxiliando, sendo meu braço direito, para que todo experimento fosse conduzido da melhor maneira. Obrigada por sempre fazer de tudo para me deixar feliz.

Aos familiares do meu esposo, Elian, Sérgio, Elaine e Vinícius, por estarem sempre comigo, me ajudando com palavras e com os afazeres do dia-dia, principalmente quando os trabalhos de pesquisa apertam.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade de realizar o doutorado. A Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pela concessão da bolsa de pesquisa e taxa de bancada, que foram essenciais para condução deste trabalho.

A Secretária da pós-graduação Sabrina, por todos os esclarecimentos com excelência em atendimento.

Ao Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência técnica e Extensão Rural (Incaper) por todo auxílio nos trabalhos de campo e hospedagem na fazenda. Agradecimento especial ao Paulinho, Verdim, Marcone e Marciano, pelos direcionamentos no campo, sempre sendo companhias agradáveis, com boa vontade e se preocupando em nos oferecer auxílio quando percebiam que o trabalho estava pesado.

A Dr<sup>a</sup>. Maria Amélia Gava Ferrão pela parceria e nos ter permitido trabalhar com suas populações de café.

A comissão examinadora, Dr. Romário Gava Ferrão, Dr<sup>a</sup>. Eveline Teixeira Caixeta e ao Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte, por terem aceitado o nosso convite de participação da banca de defesa do trabalho.

Ao Professor Paulo Cezar, que me ensinou tudo! Sem ele não teria conseguido! Não mediu esforços para me ajudar, foi ao campo, no laboratório, me recebeu em sua sala sempre com boa vontade e atendia meus telefonemas de desespero, principalmente quando o Irga apresentava alguma alteração. Professor, não tenho palavras para te agradecer, muito obrigada!

A professora Taís, minha orientadora, mãe acadêmica desde 2007, durante todo esse tempo, eu aprendi muito com você! Obrigada pela amizade, pelos ensinamentos, incentivos transmitidos, empenho e cumplicidade na realização deste e muitos outros trabalhos. Tenho certeza que iremos trabalhar muito ainda, a minha tese e a nossa relação não terminam aqui.

A todos os integrantes do laboratório Bioquímica e Biologia Molecular (BqMol), Carla, Liliana, José Dias, Adelson, Lucimara, Alessandra, Kelmer, Izabela, Edilson, Thammyres, Thayllon, Cássio, Ronald, Ramon, Rodrigo, pelo companheirismo. Em especial agradeço ao Edilson, Thammyres, Thayllon, Cássio, Ronald, Ramon, Rodrigo, Maycon e Vinícius que me auxiliaram nos trabalhos de campo e no laboratório, pela ajuda em todos os momentos durante a realização deste trabalho, fazendo com que tudo se tornasse mais divertido e prazeroso. Aprendi muito com todos, eu não teria conseguido sem a ajuda de vocês, agradeço a Deus pela amizade que compartilhamos, a disponibilidade e paciência de cada um.

Ao Prof. Dr. Marcelo Antônio Tomaz pela permissão no uso do aparelho espectrofotômetro e bloco digestor no laboratório de Nutrição Mineral e a técnica Larissa que me ajudou nas leituras quando havia tempo livre.

A minha eterna república sisterecia, Érica, Schalana e Michele, que mesmo estando longe, estão sempre presentes na minha vida.

Aos amigos e companheiros na missão de Cristo, grupo da pastoral Familiar Frutos da Cruz, Encontros de Jovens com Cristo (EJC), Sociedade de São Vicente de Paulo (SSVP) e Peregrinação de Leigos Cristãos (PLC), pelas orações.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a condução deste trabalho e também àqueles que estiveram presente durante a realização do doutorado.

Foi essencial poder contar com cada um de vocês e também com tantos outros que passaram pelo meu caminho durante esse período. Cada um foi especial à sua maneira, portanto, a todos, meus sinceros agradecimentos.



## SUMÁRIO

RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES .....	xiii
<b>I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>14</b>
1.1. Origem e aspectos botânicos de <i>Coffea canephora</i> .....	14
1.2. Cenário econômico e restrição ambiental na produção de <i>C. canephora</i> .....	15
1.3. Fenologia de <i>C. canephora</i> .....	16
1.4. Respostas das plantas ao déficit hídrico .....	17
1.5. Efeito nas plantas frente ao estresse hídrico .....	19
1.6. Estresse hídrico e tolerância à seca em <i>C. canephora</i> .....	21
1.7. Herança materna .....	23
<b>1.8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>26</b>
<b>II. HIPÓTESE DO TRABALHO .....</b>	<b>33</b>
2.1. Objetivo Geral .....	33
2.2. Objetivos Específicos .....	33
<b>III. CAPÍTULO 1: ANÁLISES DE PARÂMETROS MORFOFIOLÓGICOS EM PROGÊNIES DE CAFÉ CONILON COM PROSPECÇÃO A HERANÇA MATERNA PARA TOLERÂNCIA À SECA .....</b>	<b>34</b>
RESUMO .....	34
<b>3.1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>3.2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>37</b>
3.2.1. Material genético .....	37
3.2.3. Características Morfológicas .....	38
3.2.4. Medições fotossintéticas .....	38
3.2.5. Composição química dos tecidos foliares .....	38
3.2.5.1. Quantificação de clorofilas e carotenoides totais .....	39
3.2.5.2. Quantificação de nitrogênio nítrico .....	39
3.2.5.3. Quantificação nitrogênio orgânico NH <sub>4</sub> .....	40
3.2.5.4. Preparo do extrato etanólico para determinação de compostos fenólicos e aminoácido prolina. ....	40
3.2.5.5. Quantificação de compostos fenólicos solúveis totais .....	41
3.2.5.6. Quantificação do aminoácido prolina .....	41
3.2.6. Análise dos dados .....	42

3.2.6.1. Estatística Descritiva.....	42
<b>3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
3.3.1. Observações climáticas nos períodos de coletas de dados.....	45
3.3.2. Prospecção a herança materna cloroplastídica.....	47
3.3.3. Análises descritivas das variáveis morfofisiológicas.....	54
<b>3.4. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>60</b>
<b>IV.CAPÍTULO 2: AVALIAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS EM PROGÊNIES DE CAFÉ CONILON PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS COM TOLERÂNCIA A SECA. ....</b>	<b>63</b>
RESUMO .....	63
<b>4.1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>4.2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>66</b>
4.2.1. Material genético.....	66
4.2.3. Características Morfológicas.....	67
4.2.4. Medições fotossintéticas.....	67
4.2.5. Composição química dos tecidos foliares.....	67
4.2.5.1. Quantificação de clorofilas e carotenoides totais .....	68
4.2.5.2. Quantificação de nitrogênio nítrico .....	68
4.2.5.3. Quantificação nitrogênio orgânico NH <sub>4</sub> .....	69
4.2.5.4. Preparo do extrato etanólico para determinação de compostos fenólicos e aminoácido prolina.....	69
4.2.5.5. Quantificação de compostos fenólicos solúveis totais .....	70
4.2.5.6. Quantificação do aminoácido prolina .....	70
4.2.6. Análise dos dados.....	71
4.2.6.1. Estatística Multivariada.....	71
<b>4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
4.3.1. Análise de componentes principais e agrupamentos entre os indivíduos.....	72
4.3.2. Comparação entre as médias dos grupos para detecção de indivíduos superiores.....	81
<b>4.4. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>89</b>
<b>V. CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>92</b>
<b>VI.ANEXO .....</b>	<b>93</b>

## RESUMO

SOUZA-SOBREIRA, Franciele Barros de, D.Sc., Universidade Federal Do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Fevereiro de 2017. **Respostas morfofisiológicas e herança materna para tolerância à seca em progênies de café conilon.** Orientadora: Taís Cristina Bastos Soares. Coorientadora: Maria Amélia Gava Ferrão.

O café é atualmente uma das principais *commodities* no Brasil. Dentre muitos trabalhos realizados visando a melhoria desta cultura, a busca por materiais mais adaptados as variações climáticas, em especial à seca, tem se destacado. Este fato se deve, principalmente, às mudanças climáticas que estão ocorrendo em muitas regiões brasileiras. A análise morfológica e fisiológica nas plantas tem auxiliado na seleção de genótipos tolerantes à seca, para avaliação de superioridade em programas de melhoramento genético. O objetivo deste trabalho foi avaliar características morfofisiológicas em progênies de café conilon submetidas à seca, avaliando a morfologia das plantas, fotossíntese e quantificação química dos tecidos foliares, para verificar a variabilidade das progênies, avaliar a possibilidade de herança materna extracromossômica para tolerância à seca e identificar genótipos mais tolerantes à seca. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental do Incaper de Marilândia – ES e utilizou-se duas populações de *Coffea canephora*, derivadas do cruzamento entre o clone 109, suscetível, e o clone 120, tolerante à seca (120x109 e 109x120). Para avaliação do experimento e conclusões dos resultados foi utilizado à estatística descritiva e análises de componentes principais (ACP). Observou-se, através das medidas de posição e dispersão que, houve muitas modificações entre as variáveis ao longo do período das análises (Julho/2015, dezembro/2015 e abril/2016), ampla variabilidade entre os indivíduos dentro de cada época de avaliação e que abril de 2016 foi o período mais crítico de seca, dentre os períodos avaliados, ocorrendo, na maioria das vezes, diminuições das médias dos parâmetros analisados e maiores variações nas progênies. Em julho e dezembro de 2015 a população 109x120 apresentou as maiores médias, porém em abril de 2016 a população 120x109 exibiu maiores médias. Estas alterações foram aliadas a herança materna extracromossômica, principalmente cloroplastídica, devido às diferenças nas médias dos cruzamentos recíprocos, para maioria das variáveis. Houve uma maior manifestação das características do clone 109, como mãe receptora de pólen, em julho e dezembro de 2015, nas progênies 109x120, período de maior hidratação das plantas. Em abril de 2016, período crítico de seca, houve maior manifestação do clone 120, na população 120x109, por isso apresentou melhores médias. Em virtude das variabilidades observadas entre os indivíduos, foram utilizadas as ACP para identificar os parâmetros que melhor representassem a variação entre os indivíduos. Foram avaliados dez

parâmetros em julho, nove em dezembro e abril, em todos os indivíduos, demonstrando que aproximadamente 80% da variação observada pode ser explicada por cinco e seis componentes principais (CP) na população 120x109, e quatro e cinco componentes na 109x120. Cada CP representou uma proporção da variação e foi correlacionado em diferentes graus aos parâmetros medidos. Atentou-se para as informações do CP1 e CP2, em abril de 2016, verificando uma melhor condição de crescimento na população 120x109, devido à alta correlação positiva com RAF (razão da área foliar), AFU (área foliar unitária), AFE (área foliar específica), FT (fenol total), prolina e ETR (taxa de transferência de elétrons), que são importantes correlações entre as variáveis, para o desenvolvimento das plantas em condições de estresse hídrico. Devido as diferentes correlações das ACP com os parâmetros, foi realizado um agrupamento hierárquico UPGMA, baseado na distância euclidiana média, para discriminar as diferenciações entre os indivíduos. Para a população 120x109, foram identificados oito grupos em julho/2015, dez em dezembro/2015 e sete em abril/2016. Para a população 109x120, quatro grupos em julho/2015, três em dezembro/2015 e três em abril/2016. Baseado na média dos grupos para cada parâmetro constatou-se que em abril de 2016, período crítico de seca, alguns indivíduos conseguiram manter melhores características morfofisiológica, como as apresentadas nos grupos 3, 5 e 7, representados pelos indivíduos 1, 2, 12, 13, 17, 26, 28, 50 e 58 da população 120x109, demonstrando destaque fenológico para tolerar mais à seca, sendo as variáveis AFE, RAF, A, ETR, gs e A/g, mais relevantes na discriminação dos genótipos. Os genótipos 1, 26, 56 e 58, exibiram maior dissimilaridade, porém o indivíduo 56 foi mais caracterizado como susceptível à seca. Foi demonstrado também que existem outros indivíduos que possuem características semelhantes com os selecionados para tolerância e, que, merecem ser melhor explorados, como os indivíduos 8, 9, 14, 22, 25, 29 para tolerância e os genótipos 20, 21, 23, 31, 32, 33, 34, 35 para susceptibilidade à seca. Em síntese, grande parte dos mecanismos de resistência à seca, no café conilon, são governados por herança materna extracromossômica e foi possível identificar genótipos mais tolerantes à seca.

## ABSTRACT

SOUZA-SOBREIRA, Franciele Barros de, D.Sc., Universidade Federal Do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, February, 2017. **Morphophysiological responses and maternal inheritance for drought tolerance in conilon coffee progenies.** Advisor: Taís Cristina Bastos Soares. Co-Advisor: Maria Amélia Gava Ferrão.

Coffee is currently one of the major *commodities* in Brazil. Among many works carried out aiming at the improvement of this culture, the search for materials more adapted to the climatic variations, especially the drought has been highlighted. This fact is mainly due to the climatic changes that are occurring in many Brazilian regions. The morphological and physiological analyzes of the plants have aided in the selection of drought tolerant genotypes for the evaluation of superiority in breeding programs. The present study aimed at evaluating the morphophysiological characteristics of conilon progenies submitted to drought, evaluating the plant morphology, photosynthesis and chemical quantification of foliar tissues, to verify the variability of the progenies, to evaluate the possibility of extrachromosomal maternal inheritance for drought tolerance and to identify more drought tolerant genotypes. The experiment was conducted at the Experimental Farm of the Marilândia-ES Incaper and two populations of *Coffea canephora*, derived from the cross between the susceptible clone 109 and the drought tolerant clone 120 (120x109 and 109x120) were used. For the evaluation of the experiment and conclusions of the results was used to descriptive statistics and principal component analyzes (PCA). It was observed through the measures of position and dispersion that there were many changes between the variables throughout the analysis period (July/2015, December/2015 and April/2016), wide variability among individuals within each evaluation period and that in April 2016 it was the most critical period of drought, among the evaluated periods, occurring, most of the time, decreases in the means of the analyzed parameters and greater variations in the progenies. In July and December 2015 the population 109x120 presented the highest averages, however in April 2016 the population 120x109, showed higher averages. These changes were allied to extrachromosomal maternal inheritance, mainly chloroplast, due to differences in the means of reciprocal crosses, for most variables. There was a greater manifestation of the characteristics of clone 109, as pollen recipient mother, in July and December of 2015, in the progenies 109x120, period of greater hydration of the plants. In April 2016, critical period of drought, there was a greater manifestation of clone 120, in the population 120x109, so it presented better means. Due to the variabilities observed among the individuals, the PCA were used to identify the parameters that best represented the variation among the individuals. Ten parameters were evaluated in July, nine in December and April in all individuals, demonstrating that approximately 80% of the observed variation can be explained by five and six principal

components (PC) in the population 120x109, and four and five components in the 109x120. Each PC represented a proportion of the variation and was correlated in different degrees to the measured parameters. Attention was drawn to the information from PC1 and PC2, in April 2016, showing a better growth condition in the 120x109 population, due to the high positive correlation with RAF (leaf area ratio), AFU (unit leaf area), AFE (leaf area specific), FT (total phenol), proline and ETR (electron transport rate), which are important correlations between the variables, for the development of plants under conditions of water stress. Due to the different correlations of the PCA with the parameters, a hierarchical UPGMA grouping, based on average euclidean distance, was performed to discriminate the differentiations between the individuals. For the population 120x109, eight groups were identified in July/2015, ten in December/2015 and seven in April/2016. For the population 109x120, four groups in July/2015, three in December/2015 and three in April/2016. Based on average of the groups for each parameter, it was found that in April 2016, a critical period of drought, some individuals managed to maintain better morphophysiological characteristics, such as those presented in groups 3, 5 and 7, represented by individuals 1, 2, 12, 13, 17, 26, 28, 50 and 58 of the population 120x109, demonstrating phenological highlight to tolerate more drought, being the AFE, RAF, A, ETR, gs and A/gs variables more relevant for genotype discrimination. Genotypes 1, 26, 56 and 58 showed greater dissimilarity, but individual 56 was more characterized as susceptible to drought. It has also been shown that there are other individuals that have similar characteristics to those selected for tolerance and that deserve to be better explored, such as individuals 8, 9, 14, 22, 25, 29 for tolerance and genotypes 20, 21, 23, 31, 32, 33, 34, 35 for drought susceptibility. In summary, most of the mechanisms of resistance to drought in conilon coffee are governed by extrachromosomal maternal inheritance and it was possible to identify more drought tolerant genotypes.

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIações**

- A – Fotossíntese líquida  
A/gs – Eficiência no uso da água intrínseca  
ACP – Análise de componentes principais  
AFE – Área foliar específica  
AFT – Área foliar total  
AFU – Área foliar unitária  
As – Assimetria  
C – Curtose  
Carot. – Carotenoide  
CE – Comprimento entrenódio  
Cl total – Clorofila total  
Comp – Comprimento foliar  
CP – Componentes principais  
CRP – Comprimento do ramo plagiotrópico  
CV – Coeficiente de variação  
DLC – Densidade do lenho caulinar  
EP – Erro padrão da média  
Esp – Espessura foliar  
ETR – Taxa de transporte de elétrons  
FT – Fenol total  
G – Grupo  
gs – Condutância estomática  
L – Largura foliar  
NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – Nitrogênio orgânico Amônio  
NO<sub>3</sub><sup>-</sup> – Nitrogênio Nítrico  
Prolina – aminoácido prolina  
RAF – Razão de área foliar  
UPGMA – Ligação média entre grupo  
X – Média

## I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Origem e aspectos botânicos de *Coffea canephora*.

O café conilon é um arbusto que pertence à classe Dicotyledonea, ordem Rubiales, família Rubiaceae, seção Eucoffea e subseção Erithrocoffea, com nome específico *Coffea Canephora* Pierre ex Froehner (CHARRIER; BERTHAUD, 1985; CARVALHO, 2008).

O gênero *Coffea* sp. originou-se no continente africano, sendo que a espécie *Coffea arabica* teve sua origem na Etiópia e a espécie *Coffea canephora* de uma ampla região, que se estende da Guiné ao Congo, da costa oeste à região Central do continente, predominando em regiões de baixa altitude e temperaturas mais elevadas (PRADO, NASCIMENTO, 2003; FERRÃO et al., 2016). O cultivo comercial iniciou-se com a espécie *C. arábica* no Yêmem em 575 d.C. aproximadamente, enquanto o da espécie *C. canephora* deu-se a partir do aparecimento da ferrugem, por volta de 1900 em Java, expandindo-se depois por uma ampla área geográfica, na faixa ocidental, centro tropical e subtropical do continente africano, posteriormente América e Ásia (OLIVEIRA et al., 2012).

A espécie *C. canephora* inclui diversas variedades das quais se destacam Kouillou (conilon) e Robusta. A variedade Kouillou foi observada inicialmente em estado selvagem, em 1880, pelos franceses, entre Gabão e a embocadura do rio Congo, principalmente junto ao ribeirão Kouilou, na África (CARVALHO, 1946). Posteriormente foi cultivada em larga escala em Madagascar. No Brasil, a sua introdução iniciou-se no Espírito Santo, por volta de 1912, com as primeiras sementes plantadas no município de Cachoeiro de Itapemirim (FERRÃO et al., 2007, 2016).

É característica marcante dessa espécie a reprodução sexuada, classificadas como plantas alógamas, apresentando mecanismos que favorecem a polinização cruzada tais como, a autoincompatibilidade gametofítica e o florescimento sincronizado. Possuem elevada heterogeneidade entre plantas de uma mesma lavoura, que apresenta variabilidade genética natural e polinização cruzada entre gerações (RAMALHO et al., 2011).



## 1.2. Cenário econômico e restrição ambiental na produção de *C. canephora*.

A cafeicultura é uma das principais atividades agrícolas geradoras e distribuidora de renda no Brasil, representando cerca de 10% do PIB agrícola (NOTÍCIA AGRÍCOLA, 2016). A produção mundial de café na safra de 2015/2016 foi aproximadamente 150,1 milhões de sacas, com o Brasil representando 51,37 milhões de sacas de 60 quilos do produto beneficiado das espécies arábica e conilon, sendo que a safra de arábica foi de 43,24 milhões e a de conilon de 7,98 milhões (EMBRAPA, 2016). O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, seguido pelo Vietnã e pela Colômbia (FAO, 2015).

No país, o estado do Espírito Santo se destaca como o maior produtor da espécie *C. canephora*, devido a investimentos em pesquisas e nas lavouras ao longo das últimas décadas. As lavouras vêm sendo renovadas e revigoradas na ordem de 7% a 8% ao ano, sobre novas bases tecnológicas, com variedades clonais mais produtivas, nutrição adequada, poda, manejo de pragas, doenças e irrigação. Como resultado, a produção do estado teve crescimento na média de 5% ao ano (CONAB, 2016).

O Estado é referência brasileira e mundial no desenvolvimento da cafeicultura do conilon, com uma produtividade média que já alcançou 35 sacas por hectare (sc/ha). Muitos produtores tecnificados chegaram a colher mais de 100 sc/ha. A produtividade evoluiu muito nos últimos 25 anos, graças às tecnologias desenvolvidas pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper) em parceria com diversas instituições (INCAPER, 2016).

Essa sequência positiva de crescimento foi interrompida nos dois últimos anos por problemas climáticos, com o decréscimo de aproximadamente 50% para o café conilon no ano de 2016 (CONAB, 2016).

As condições climáticas muito adversas em 2015 e 2016, com aumento médio da temperatura durante o dia de até 3°C e redução média da precipitação pluviométrica entre 30 e 60% nas diferentes regiões e a deficiência de irrigação por falta de água nos mananciais, promoveram danos muitos significativos nas lavouras, interferindo no número e época das floradas, na fertilização das flores, no número e no desenvolvimento dos frutos, chegando a ocasionar queda de folhas e de frutos em crescimento, além de estagnação do crescimento das plantas, redução do vigor e maior incidência de pragas e doenças, decorrente do depauperamento das plantas (CONAB, 2016).

Registra-se que as consequências dos problemas associados às mudanças climáticas ocorreram em todas as regiões produtoras de café conilon, mas as maiores perdas foram em lavouras não irrigadas. A quantidade de água disponível para irrigação tem diminuído gradativamente nos últimos anos, por isso espera-se que as limitações de água à produção de café se tornem cada vez mais importantes devido às mudanças climáticas

globais (DAMATTA et al., 2010). Assim, as melhorias no uso da água devem ser um grande alvo para o aumento da produção de café em ambientes com limitação de água (BLUM, 2005; SILVA; REIS, 2016).

### 1.3. Fenologia de *C. canephora*.

O conhecimento das fases fenológicas de uma espécie cultivada constitui ferramenta eficaz de manejo, que possibilita identificar, por meio da observação dos caracteres morfológicos da planta, o momento fisiológico ao qual se encontram associadas às necessidades do vegetal que, uma vez atendidas, possibilitarão seu desenvolvimento normal e, conseqüentemente, bom rendimento à cultura. Estudo sobre crescimento da parte aérea, sistema reprodutivo e aspectos fisiológicos, tem auxiliado na compreensão do comportamento das plantas frente às condições adversas do ambiente, principalmente em condições de estresse hídrico (CÂMARA, 2006).

No geral o café conilon possui alto vigor vegetativo, tolerância às doenças e adaptação a uma ampla faixa de condições edafoclimáticas tropicais, de baixas altitudes e temperaturas elevadas (RONCHI; DAMATA, 2016). Seu crescimento apresenta dimorfismo, onde o caule principal, ortotrópico, cresce verticalmente e os ramos laterais, plagiotrópicos, crescem quase horizontalmente. Caracteriza-se como planta perene, de porte arbustivo, caule lenhoso e multicaule, folhas grandes, de coloração verde claro e, de formato elíptica e lanceolada e, com, sistema radicular bastante volumoso e eficiente na absorção de nutrientes e da água (FAZUOLI, 1986; MONTAGNON et al., 1998; FERRÃO et al., 2016).

Entretanto, o crescimento do cafeeiro é influenciado por vários fatores, destacando-se os genéticos e os edafoclimáticos. Por ser uma cultura perene a sua fase vegetativa é ininterrupta, podendo variar de intensidade durante o ano em função de sua fenologia, força dreno dos órgãos e condições ambientais (FAVARIN, 2004). A cada estágio, a planta exige determinados recursos e condições ambientais, como também responde de maneiras diferentes às influências externas (LARCHER, 2000).

Na região nordeste do Espírito Santo é normalmente cultivado com irrigação, em razão da ocorrência de veranicos durante a estação chuvosa e de um período seco relativamente longo, que se estende geralmente de maio a setembro. No período seco e de temperaturas mais amenas, as taxas de crescimento são baixas, enquanto no período chuvoso e de temperaturas mais elevadas, porém não extremas, as taxas de crescimento são elevadas (SILVEIRA; CARVALHO, 1996).

Independentemente da época de formação, a queda de folhas intensifica-se no final da época seca, coincidindo com o período de colheita e pós-colheita e de maior ação dos ventos. A produção de folhas, que tem relação direta com a formação de nós nos ramos

laterais, é intensa na primavera/verão e mínima no outono/inverno (RONCHI; DAMATTA, 2007).

É uma espécie tropical de hábito gregário, em que todas as plantas de uma certa extensão geográfica florescem simultaneamente (RENA; BARROS, 2004). Em condições naturais, a floração é provocada pelas primeiras chuvas da estação após um período de seca (RENA et al., 2001), que ocorre, geralmente, em agosto/setembro no estado do Espírito Santo (BELAN et al., 2011).

As inflorescências (glomérulos) são formadas a partir de gemas seriadas (sendo um glomérulo por cada gema) localizadas aleatoriamente nas axilas das folhas de ramos laterais que se formaram na estação de crescimento do ano corrente, de forma que a floração depende estreitamente do crescimento dos ramos plagiotrópicos (BARROS et al., 1978).

Com a falta de chuva, a fase de frutificação e a granação dos frutos pode ser prejudicada, fazendo com que haja menor pegamento das flores e, durante a granação, ocorre aumento da presença de frutos chochos e/ou mal granados. Vale ressaltar ainda o prejuízo provocado no crescimento vegetativo do cafeeiro (DAMATTA et al., 2008; PEZZOPANE et al., 2010).

#### 1.4. Respostas das plantas ao déficit hídrico

De todos os recursos de que a planta necessita para crescer e funcionar, a água é o mais abundante e, ao mesmo tempo, o que mais limita a produtividade agrícola. Constitui cerca de 80 a 95% da massa de tecidos vegetais em crescimento (TAIZ; ZIEGER, 2006). Participa dos processos fisiológicos da planta, entre eles das reações metabólicas de síntese (fotossíntese) e degradação (respiração); transporte de materiais e nutrientes através do xilema e floema; absorção de gases e materiais através da relação que se estabelece entre raiz e solo; garante a turgidez de tecidos e órgãos; responde pelo controle da condutância estomática (PEIXOTO, 2011).

O termo estresse hídrico geralmente é definido como um fator externo que causa alteração no conteúdo de água de um tecido ou célula abaixo da quantidade mais alta exibida no estado de maior hidratação, exercendo uma influência desvantajosa sobre a planta (TAIZ; ZEIGER, 2006). Nesta condição, causa desvio significativo das condições ótimas para a vida, e induz a mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanentes (LARCHER, 2000).

É um dos fatores de estresse que causa maiores danos nos processos fisiológicos e metabólicos das plantas, (PIMENTEL, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2006), em que a demanda de

energia pela planta para sua manutenção (sobrevivência) é maior que a produção, o que leva a uma desestabilização inicial das funções da planta, seguida por uma normalização e indução dos processos fisiológicos (LARCHER, 2000). A resposta à seca é complexa porque reflete a integração dos efeitos do estresse e das respostas da planta, sob todos os níveis de sua organização, integrados no espaço e no tempo (BLUM, 1997).

O déficit hídrico possui elementos construtivos e destrutivos, sendo um fator de seleção e uma força motriz para incremento da tolerância e evolução adaptativa da planta. Um estresse suave pode ativar o metabolismo celular e aumentar a atividade fisiológica da planta sem causar danos, mesmo em longo prazo, sendo, portanto, favorável à planta (LICHTENTHALER, 1998).

Existe uma variabilidade muito grande no grau de tolerância à falta d'água entre espécies. Esta diferença é observada por meio do valor do potencial de água ideal para as plantas, e ocorre mesmo dentro de uma espécie, entre variedades (PIMENTEL, 2004; INMAM-BAMBER; SMITH, 2005).

Devido às diferentes respostas das plantas ao estresse hídrico, os mecanismos de resistência à seca foram divididos em escape, retardo e tolerância. No primeiro, as plantas adotam uma estratégia de "fuga", na qual apresentam rápido desenvolvimento fenológico e alto grau de plasticidade, sendo capazes de completar seu ciclo de vida antes que a falta de água torne-se severa o bastante para provocar danos fisiológicos. O retardo da desidratação corresponde à manutenção do turgor e volume celular, tanto pela absorção de água por um sistema radicular abundante quanto pela redução da perda por transpiração por intermédio do fechamento estomático ou por vias não estomáticas como a cutícula. E a tolerância à seca é um mecanismo que permite à planta manter o metabolismo, mesmo com a redução do potencial hídrico dos tecidos, devido principalmente ao acúmulo de solutos compatíveis ou osmólitos, proteínas osmoprotetoras e à capacidade antioxidante (TAIZ; ZEIGER, 2006; VERSLUES et al., 2006).

A tolerância das plantas frente a um estresse pode ser de dois tipos, se a tolerância aumenta como consequência de exposição anterior ao estresse, diz-se que a planta está aclimatada; já, se ocorre tolerância a um nível de resistência geneticamente determinado, adquirido por processo de seleção durante muitas gerações, a planta está adaptada (TAIZ; ZEIGER, 2006). A adaptação e a aclimatação aos estresses ambientais resultam de eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização: anatômico, morfológico, celular, bioquímico e molecular (PIMENTEL, 2004; BUENO et al., 2006).

A resposta da planta à seca é caracterizada por mudanças fundamentais na relação da célula com a água, nos seus processos fisiológicos, na estrutura de membranas e de organelas celulares, além das mudanças morfológicas e fenológicas da planta, alterando a relação do seu dossel com o ambiente (LAWLOR; CORNIC, 2002).

### 1.5. Efeito nas plantas frente ao estresse hídrico

A parte aérea e a expansão foliar são um dos processos mais sensíveis à falta d'água (BLUM, 1997). As folhas são órgãos responsáveis pela atividade fotossintética, assim, fatores como temperaturas elevadas em períodos de estresse hídrico causam diminuição da área foliar, e dependendo do tempo de exposição à seca, afeta negativamente o crescimento da parte aérea, sobretudo a produção de folhas, acelerando a senescência foliar (SANTOS; CARLESSO, 1998; INMAN-BAMBER, 2005; SHIGAKI et al., 2004). Atribui-se que a redução de folhas verdes é uma estratégia para diminuir a superfície transpirante e o gasto metabólico para a manutenção dos tecidos (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005; INMAN-BAMBER et al., 2008).

Características foliares como massa foliar específica, espessura e densidade foliar, são também comprometidas pela disponibilidade de nutrientes e água (CASTRO-DÍEZ et al., 1997; BUSSOTTI et al., 2000). As espécies que possuem maior longevidade foliar geralmente apresentam menor área foliar específica, ou maior massa foliar específica, devido à lâmina das folhas e à cutícula serem mais espessas, como também uma maior área lignificada, o que aumenta a razão massa/área; permitindo a folha resistir por um longo período em condições adversas, como a seca (LIMA et al., 2006)

A falta de água no solo, a curto prazo, a redução do rendimento pode estar relacionada com a diminuição da condutância estomática e concomitantemente menor taxa de assimilação líquida de carbono. No entanto, na maioria dos casos e particularmente em estresse prolongado, uma área foliar menor e uma distribuição alterada de assimilados entre os órgãos arbóreos parecem ser mais diretamente responsáveis pelo menor rendimento da cultura (DAMATTA et al., 2003).

O déficit hídrico tem efeitos em diversos processos fisiológicos das plantas, geralmente aumentando a resistência estomática, reduzindo a transpiração e conseqüentemente o suprimento de CO<sub>2</sub> para a realização do processo de fotossíntese (NOGUEIRA et al., 2001). Apresentando efeitos em outros processos, tais como, diminuição do volume celular, declínio da turgescência, diminuição do rendimento quântico do fotossistema 2, e redução da produção de ácido abscísico, (TAIZ; ZEIGER, 2006; MORAIS et al., 2003).

O estresse hídrico tem a capacidade de reduzir as concentrações teciduais de clorofilas e carotenoides, principalmente com a produção de espécies reativas de oxigênio nos tilacóides (KIANI et al., 2008; REDDY et al., 2004). Também provoca aumento de compostos fenólicos em folhas (CAVATTE et al., 2012), podendo contribuir significativamente para a proteção contra o excesso de energia (WILHELM; SELMAR, 2011) e danos associados à radiação UV-B (GILL; TUTEJA, 2010).

Segundo Flexas; Medrano, (2002), a capacidade de dissipação de energia e a proteção metabólica (induzida ou constitutiva) contra as espécies reativas de oxigênio são frequentemente a chave do sucesso das plantas contra o estresse.

Em algumas espécies, o acúmulo de solutos compatíveis, como o aminoácido prolina e compostos de amônio quaternário, tem sido considerado como uma adaptação ao estresse de seca, devido ao ajuste osmótico, que possibilita a manutenção do turgor celular e o crescimento mesmo com baixo potencial hídrico foliar. A manutenção da turgescência é feita pela diminuição do potencial osmótico resultante do acúmulo de diferentes solutos no simplasma, podendo também escapar da redução no potencial hídrico, mantendo o turgor, através da redução na elasticidade de suas paredes celulares (SAITO; TERASHIMA, 2004).

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para o crescimento vegetal, a deficiência hídrica influencia de forma negativa o metabolismo de compostos nitrogenados (FERREIRA et al., 2002). A enzima nitrato redutase, responsável pela assimilação de nitrogênio pelos vegetais, tem a atividade influenciada pela disponibilidade de água (SHARMA; DUBEY, 2005). A estimativa da atividade da enzima nitrato redutase tem sido utilizada como parâmetro indicativo da resposta fisiológica das plantas aos estresses ambientais (OLIVEIRA et al., 2005).

A disponibilidade adequada de nitrogênio pode melhorar indiretamente a tolerância à seca, pois permitirá o desencadeamento de mecanismos de fotoproteção do cloroplasto e alterações qualitativas da membrana com excesso de energia de excitação, que ocorrem quando o fechamento dos estômatos é promovido pela escassez de água (DAMATTA; RAMALHO, 2006). A carência em nitrogênio diminui a condutividade hidráulica, absorção de água, a produção de ABA pelas raízes, que induz o fechamento estomático na parte aérea mais cedo devido ao déficit de água (KRAMER; BOYER, 1995). Também pode diminuir a fotossíntese através da diminuição do teor de pigmentos no cloroplasto e da síntese de várias enzimas envolvidas no ciclo de Calvin, particularmente ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase / oxigenase (Rubisco) (TERASHIMA; EVANS 1988).

A densidade do lenho caulinar também tem sido considerada uma característica importante para tolerância à seca, sendo que plantas com alta densidade utiliza a água disponível lentamente e possui uma maior eficiência hidráulica em condições de déficit hídrico, devido a uma possível segurança hidráulica contra a cavitação, o que resulta em melhor hidratação dos seus tecidos, por isso são consideradas mais tolerantes à seca (SILVA et al., 2013).

As estratégias das plantas para superar o estresse hídrico, normalmente envolvem uma ação complexa relacionada à sensibilidade e à tolerância a outros estresses, o que pode variar entre os genótipos (CHAVES et al., 2002).

### 1.6. Estresse hídrico e tolerância à seca em *C. canephora*.

Considerando que cultivo do café conilon tem-se expandido para áreas onde a deficiência hídrica é o principal fator limitante à produção, melhoristas têm procurado selecionar genótipos que produzam razoavelmente bem nesses ambientes, o que é difícil, devido à variabilidade da precipitação, ao longo dos anos, e da natureza poligênica da tolerância à seca (DAMATTA, 2004).

O cafeeiro beneficia-se da estação de seca moderada, com déficit hídrico anual entre 150 e 200 mm, não apresentando problemas sensíveis; entre 200 e 400 mm não causa grandes efeitos, porém, a irrigação suplementar é necessária, atentando-se para os períodos críticos da cultura que vão desde a iniciação floral até a granação dos frutos, como também, os períodos de maior crescimento vegetativo. Em condições de déficit acima de 400 mm a irrigação se torna obrigatória (MATIELLO et al., 2002).

Os principais mecanismos fisiológicos de tolerância diferencial à seca entre clones de Conilon são governados pela eficiência de extração da água do solo e pelas taxas de uso da água pelas plantas (DAMATTA; RAMALHO, 2006). Avaliações fisiológicas sugerem que clones com produção relativamente elevada em condições de seca são capazes de manter potenciais hídricos foliares adequados, por meio da combinação do aprofundamento do sistema radicular e aumento no controle estomático (SILVA et al., 2010).

Algumas características bioquímicas também são importantes para o aumento da tolerância ao estresse hídrico, entre elas, a manutenção da capacidade de transporte de fotoassimilados da parte aérea para as raízes, que pode permitir maior crescimento radicular e, dessa forma, maior acesso a horizontes mais profundos do solo, de modo a aumentar a absorção de água (SILVA et al., 2010).

Em estudos comparando plantas tanto em condições de vaso como de campo, tem sido observado que clones tolerantes mantêm maior potencial hídrico e/ou teor relativo de água em seus tecidos, quando impostos ao déficit hídrico em comparação aos clones sensíveis à seca (PINHEIRO et al., 2004; PRAXEDES et al., 2006). Essa estratégia explicaria o porquê de os clones tolerantes exibirem enrolamento e abscisão foliar mais tardiamente que os clones sensíveis à seca.

FERRÃO et al., (2000) verificaram que clones de café conilon submetidos tanto a condições ótimas de irrigação como em condições de déficit hídrico, em campo, e considerando sua produtividade média, os clones 120 e 14, dentre outros, apresentaram desempenho superior em condições de déficit hídrico, tendo suas produtividades médias pouco alteradas. Observaram também que esses materiais genéticos respondem menos a irrigação (SILVA; REIS, 2007).

Longos períodos de estiagem, com menor hidratação em café, têm sido associados, em muitos casos, com estratégia de sobrevivência e não com manutenção da produção em condições de seca. Isso ocorre devido o fechamento estomático para limitar a transpiração, porém dificulta o influxo de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese e, portanto a produção (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

Pinheiro et al. (2005) demonstraram que a condutância estomática decresce curvilinearmente com a redução da disponibilidade hídrica, sugerindo alta sensibilidade estomática ao desenvolvimento de déficits hídricos na planta de café conilon. Porém verificaram rápida recuperação (1-2 dias) da hidratação foliar e da condutância estomática, que alcançaram valores típicos de cafeeiros irrigados continuamente, após re-irrigarem clones de conilon severamente desidratados. Tal comportamento parece ser de grande importância na determinação do rápido restabelecimento do crescimento e desenvolvimento da copa do café após períodos prolongados de seca, e atesta um alto grau de tolerância à seca ao café Conilon (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

Pinheiro et al. (2005) relataram também, que há clones de Conilon que pouco respondem às variações da demanda evaporativa e, por essa razão, sofrem desidratação relativamente rápida em períodos de estiagem, o que concorre para uma baixa tolerância à seca. Clones susceptíveis à seca possuem baixo controle da transpiração, com os estômatos respondendo de forma limitada à redução da disponibilidade de água do solo, devido à baixa capacidade de absorção de água, pois têm sistemas radiculares mais superficiais (RONCHI; DAMATTA, 2007).

As taxas de fotossíntese líquida do café Conilon são relativamente baixas, constitui umas das menores faixas registradas em árvores (DAMATTA, 2003, 2008; PINHEIRO et al., 2005). Pouco se sabe sobre os mecanismos que explicariam a magnitude das taxas fotossintéticas do cafeeiro, mas, aparentemente, uma alta resistência à difusão do CO<sub>2</sub>, desde a atmosfera até o cloroplasto, parece ter papel preponderante nessa resposta (DAMATTA et al., 2002, 2008).

No cafeeiro, a fotossíntese é saturada a cerca de 1/3 da irradiância máxima incidente sobre a copa, 600-700 mmol (fótons) m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> em folhas expostas (DAMATTA; MAESTRI, 1997). A irradiância excedente absorvida pela folha, se não dissipada satisfatoriamente, faz com que a planta perca o controle do metabolismo das espécies reativas de oxigênio, levando à ocorrência de danos fotooxidativos (DAMATTA; RAMALHO, 2006), popularmente conhecidos como escaldadura. Esses danos se manifestam pelo aparecimento de áreas cloróticas, que evoluem para a necrose, levando, pois, à abscisão foliar.

Lima et al. (2002) avaliando dois clones de café Conilon sob condições de seca, observaram aumentos na atividade do sistema antioxidante do clone tolerante à seca quando comparado ao clone sensível à seca. Os autores propuseram que a tolerância à



seca no Conilon poderia, pelo menos em parte, estar associada a um incremento da atividade do sistema antioxidante, devido a maior neutralização das espécies reativas de oxigênio no clone tolerante.

Blum (2009) sugere que para seleção de genótipos superiores para produtividade, em condições de seca, é importante considerar a maximização da absorção de água no solo com aumento da transpiração e da condutância estomática, o que permite uma maior assimilação de CO<sub>2</sub> e conseqüentemente aumento da fotossíntese, resultando em menor eficiência no uso da água.

Quando se objetiva melhorar o desempenho do café Conilon em regiões sujeitas à seca, a seleção de índices e parâmetros adequados, como demonstrados nos trabalhos apresentados acima, pode facilitar a identificação de materiais genéticos superiores, com maiores potenciais para tolerância à seca, uma vez que não se conhece uma característica isolada capaz de prever adequadamente a respeito da manutenção da produção em ambientes sujeitos à restrição hídrica (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

### 1.7. Herança materna

A herança citoplasmática tem sido de interesse desde que foi demonstrado, pela primeira vez no início do século XX, que os cloroplastos não são transmitidos de acordo com as regras da segregação da genética mendeliana (KIRK; TILNEY-BASSETT, 1978). Na maioria das plantas superiores, o genoma dos plastídios não é submetido à recombinação sexual, mesmo quando são herdados biparentalmente (BOCK, 2007). Os primeiros estudos de padrões básicos de transmissão de plastídios foram baseados na cor das folhas e mostraram transmissão materna em *Mirabilis jalapa* (CORRENS, 1909) e transmissão biparental em *Pelargonium zonale* (BAUR 1909).

Desde o início da década de 1990, os polimorfismos de comprimento de fragmento de restrição (RFLPs) têm sido usados com frequência para obter marcadores específicos para o DNA das organelas e tornaram mais fácil examinar a herança mitocondrial e plastídica (BOBLENZ et al., 1990, HANSEN et al., 2007, MATSUSHIMA et al., 2008). O desenvolvimento desta técnica molecular estimulou uma nova onda de pesquisa na área da herança de organelas e na sua aplicação à genética populacional, à sistemática e à evolução dos organismos (MOGENSEN, 1996).

Na maioria dos organismos, o genoma das organelas é herdado de um único progenitor, sendo a herança materna muito mais difundida do que a paterna. Um pequeno número de angiospermas transmitem biologicamente seus plastídios biparentalmente e paternalmente. Por outro lado, nas gimnospermas, a herança paterna (ou herança biparental

com forte predominância da transmissão paterna) parece estar generalizada (SZMIDT et al., 1987, NEALE et al., 1989, MOGENSEN, 1996).

A grande maioria das angiospermas e pelo menos algumas gimnospermas exibem um modo maternal de herança dos plastídios e, portanto, não transmitem plastídios e DNA de plastídios através do pólen. As investigações citológicas revelaram que não há um mecanismo único de como a herança materna dos plastídios é provocada. Em vez disso, diferentes espécies podem utilizar mecanismos muito diferentes de eliminação de plastídios paternos e/ou genomas de plastídios paternos. (BOCK, 2007)

Especulações sobre a herança uniparental também foram propostas, relatando que a recombinação pode quebrar combinações adaptativas de alelos e que a herança reprodutiva sexual, pode facilitar a disseminação de genes ou genomas que se replicam mais rapidamente do que o tipo selvagem, mas reduzem a aptidão da célula. Assim, começaram a sugerir que a transmissão monogamética pode ter evoluído para reduzir ou prevenir a recombinação entre as organelas (XAVIER; CLIFFORD 1994).

Os efeitos maternos podem desempenhar papéis substanciais na evolução adaptativa das plantas e são categorizados como ambientais citoplasmáticos e epigenéticos de um ponto de vista ecológico evolutivo. Os fatores ambientais maternos, como a disponibilidade de nutrientes e os regimes hídricos da luz e do solo, muitas vezes afetam a taxa, a probabilidade e a estação da germinação da prole (GALLOWAY, 2005; HEREFORD; MORIUCHI, 2005). Vários estudos fisiológicos têm mostrado fenômenos citoplasmáticos ou epigenéticos diretamente atribuíveis a efeitos maternos hereditários. Os fatores citoplasmáticos causam normalmente efeitos maternos sobre a resistência a herbicidas (FREY et al., 1999, EL-LITHY et al., 2005) e esterilidade masculina (SCHNABLE; WISE 1998).

Espera-se que os fenômenos epigenéticos tenham a capacidade de gerar variações fenotípicas adaptativas (GRANT-DOWNTON; DICKINSON, 2006). No caso da hibridação interespecífica de plantas silvestres, tais efeitos maternos desempenham um papel importante na aptidão dos híbridos, com consequências notáveis para a dinâmica das zonas de hibridização. A sobrevivência dos híbridos pode depender da direção dos cruzamentos e das interações genótipo e meio ambiente que estão envolvidas na aptidão híbrida (CAMPBELL; WASER 2001; KIRK et al., 2005).

O ambiente materno experimentado por um organismo em desenvolvimento pode desempenhar um papel crítico na formação de padrões adultos de comportamento. Além disso, pode haver transmissão desses efeitos para as gerações subsequentes através de alterações no comportamento reprodutivo da prole. Assim, o cuidado materno pode ser transmitido das mães às filhas e as netas (CHAMPAGNE, 2008).

Em plantas silvestres, o estado nutricional materno, muitas vezes afeta características de prole, como tamanho de sementes e probabilidade de germinação (HEREFORD; MORIUCHI, 2005). Latzel et al., 2009 relataram que a herança materna pode alterar a fotossíntese e o crescimento da progênie.

A estratégia utilizada no melhoramento de plantas, para saber se um dado caráter é controlado somente por genes nucleares ou não, são os cruzamentos recíprocos, em que um determinado genitor é usado ora como parental masculino, ora como feminino. Se a herança de um determinado caráter é controlada por genes nucleares, os resultados de um cruzamento e seu recíproco serão similares, apresentando segregação mendeliana. Caso haja efeitos citoplasmáticos os resultados dos cruzamentos recíprocos serão diferentes, onde o fenótipo dos descendentes será influenciado pelo genitor feminino que contribuiu com o citoplasma. Dois mecanismos explicam esse tipo de herança: efeito materno, em que a herança é controlada por genes nucleares do parental feminino, independente dos genes doados pelo parental masculino; e herança extracromossômica, em que a herança é devido a genes localizados no citoplasma (principalmente mitocôndrias e cloroplastos) (RAMALHO et al., 2001).

É comum o uso do sistema dialelo como o proposto por Griffing (1956), pelo qual são estimados os efeitos das capacidades geral e específica de combinação (CRUZ; REGAZZI, 2001) e, se são incluídos os híbridos recíprocos, é possível avaliar a presença de efeitos gênicos extracelulares.

A herança materna tem despertado interesse na engenharia genética das plantas, uma vez que, colocar transgenes no genoma do plastídio em vez do genoma nuclear (tal como feito em plantas transgênicas convencionais) pode reduzir grandemente o risco de propagação indesejada do transgene via pólen. A transmissão descontrolada do transgene através da dispersão do pólen representa uma grande preocupação no debate público sobre as tecnologias transgênicas na agricultura e biotecnologia vegetal (BOCK, 2007).

## 1.8. REFERÊNCIAS

- BARROS, R. S.; MAESTRI, M.; COONS, M. P. The physiology of flowering in coffee: a review. **Journal of Coffee Research**, v. 8, p. 29-73, 1978.
- BAUR, E. Das Wesen und die Erblchkeitsverhältnisse der "Varietates albo-marginate hort" von Pelargonium zonale. **Z Verebungsl**, n. 1, p. 330-351, 1909.
- BELAN, L. L. et al. Aspectos fisiológicos do cafeeiro conilon: uma abordagem sistemática. **Nucleus**, v. 8, n. 1, 2011.
- BIRKY, C. W. J. The inheritance of genes in mitochondria and chloroplasts: laws, mechanisms, and models. **Annual Review of Genetics**, n. 35, p. 125–148, 2001.
- BIRKY, C. W. J. Uniparental inheritance of mitochondrial and chloroplast genes: mechanisms and evolution. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, n. 92, p. 11331-11338, 1995.
- BLUM, A. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. In: **Drought tolerance in higher plants. Genetical, physiological and molecular biological analysis**. Belhassen E. (Ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. 1997, p. 57-70.
- BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? **Australian Journal of Agricultural Research**, n. 56, p. 1159-1168, 2005.
- 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**, n. 112, p. 119-123, 2009.
- BOBLENZ, K.; NOTHNAGEL. T.; METZLAFF, M. Paternal inheritance of plastids in the genus *Daucus*. **Molecular and General Genetics**, n. 220, p. 489-491, 1990.
- BOCK, R. Structure, function, and inheritance of plastid genomes. **Cell and Molecular Biology of Plastids**, v. 19, p. 29-63, 2007.
- BUENO, L. C. S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. **Melhoramento de plantas: princípios e procedimentos**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 319 p.
- BUSSOTTI, F. et al. Leaf morphology and macronutrients in broad-leaved tress in central Italy. **Trees – Structure and Function**, v. 14, p. 361-368, 2000.
- CÂMARA, G. M. S. Fenologia é ferramenta auxiliar de técnicas de produção. **Planta e Ambiente**, n. 5, p. 63-66, 2006.
- CARVALHO, A. **Distribuição geográfica e classificação botânica do gênero Coffea com referência especial à espécie arábica**. *Separata dos boletins da superintendência de serviços de café*. Campinas, SP: IAC, dez. 1945 a abr. 1946.
- CARVALHO, C. H. S. **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. Brasília: Embrapa Café, 2008. 334p.

- CASTRO-DÍEZ, P. et al. Leaf morphology and leaf chemical compositions in three *Quercus* (Fagaceae) species along a rainfall radient in NE Spain. **Trees – Structure and Function**, v. 11, p. 127-134, 1997.
- CCCV - CENTRO DO COMÉRCIO DE CAFÉ DE VITÓRIA. Disponível em: <<http://www.cccv.org.br/institucional/historia-cafe/>>. Acesso em: 15 dez. 2016.
- CAMPBELL, D. R.; WASER, N. M. Genotype-by-environment interaction and the fitness of plant hybrids in the wild. **Evolution**, v. 55, p. 669-676, 2001.
- CAVATTE, P. C. et al. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, n. 144, p. 111-122, 2012.
- CHAMPAGNE, F. A. Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 29, p. 386-397, 2008.
- CHARRIER, A.; BERTHAUD J. Botanical classification of coffee. In: CLIFFORD, M. N.; WILLSON, K. C. (Eds.). **Coffee botany, biochemistry and production of beans and beverage**. Londres, 1985, p. 13-47.
- CHAVES, M. M. et al. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. **Annals Botany**, 89, p. 907-916, 2002.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café. v. 3, n. 2, p. 1-104, 2016.
- CORRENS, C. Vererbungsversuche mit blass (gelb) grünen und buntblattrigen Sippen bei *Mirabilis jalapa*, *Urtica pilulifera* und *Lunaria annua*. **Z Vererbungs**, n. 1 p. 291-329, 1909.
- CRUZ, C.D.; Regazzi, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2001. 390 p.
- DAMATTA, F. M. et al. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. **Plant Science**, n. 164, p. 111-117, 2003.
- DAMATTA, F. M. et al. Ecophysiology of coffee growth and production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 19, n. 4, p. 485-510, 2007.
- DAMATTA, F. M. et al. Ecophysiology of coffee growth and production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, n. 19, p. 485-510, 2008.
- DAMATTA, F. M. et al. Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. **Food Research International**, n. 43, p. 1814-1823, 2010.
- DAMATTA, F. M. et al. Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. **Journal of Plant Physiology**, n. 159, p. 975-981, 2002.
- DAMATTA, F. M. Exploring drought tolerance in coffee: a physiological approach with some insights for plant breeding. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n. 1, p. 1-6, 2004.
- DAMATTA, F. M.; MAESTRI, M. Photoinhibition and recovery of photosynthesis in *Coffea arábica* and *C. canephora*. *Photosynthetica*, v. 34, n. 3, p. 439-446, 1997.
- 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.

EL-LITHY, M. E. et al. Altered photosynthetic performance of a natural Arabidopsis accession is associated with atrazine resistance. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 1625-1634, 2005.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/19128919/brasil-bate-recorde-e-produz-5137-milhoes-de-sacas-de-cafe-em-2016-de-acordo-com-a-conab>>. Acesso em: 3 dez. 2016.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Pocket book Coffee 2015. Disponível em: <[www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)>. Acesso em: nov. 2016.

FAVARIN, J. L. **A cultura do cafeeiro**. Piracicaba: ESALQ, 2004. 45 p.

FAZUOLI, L. C. Genética e melhoramento do cafeeiro. In: RENA, A. B. et al. (Eds.). *Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: Potafos, 1986. p. 87-106.

FERRÃO, R. G. et al. Robustão Capixaba, variedade clonal de café conilon tolerante à seca, desenvolvida para Estado do Espírito Santo. **Revista Ceres**, n. 273, p. 555-560, 2000.

FERRAO, M. A. G. et al. Origem, Dispersão Geográfica, Taxonomia e Diversidade Genética de *Coffea canephora*. In: FERRÃO, R.G.; FONSECA, A.F.A. da; FERRÃO, M.A.G.; DE MUNER, L.H.. (Org.). **Café Conilon**. 2ed.Vitoria: DCM/Incaper, 2016, v. 1, p. 81-101.

FERRAO, R. G. et al. Genética e Melhoramento: Desenvolvimento e recomendação de cultivares com tolerância à seca para o Espírito Santo. **Incaper em Revista**, v. 6 e 7, p. 51-71, 2016.

FERREIRA, V. M. et al. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals Botany**, 89, p. 183–189, 2002.

FREY, J. E. et al. Complex relation between triazine-susceptible phenotype and genotype in the weed *Senecio vulgaris* may be caused by chloroplast DNA polymorphism. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 99, p. 578-586, 1999.

GALLOWAY, L. F. Maternal effects provide phenotypic adaptation to local environmental conditions. **New Phytologist**, v. 166, p. 93-100, 2005.

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

GRANT-DOWNTON, R. T; DICKINSON, H. G. Epigenetics and its implications for plant biology 2. The 'epigenetic epiphany': epigenetics, evolution and beyond. **Annals of Botany**, v. 97, p. 11–27, 2006.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Science**. v. 9, p. 463-493, 1956.

HANSEN, A. K. et al. Paternal, maternal, and biparental inheritance of the chloroplast genome in *Passiflora* (Passifloraceae): implications for phylogenetic studies. **American Journal of Botany**, n. 94, p. 42-46, 2007.

HEREFORD, J.; MORIUCHI, K. S. Variation among populations of *Diodia teres* (Rubiaceae) in environmental maternal effects. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 18, p. 124-131, 2005.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL - INCAPER, Disponível em: <<https://incaper.es.gov.br/cafeicultura-conilon>> Acesso: fev. 2016.

INMAN-BAMBER, N. G. et al. 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.

KIANI, S. P. et al. QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. **Plant Science**, n. 175, p. 565–573, 2008.

KIRK, J. T. O.; TILNEY-BASSETT, R. A. E. **The plastids: their chemistry, structure, growth and inheritance**. Elsevier/North-Holland Biomedical, Amsterdam, 1978.

KIRK, H.; VRIELING, K.; KLINKHAMER, P. G. L. Maternal effects and heterosis influence the fitness of plant hybrids. **New Phytologist**, v. 166, p. 685-694, 2005.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. Academic Press, New York. 1995.

KUROIWA, T. The replication, differentiation, and inheritance of plastids with emphasis on the concept of organelle nuclei. **International Review of Cytology**, n. 128, p. 1–62, 1991.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.

LATZEL, V. et al. Maternal effects alter progeny's response to disturbance and nutrients in two *Plantago* species. **Oikos**, v. 119, p. 1700-1710, 2010.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plants, Cell and Environment**, v. 25, p. 275-294, 2002.

LEEGOOD, R. C. Primary photosynthate production: physiology and metabolism. In: **Photoassimilate distribution in plants and crops**. Source-sink relationships. Zamski, E.; Schaffer, A. A. (Ed.), Marcel Dekker, New York, 1996. p. 21-42.

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. et al. Nitrogenous compounds, phenolic compounds and morphological aspects of leaves: comparison of deciduous and semideciduous arboreal legumes. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 1, p. 40-45, 2006.

- LIMA, A. L. S. et al. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, n. 47, p. 239-247, 2002.
- MATIELLO, J. B. et al. **Cultura do café no Brasil: novo manual de recomendações**.
- MATSUSHIMA, R. et al. Mitochondrial dynamics in plant male gametophyte visualized by fluorescent live imaging. **Plant and Cell Physiology**, n. 49, p. 1074-1083, 2008.
- MOGENSEN, H. L. The hows and whys of cytoplasmic inheritance in seed plants. **American Journal of Botany**, v. 83, n. 3, p. 383-404, 1996.
- MONTAGNON, C. T. Genetic parameters of several biochemical compounds from Green coffee, *Coffea canephora*. **Plant Breeding**, v. 117, p. 576-578, 1998.
- MORAIS, H.; MARUR, C. J., CARAMORI, P. H., RIBEIRO, A. M. A., GOMES, J. C. Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guandu e cultivado a pleno sol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 10, p. 35-40, 2003.
- MORGAN, J. M. Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review Plant Physiology**, v. 35, p. 289-319, 1984.
- NAGATA, N. Mechanisms for independent cytoplasmic inheritance of mitochondria and plastids in angiosperms. **Journal of Plant Research**, n. 123, p. 193-199, 2010.
- NEALE, D. B; MARSHALL, K. A.; SEDEROFF, R. R. Chloroplast and mitochondrial DNA are paternally inherited in *Sequoia sempervirens* D. Don Endl. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, p. 9347-9349, 1989.
- NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V., BURITY, H. A. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleira submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n.1, p. 75-87, 2001.
- NOTÍCIA AGRÍCOLA. Disponível em <<http://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/agronegocio/173899-pib-do-agronegocio-tem-alta-de-109-em-2016.amp.html>>. Acesso: 12 dez. 2016.
- OLIVEIRA, I. P. et al. Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 5, n. 4, 2012.
- OLIVEIRA, M. A. J.; BOVI, M. L. A.; MACHADO, E. C.; RODRIGUES, J. D. Atividade da redutase de nitrato em mudas de pupunheira (*Bactris gasipaes*). **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 515-522, 2005.
- PEIXOTO, C. P. **Curso de fisiologia vegetal**. Cruz das Almas: UFRB, 2011. 177 p.
- PEZZOPANE, J. R. M. et al. Zoneamento de risco climático para a cultura do café Conilon no Estado do Espírito Santo. **Ciência Agrônômica**, v. 41, n. 3, p. 341-348, 2010.
- PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: UFRural, 2004. 192 p.
- PINHEIRO, H. A. et. al. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. **Plant Science**, v. 167, p. 1307-1314, 2004.



PINHEIRO, H. A. et al. 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.

PRADO, R. M.; NASCIMENTO, V. M. **Manejo da adubação do cafeeiro no Brasil**. Ilha Solteira: UNESP, 2003. 273 p.

PRAXEDES, S. C. et al. 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**, v. 56, p. 263-273, 2006.

RAMALHO, A. R. et al. Progresso genético com a seleção de clones de conilon no estado de Rondônia. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 7., 2011, Araxá. **Anais**. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/901343/1/andre1.pdf>>. Acesso em: 9 dez. 2016.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.B. **Genética na Agropecuária**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2001. 472 p.

REDDY, A. R.; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, n. 161, p. 1189-1202, 2004.

RENA, A. B.; BARROS, R. S. Aspectos críticos no estudo da floração do café. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Efeitos da irrigação sobre a qualidade e produtividade do café**, p. 149-172, 2004.

RENA, A. B.; BARROS, R. S.; MAESTRI, M. Desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Tecnologas de produção de café com qualidade**. 2001, p. 101-128.

RONCHI, C. P.; DAMATTA, F. M. Aspectos fisiológicos do café conilon. In: FERRÃO, G. F. et al. (Orgs.). **Café Conilon**. Vitória: Incaper, 2007. p. 67-91.

RONCHI, C. P.; DAMATTA, F. M. **Aspectos fisiológicos do café conilon**. In: FERRÃO, R.G.; FONSECA, A.F.A.da; FERRÃO, M.A.G.; DE MUNER, L.H.. (Org.). **Café Conilon**. 2ed.Vitoria: DCM/Incaper, 2016, v. 1, p. 103-129

SAITO, T.; TERASHIMA, I. Reversible decreases in the bulk elastic modulus of mature leaves of deciduous *Quercus* species subjected to two drought treatments. **Plant, Cell Environment**, v. 27, p. 863-875, 2004.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

SCHNABLE, P. S.; WISE, R. P. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. **Trends in Plant Sciences**, v. 3, p. 175-180, 1998.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, n. 8, p. 854-864, 2005.

SHIGAKI, F. et al. Influência do estresse hídrico nos parâmetros de crescimento, acúmulo e produtividade de diferentes variedades de cana-de-açúcar em Miracema - RJ. **Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida**, v. 24, n. 1, p. 63-71, 2004.

SILVA, J. G. F. da; REIS, E. F. dos. **Irrigação do cafeeiro conilon**. In: FERRÃO, G. F. et al (Orgs.). **Café Conilon**. Vitória: Incaper, 2007. p. 67-91.

SILVA, J.G.F da; REIS, E;F. dos. **Irrigação e Manejo da água no café conilon**. In: FERRÃO, R.G.; FONSECA, A.F.A.da; FERRÃO, M.A.G.; DE MUNER, L.H.. (Org.). **Café Conilon**. 2ed.Vitoria: DCM/Incaper, 2016, v. 1, p. 357-397.

SILVA, V. A. et al. 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.

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**, n. 87, p. 49-57, 2013.

SILVEIRA, J. S. M.; CARVALHO, C. H. S. **Efeito da época de irrigação sobre o crescimento do ramo plagiotrópico e da longevidade foliar do café conilon**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 22., 1996, Águas de Lindóia. Trabalho apresentados... Águas de Lindóia: SDR/Procafé/Embrapa, 1996. p. 99-100.

SZMIDT, A. E.; ALDEN, T.; HÄLLGREN, J-E. Paternal inheritance of chloroplast DNA in *Larix*. **Plant Molecular Biology**, v. 9, p. 59-64, 1987.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Artmed, Porto Alegre, 2006. 819 p. Varginha: Procafé, 2002. 387 p.

TERASHIMA, I.; EVANS, J. R. Effects of light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in spinach. **The Plant Cell Physiology**, n. 29, p. 143-155, 1988.

VERSLUES, P. E. et al. 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.

XAVIER, R.; CLIFFORD, Z. Organelle inheritance in plants. **Heredity**, n. 72, p. 132-140, 1994.

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.

## II. HIPÓTESE DO TRABALHO

Considerando as alterações climáticas que vem ocorrendo ao longo dos anos, principalmente à seca, que tem causado grandes prejuízos na produtividade no cafeeiro, o Incaper tem realizado pesquisas no intuito de selecionar plantas que sejam mais tolerantes à seca. Em um dos seus trabalhos de campo, na fazenda experimental de Marilândia-ES, foi realizado um cruzamento dialélico recíproco, entre clones suscetíveis (109) e tolerantes (120) à seca, que foram submetidas ao estresse hídrico, que abriram várias possibilidades estudos. Assim levantamos a hipótese da herança materna para tolerância à seca nas populações, devido à presença dos cruzamentos recíprocos, estudando a probabilidade do clone 120 sendo o genótipo parental mãe, na influência dos melhores resultados na progênie para tolerância à seca e para selecionar os genótipos de maior relevância em condições de déficit hídrico, importante para o melhoramento genético do café.

### 2.1. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar características morfofisiológicas em progênies de café conilon submetidas à seca, avaliando a morfologia das plantas, fotossíntese e quantificação química dos tecidos foliares, analisar a possibilidade de herança materna extracromossômica para tolerância à seca e identificar genótipos mais tolerantes à seca, utilizando-se duas populações de *Coffea canephora* (120x109 e 109x120).

### 2.2. Objetivos Específicos

- Verificar a alteração da fisiologia e morfologia de acordo com as condições do ambiente, entre as épocas de avaliação do experimento e entre os indivíduos;
- Analisar a possibilidade da herança materna nas progênies;
- Identificar qual das duas populações (120x109 e 109x120) conseguem manter melhores características morfofisiológicas em condições de estresse hídrico;
- Avaliar a variabilidade entre os indivíduos e nas épocas de avaliação, principalmente, através do coeficiente de variação (CV) e pelos gráficos box plot;
- Determinar genótipos superiores para tolerância à seca, que apresentem características de desenvolvimento importantes para um programa de melhoramento genético de plantas, possuindo potencial para bons rendimentos em condições de déficit hídrico;
- Identificar as variáveis mais relevantes para discriminar os genótipos mais tolerantes à seca.

### **III. CAPÍTULO 1: ANÁLISES DE PARÂMETROS MORFOFIOLÓGICOS EM PROGÊNIES DE CAFÉ CONILON COM PROSPECÇÃO A HERANÇA MATERNA PARA TOLERÂNCIA À SECA.**

#### **RESUMO**

O agronegócio do café é uma das atividades mais importantes no aspecto socioeconômico do Brasil. Os programas de melhoramento têm procurado genótipos com maior aclimatação em ambientes com restrição hídrica, devido principalmente às alterações climáticas que vem ocorrendo em várias regiões no país. Para isto, o estudo da morfologia e fisiologia das plantas tem auxiliado na seleção de materiais superiores para tolerância à seca. O objetivo deste capítulo foi avaliar características morfofisiológicas em duas progênies de café conilon, oriundas do cruzamento entre genótipos parentais contrastantes à seca, clone 109, suscetível e clone 120, tolerante. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental do Incaper de Marilândia - ES. Utilizou-se a estatística descritiva para avaliar a possibilidade de herança materna para tolerância à seca nos cruzamentos recíprocos e verificar a variabilidade das progênies. Com os resultados do estudo, foi possível sugerir a herança materna para tolerância à seca, abrindo possibilidades de estudos mais aprofundados na genômica do DNA cloroplastídico, com a possibilidade de entendimento do efeito epigenético na adaptação das plantas em condições de estresse hídrico para herança materna. A população 120x109 conseguiu manter melhores características morfofisiológicas no período de maior seca (abril/2016), não apresentando diminuições nas concentrações Cl. total e Carot, indicando menor produção de ROS nos tilacóides. Apresentaram também maior média na assimilação de CO<sub>2</sub> (A), com a mesma média de condutância estomática (A/g) nas duas populações. Foi possível identificar grande variabilidade entre os indivíduos e nas épocas de avaliação, principalmente, através do coeficiente de variação (CV) e pelos gráficos box plot. Indicando o favorecimento na seleção de indivíduos que possuem maior aptidão para tolerar à seca com características adequadas ou não para o desenvolvimento em condições de seca.

### 3.1. INTRODUÇÃO

O café é um produto de grande importância comercial para o Brasil e muitos outros países, tendo a espécie *C. canephora* destaque de desenvolvimento e produtividade no estado do Espírito Santo (FAO, 2015). Entretanto, o rendimento desta cultura tem diminuído nos últimos anos, devido, principalmente, aos estresses biótico e abiótico (FERRÃO et al., 2016a; CONAB, 2016).

Por isso, programas de melhoramento têm focado em trabalhos para incorporação de resistência a pragas, doenças e nematoides, tolerância a estresses abióticos e no desenvolvimento de cafés de qualidade. Aliando também à manutenção/aumento da produtividade, adaptabilidade, estabilidade e à sustentabilidade (HERRERA et al., 2001; VOSSSEN, 2005, FERRÃO et al., 2009; FERRÃO et al., 2016b).

Muitas dessas características estão voltadas para melhoria genética desta cultura, na busca por materiais mais adaptados às variações climáticas, visto as alterações que vêm ocorrendo em nosso planeta, em especial à seca, que tem se destacado (COLLINS et al., 2008).

A falta de água é um dos estresses abióticos mais comuns, que limita a distribuição de muitas plantas a determinados ambientes e a produtividade de muitas culturas. É causada por chuvas insuficientes e/ou padrões de precipitação alterados (TOKER et al., 2007). Seca é muitas vezes acompanhada por temperaturas relativamente altas, que promovem a evapotranspiração e afeta os processos fotossintéticos. Prevê-se que a sua ocorrência irá aumentar significativamente em muitas regiões produtoras de alimentos (COLLINS et al., 2008; REYNOLDS; ORTIZ, 2010).

Sendo assim, materiais de conilon tolerantes à seca, têm sido estudados para seleção de genótipos superiores (MARRACCINI et al., 2012; FERRÃO et al., 2016ac). Para isso, muitas metodologias são utilizadas, como a análise dialélica, que fornece estimativas de parâmetros úteis na seleção de genitores para hibridação e para o entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres. Podendo-se prever a análise dos ganhos genéticos esperados com a seleção e os estudos de heterose (JINKS, 1955), de efeitos gênicos extranucleares e da interação efeito gênico x ambiente, no caso de avaliação experimental em mais de uma condição ambiental (ALLARD, 1955).

A maioria dos caracteres dos organismos superiores é controlada por genes nucleares, que segregam de acordo com o comportamento dos cromossomos na meiose. Entretanto, existe outro grupo de caracteres herdado em função dos genes ou produtos gênicos presentes no citoplasma, no qual o gameta feminino contribui com quase a totalidade do citoplasma para o descendente. Este tipo de herança pode ser explicado pelo efeito materno ou herança extracromossômica, e para identificá-las, deve-se verificar se

existe diferença entre os resultados da segregação de um cruzamento e de seu recíproco (RAMALHO et al., 2001).

Considerando os resultados que Lida et al. (2007) observaram, de herança materna para tolerância à seca, em híbridos de planta aquática (*Potamogeton anguillanus*) e a possibilidade de trabalhar com progênies híbridas de café conilon, oriundas de cruzamentos dialelos recíprocos, submetidas à seca no campo. Objetivou-se neste estudo, avaliar a possibilidade de herança materna para tolerância à seca, em cruzamentos dialelos recíprocos, entre os clones 109 (suscetível à seca) e 120 (tolerante à seca) (RONCHI; DAMATA, 2007) e verificar a variabilidade das progênies para averiguar se existe probabilidade de seleção de indivíduos tolerantes à seca nestas populações.

## 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1. Material genético

Os materiais genéticos utilizados neste trabalho foram obtidos e cedidos pelo programa de Melhoramento de Café do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). O trabalho foi conduzido na Fazenda Experimental de Marilândia, pertencente ao Incaper, que está localizada no município de Marilândia, região Noroeste do Estado do Espírito Santo. O local do experimento, segundo a carta agroclimática do Espírito Santo (Feitosa, 1986) apresenta latitude de 19°24' sul e longitude de 40°31' oeste, altitude de 104 m, solo classificado como cristalino, com baixa fertilidade, precipitação pluviométrica anual de 1.100 mm, temperatura média anual de 24°C, umidade relativa média do ar de 74% e topografia ondulada acidentada, característica da região.

Foram avaliadas famílias de irmãos completos oriundas de cruzamentos controlados entre clones de *C. canephora*.

As progênies dos cruzamentos entre os clones 120x109 (58 progênies) / 109x120 (19 progênies) foram levadas a campo em agosto de 2008 e Maio de 2009, respectivamente, no espaçamento de 3,0 x 1,0 m. Os progenitores dos cruzamentos são clones de café Conilon com características de interesse para a cafeicultura, sendo: I) clone 109: clone de café conilon, porte médio, maturação média, suscetível à ferrugem e à seca; II) 120: clones de café Conilon de porte médio, maturação média, suscetível à ferrugem, vigoroso e tolerante à seca.

O experimento foi conduzido sem irrigação. As adubações, podas, desbrotas, tratamentos culturais e fitossanitários seguiram as recomendações técnicas da cultura (Ferrão et al., 2007, 2012).

### 3.2.2. Época de avaliação

Os dados experimentais deste estudo foram coletados por planta e em três épocas distintas, entre julho/2015 a abril/2016: 1ª) 14/07 a 21/07/2015, 2ª) 10/12 a 18/12/2015 e 3ª) 21/04 a 27/04/2016.

Em cada época foram tomados dados de características morfológicas, fotossintéticas e de composição química dos tecidos foliares.

### 3.2.3. Características Morfológicas

Foram selecionados dois ramos plagiotrópicos em cada época de análise, que melhor representasse a planta e seguiu-se o padrão de coleta, no oitavo ramo plagiotrópico (contando de cima para baixo), estando sem frutos. Nestes foram avaliados o comprimento (Comp) do ramo e comprimento entrenódio (CE), através da contagem do número de rosetas. Nas folhas dos dois ramos foram calculados a área foliar total (AFT) e área foliar unitária (AFU), seguindo o modelo proposto por Antunes et al., (2008). Foram coletadas também quatro folhas índices, no terceiro ou quarto par do ramo plagiotrópico, por planta, para cálculo da área foliar específica (AFE), para tal vinte discos foliares com 1,5 cm de diâmetro (SILVA et al., 2013) e mediu-se a espessura destas folhas com auxílio de Paquímetro Inox Digital 150 Mm 684132 - Lee Tools.

Nas análises de Julho de 2015, as progênies foram podadas, por isso a densidade do lenho caulinar (DLC), no ramo ortotrópico foi realizada, seguindo o modelo proposto por Silva et al. (2013). Para todas as coletas realizadas, houve a avaliação da massa seca, folhas, ramos plagiotrópicos, ramos ortotrópicos e discos foliares, colocados em estufa a 60° C por uma semana e pesados em balança semi analítica Marte ad200.

Através destas avaliações foi possível estimar a razão da área foliar (RAF).

### 3.2.4. Medições fotossintéticas

As avaliações das trocas gasosas foram realizadas em folhas do terceiro ou quarto par do ramo plagiotrópico, a partir da mensuração da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), a condutância estomática ao vapor de água (gs), a taxa de transporte de elétrons (ETR). Estas avaliações, foram medidas entre os horários de 08:00-11:00 h, em sistema aberto, sob luz e concentração de CO<sub>2</sub> ambientes e pressão parcial de CO<sub>2</sub> de 40 Pa sob PAR artificial, isto é 1200 e 200  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  ao nível da folha, em analisador de gás infravermelho (IRGA) modelo Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, EUA. De posse destes dados, foram quantificadas a eficiência no uso da água intrínseca (A/g<sub>s</sub>)

### 3.2.5. Composição química dos tecidos foliares

A maioria das análises químicas seguiram os procedimentos descritos em Poorter; Villar (1997), com algumas modificações. Foram coletadas quatro folhas do terceiro ou quarto par do ramo plagiotrópico, em seguida foram armazenadas em freezer -80°C, liofilizadas e maceradas com gral e pistilo.



### 3.2.5.1. Quantificação de clorofilas e carotenoides totais

Foram pesados 25 mg de tecido foliar liofilizado/ triturado em tubos de 2 mL e adicionado 1,5 mL de acetona 80% v/v, levou-se ao vórtex para homogeneizar e seguiu-se a centrifugação por 5 minutos a 13600 rpm (Thermo Scientific - Heraeus Pico e Fresco). Transferiu-se 1 mL do extrato para novos tubos de 2 mL e realizou-se a leitura da amostra em absorvância de 470 nm, 646,8 nm e 663,2 nm no espectrofotômetro. O extrato ficou muito concentrado, por isso foi feita uma diluição de 80 µL do extrato com 920 µL de acetona 80% e novamente realizou-se a leitura no espectrofotômetro. Os valores de absorvância esperados estão entre 0,2 nm e 0,8 nm (LICHTENTHALER, 1987).

As concentrações de clorofila e de carotenoides (em ng/L) foram calculadas utilizando-se as seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila a} = C_a = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8}$$

$$\text{Clorofila b} = C_b = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}$$

$$\text{Clorofilas totais} = C(a+b) = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8}$$

$$\text{Carotenoides (xantofilas + carotenos)} = (1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b) / 198$$

Para determinação da clorofila e carotenoides na amostra, levou-se em consideração a quantidade de amostra pesada inicialmente, as diluições e a quantidade do extrato utilizado para fazer a leitura no espectrofotômetro.

### 3.2.5.2. Quantificação de nitrogênio nítrico

A quantificação de  $\text{NO}_3$  foi realizada conforme Cataldo et al. (1975), com algumas modificações. Para o preparo do extrato bruto, foram pesadas 0,1 g de folhas liofilizadas/ trituradas em tubos de ensaio e adicionados 1 mL de etanol absoluto e 10 mL de água destilada, levou-se ao banho-maria a temperatura de 45°C por 60 minutos. Ao esfriarem os tubos, foi adicionado aproximadamente 250 mg de carvão ativo, agitado e filtrado em papel de filtro lento (esta etapa foi repetida até obter um filtrado cristalino).

As concentrações da curva padrão foram de 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm e 100 ppm, utilizando-se como solução estoque de referência o nitrato de potássio na concentração de 0,1628%. No preparo da amostra para leitura no espectrofotômetro, foram utilizados 20 µL do extrato bruto, 80 µL de ácido salicílico 5% em ácido sulfúrico absoluto e 1900 µL de hidróxido de sódio 2N em tubos de 2 mL. Após 30 minutos de repouso, foi feita leitura da absorvância da amostra em espectrofotômetro a 410 nm.

Para determinação exata de  $\text{NO}_3$  na amostra, levou-se em consideração a equação da curva padrão, a quantidade de amostra pesada inicialmente, as diluições e a quantidade do extrato utilizado para fazer a leitura no espectrofotômetro.

### 3.2.5.3. Quantificação nitrogênio orgânico $\text{NH}_4^+$

Para o preparo do extrato bruto, foram pesadas 0,1 g de folhas liofilizadas/ trituradas em tubos digestor e adicionados 1 mL de ácido sulfúrico P.A. (deixados aproximadamente 12 horas para uma pré-digestão). Após este período foram adicionados 1 mL de peróxido de hidrogênio 35% e as amostras foram colocadas em um bloco digestor, elevando a temperatura lentamente até atingir 300°C, mantendo-se nesta temperatura por 30 minutos. Esperou-se esfriar até 150°C, aos tubos que apresentaram extrato amarelo ou preto, foi adicionado novamente 1 mL de peróxido de hidrogênio e levados novamente para digestão da amostra, subindo a temperatura do bloco digestor até atingir a 200°C e mantendo-se esta temperatura por 15 minutos para terminar de clarificar as amostras. Após os extratos esfriarem, foram adicionados 24 mL de água destilada em cada tubo e homogeneizados em vórtex.

As concentrações da curva padrão utilizadas foram de 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm e 8 ppm, utilizando-se como solução estoque de referência o sulfato de amônio na concentração de 0,025%. Para o preparo das amostras foram utilizados 100 µL do extrato, 3,9 mL de água destilada, 500 µL de tartarato de sódio 10% e 500 µL de reagente de Nessler, em tubos de ensaio de 5 mL. Após 20 minutos de repouso, foi feita leitura da absorbância da amostra no espectrofotômetro a 480 nm.

Para determinação de  $\text{NH}_4^+$  na amostra, levou-se em consideração a equação da curva padrão, a quantidade de amostra pesada inicialmente, as diluições e a quantidade do extrato utilizado para fazer a leitura no espectrofotômetro.

De posse dos valores de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ , foi calculada a quantidade de nitrogênio total (N. total), através da soma na forma orgânica e nítrica.

### 3.2.5.4. Preparo do extrato etanólico para determinação de compostos fenólicos e aminoácido prolina.

Foram pesados 50 mg de folhas liofilizadas/ maceradas em tubos de 2 mL e adicionados 500 µL de etanol 98% com posterior agitação em vórtex. Em seguida os tubos foram levados ao banho maria à 80°C por 20 minutos, centrifugados a 14000 rpm (Thermo Scientific - Heraeus Pico e Fresco) por 5 minutos e coletado o sobrenadante, adicionando em um novo tubo de 2 mL. Adicionou-se 500 µL de etanol 80% ao pellet, novamente agitou-se no vórtex, levou-se ao banho maria a 80°C por 20 minutos, centrifugou-se a 14000 rpm (Thermo Scientific - Heraeus Pico e Fresco) por 5 minutos e coletou-se o sobrenadante, misturando-se ao sobrenadante anterior. O procedimento foi repetido, acrescentando 500 µL de etanol 50% e misturando o novo sobrenadante aos anteriores.

### 3.2.5.5. Quantificação de compostos fenólicos solúveis totais

Para o preparo da amostra, o extrato etanólico foi diluído, coletando 50  $\mu\text{L}$  do extrato, completando o volume para 2 mL com etanol 80%. Deste foi utilizado 30  $\mu\text{L}$ , 470  $\mu\text{L}$  de água destilada, 250  $\mu\text{L}$  de reagente de Folin-Ciocalteu (diluído de 50 mL em 450 mL de água destilada) e 1250  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio 10%. Em seguida foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 725 nm. Para determinação de fenol, levou-se em consideração a equação da curva padrão, a quantidade de amostra pesada inicialmente, a diluição do extrato etanólico e a quantidade do extrato utilizado para fazer a leitura no espectrofotômetro.

Foi utilizado como padrão para quantificação de fenol total, o ácido tânico, pesando-se 500 mg e diluindo em 100 mL de etanol 80%, em seguida, foi rediluído, coletando-se 1 mL da mistura acima em 100 mL de etanol 80%. Para o preparo da curva padrão foi utilizado a solução de ácido tânico rediluída, na concentração de 0  $\mu\text{g}$ , 1,25  $\mu\text{g}$ , 2,5  $\mu\text{g}$ , 5  $\mu\text{g}$ , 7,5  $\mu\text{g}$  e 10  $\mu\text{g}$ .

### 3.2.5.6. Quantificação do aminoácido prolina

Para o preparo da curva padrão foi utilizado uma solução de prolina a 50  $\mu\text{M}$ , nas concentrações de 0  $\mu\text{mol}$ , 0,020  $\mu\text{mol}$ , 0,050  $\mu\text{mol}$ , 0,086, 0,160  $\mu\text{mol}$ , 0,188  $\mu\text{mol}$ , 0,26  $\mu\text{mol}$  e 0,29  $\mu\text{mol}$ . Para o preparo da amostra foram utilizados 150  $\mu\text{L}$  do extrato etanólico bruto, 2,75 mL de água destilada, 100  $\mu\text{L}$  de glicina 126 mM, 2 mL de ácido acético glacial, 2 mL de reagente de ninhidrina. Os tubos foram levados ao banho maria à 95°C por 35 minutos, em seguida a reação foi interrompida depositando-se os tubos em banho de gelo, posteriormente, acrescentou-se 4 mL de tolueno, seguindo-se à agitação dos tubos e foram agitados vigorosamente no vórtex por 10 segundos. O cromóforo contendo tolueno (fase rósea superior) foi aspirado com uma pipeta descartável e colocado em outro tubo de vidro. Em seguida foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 515 nm. Para determinação exata de prolina nas amostras, levou-se em consideração a equação da curva padrão, a quantidade do extrato etanólico total produzido e a quantidade de amostra pesada inicialmente (BATES et al., 1973).

### 3.2.6. Análise dos dados

#### 3.2.6.1. Estatística Descritiva

Foi utilizado a estatística descritiva utilizando o Microsoft Office Excel 2010, para cálculo de medidas de posição e dispersão, como a média ( $\bar{X}$ ), Erro Padrão da Média (dp), Coeficiente de Variação (CV), Assimetria (As) e curtose (C).

As medidas de tendência central foram utilizadas para determinar um ponto em torno do qual se concentram os dados. A média aritmética é a soma de todos os valores observados da variável dividida pelo número total de observações. Sob uma visão geométrica a média de uma distribuição é o centro de gravidade, representa o ponto de equilíbrio de um conjunto de dados.

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i \quad \text{Média Amostral}$$

A mediana (Md) é o valor que ocupa a posição central da série de observações de uma variável, em rol, dividindo o conjunto em duas partes iguais, ou seja, a quantidade de valores inferiores à mediana é igual à quantidade de valores superiores a mesma.

As medidas de dispersão foram utilizadas para auxiliar as medidas de tendência central a descrever o conjunto de dados adequadamente.

$$s^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2 \cdot f_i}{n - 1} \quad \text{Variância da Amostra}$$

$$dp(\bar{X}) = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad \text{Erro padrão da média}$$

$$CV = \frac{sx100}{\bar{X}} \quad \text{Coeficiente de Variação}$$

As separatrizes foram calculadas para medir as posições do conjunto de dados, em rol, dividindo-o em partes iguais. Os quartis dividem o conjunto de dados em quatro partes iguais.

Estatística	Notação	Interpretação	Posição
1º quartil	$Q_1$	25% dos dados são valores menores ou iguais ao valor do primeiro quartil.	$P= 0,25(n+1)$
2º quartil	$Q_2=M_d$	50% dos dados são valores menores ou iguais ao valor do segundo quartil.	$P= 0,50(n+1)$
2º quartil	$Q_3$	75% dos dados são valores menores ou iguais ao valor do terceiro quartil.	$P= 0,75(n+1)$

A medida de assimetria foi determinada para indicar a forma da distribuição dos dados, através do coeficiente de assimetria de Pearson (As) definido como:

$$As = \frac{3(\bar{X} - Md)}{\bar{X}}$$

Se  $As < 0$  a assimetria é negativa. O lado mais longo do polígono de frequência (cauda da distribuição) está à esquerda do centro.

Se  $As > 0$  a assimetria é positiva. O lado mais longo do polígono de frequência está à direita do centro

Para complementar a caracterização da dispersão em uma distribuição foi calculado a curtose ou achatamento. Esta medida quantifica a concentração ou dispersão dos valores de um conjunto de dados em relação às medidas de tendência central em uma distribuição de frequências.

$$K = \frac{Q3 - Q1}{2(P90 - P10)}$$

Uma distribuição é classificada quanto ao grau de achatamento como:

Leptocúrtica: quando a distribuição apresenta uma curva de frequência bastante fechada, com os dados fortemente concentrados em torno de seu centro,  $K < 0,263$ .

Mesocúrtica: quando os dados estão razoavelmente concentrados em torno de seu centro,  $K= 0,263$ .

Platicúrtica: quando a distribuição apresenta uma curva de frequência mais aberta, com os dados fracamente concentrados em torno de seu centro,  $K > 0,263$ .

O gráfico Box Plot (ou desenho esquemático) foi construído a partir dos dados da medida de posição e dispersão. Para esta análise gráfica utilizou-se cinco medidas estatísticas: valor mínimo, valor máximo, mediana, primeiro e terceiro quartil da variável

quantitativa. Este conjunto de medidas permitiu-nos identificar a posição, dispersão, assimetria, caudas e dados discrepantes.

À distância a partir da qual foi considerado como um valor discrepante foi o que superou  $1,5dq$ . De maneira geral, foi considerados outliers todos os valores inferiores  $Li=Q1-1,5dq$  ou os superiores a  $Ls=Q3+1,5dq$ .

### 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1. Observações climáticas nos períodos de coletas de dados.

A Figura 1 e a Figura 2 demonstram um histórico de dados climáticos de 1984 a 2014 e a média mensal dos anos de 2015 e 2016, período que o experimento foi realizado. Verifica-se uma alta média máxima e mínima de temperatura e médias de precipitação muito baixas em muitos meses de 2015 e 2016, em relação aos dados históricos apresentados. O único período que houve uma pequena precipitação, durante todas as avaliações deste experimento, foi de 14/07 a 21/07 de 2015 com precipitação média durante esses dias de 25 mm, com ocorrência de chuvas em apenas um período do dia, ou pela manhã, ou à tarde, ou à noite. No período de 10/12 a 18/12/ 2015, houve uma pequena chuva no primeiro dia das análises e o tempo ficou com aspecto mais úmido e um pouco nublado durante os outros dias. A terceira avaliação, de 21/04 a 27/04/2016, caracterizou-se como o período mais seco e quente de todo o experimento, visto que as plantas já haviam passado por um longo ciclo sem chuva e algumas apresentavam aspecto crítico de sobrevivência.

O acompanhamento da safra brasileira do café descrito pela CONAB (2016) relatou decréscimo na produção de *C. canephora* no estado do Espírito Santo nos anos de 2015 e 2016, devido, principalmente, aos problemas climáticos desencadeados pela seca na região. As Figuras 1 e 2 ilustram as diferenças de temperatura e precipitação em relação aos anos anteriores, demonstrando grandes modificações, para muitos meses dos anos de 2015 e 2016, incluindo as épocas das avaliações do experimento que, provavelmente, provocou alteração no ciclo fenológico do cafeeiro, desencadeando menor rendimento para a cultura.

Em julho e dezembro de 2015, foi observado o fenômeno físico do orvalho, sendo que pela manhã as folhas encontravam-se muito úmidas, devido ao vapor de água que se condensa e se deposita durante a noite e manhã, pela diminuição da temperatura ou em contato com superfícies frias, formando gotículas muito finas e permanecendo sobre a vegetação. Entretanto em Abril de 2016, este fenômeno não foi verificado, mesmo iniciando as análises às 7 horas da manhã, as plantas estavam secas, demonstrando a falta de água no ambiente e baixa umidade relativa do ar. O período de seca do experimento foi se acumulando durante o período de tomada de dados do experimento, ocorrendo também o aumento da temperatura mínima e máxima, isso pode ter causado a não diminuição da temperatura do ambiente, durante a noite, o suficiente, para não formar vapor de água nas folhas (orvalho).

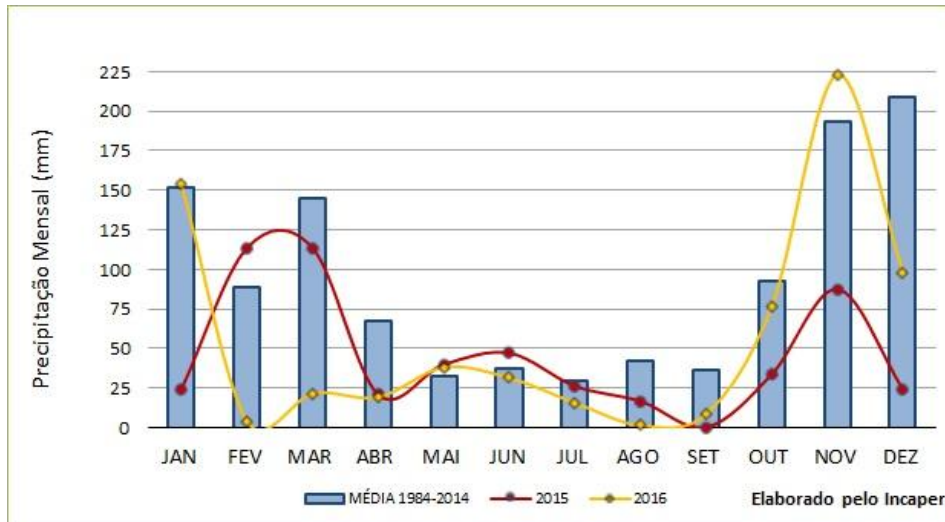


Figura 1: Dados médios comparativos da precipitação mensal da série histórica da estação meteorológica do Incaper localizada no município de Marilândia-ES.

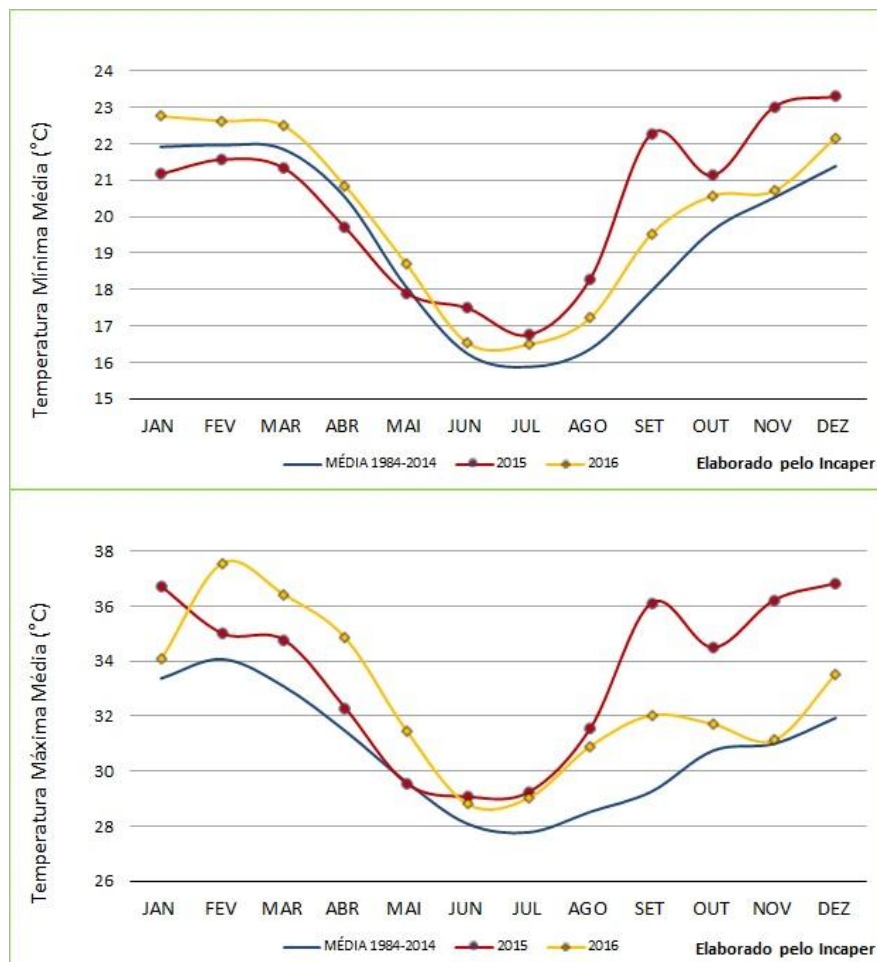


Figura 2: Dados médios comparativos da média da temperatura mínima e máxima da série histórica da estação meteorológica do Incaper localizada no município de Marilândia-ES.



### 3.3.2. Prospecção a herança materna cloroplastídica

Nas Tabelas 1, 2 e 3 encontram-se as medidas de posição e dispersão da população 120x109 e 109x120, referentes à primeira, segunda e terceira avaliação. No geral houve muitas modificações entre as variáveis ao longo dos três períodos das análises. De julho a dezembro de 2015 da população 120x109, observa-se que houve diminuição das médias de comprimento (Comp) (cm), largura (L) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>), espessura (Esp) (µm), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), prolina (µmol g<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (% g<sup>-1</sup>), fotossíntese (A) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (gs) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), eficiência no uso da água intrínseca (A/g) (µmol). Neste período, para a população 109x120, somente verificou-se diminuição para as características, Esp, área foliar específica (AFE) (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, A, gs e ETR. Em abril/2016 (3ª avaliação), as médias da maioria dos parâmetros diminuiram muito, considerando os dados obtidos das duas populações.

Tabela 1: Medidas de posição e dispersão de café conilon, oriundas dos cruzamentos 120x109 (58 progenies – P1) e 109x120 (19 progênies – P2), referentes à primeira avaliação (julho/2015) – Incaper.

MEDIDAS	X		EP		CV		As		C	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
Comp (cm)	12,83	11,94	0,14	0,22	8,14	8,40	-0,36	-0,60	1,89	1,47
L (cm)	5,44	5,23	0,07	0,11	9,55	9,88	0,26	-0,16	0,55	0,23
AFU (cm)	49,06	43,76	1,04	1,62	16,13	16,92	0,30	0,46	127,88	66,48
AFT (cm <sup>2</sup> )	924,04	851,87	41,34	65,20	34,07	35,08	0,27	-0,79	204597,9	186528,7
CRP (cm)	47,90	43,83	1,01	2,58	16,02	26,99	0,19	-0,55	119,53	220,06
CE (cm)	3,30	3,29	0,04	0,07	8,75	9,68	0,20	-0,69	0,13	0,21
Esp (µm)	248,72	259,90	2,68	4,24	8,21	7,47	-0,48	-0,32	782,60	729,60
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	116,62	125,33	1,84	3,18	12,03	11,64	0,15	-0,18	415,61	462,09
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	64,24	66,85	1,60	2,84	18,95	19,47	0,38	0,44	185,55	165,14
DLC (g cm <sup>3</sup> )	0,61	0,69	0,41	0,01	304,89	5,60	0,40	0,21	0,00	0,00
Cl total (g kg <sup>-1</sup> )	4,49	4,67	0,09	0,10	16,09	9,88	-0,07	-0,84	0,91	0,35
Carot. (g kg <sup>-1</sup> )	0,78	0,81	0,01	0,02	14,20	12,07	0,03	-0,50	0,02	0,02
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,51	0,52	0,02	0,03	37,43	22,48	0,98	0,69	0,06	0,03
N. total (% g <sup>-1</sup> )	3,41	3,38	0,06	0,19	13,46	25,08	0,56	-0,37	0,23	0,16
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	2,12	2,08	0,01	0,02	5,04	4,83	0,56	0,39	0,01	0,02
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	3,44	6,54	0,29	0,39	63,46	27,11	1,04	-0,09	6,01	5,40
A (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	11,10	14,96	0,31	0,31	21,24	9,59	-0,30	-0,10	8,79	4,17
gs (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,12	0,21	0,01	0,01	48,35	23,03	-0,10	0,22	0,01	0,01
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	87,86	104,73	2,65	2,69	22,95	11,75	-0,70	-0,36	608,57	363,47
A/g (µmol)	106,07	75,34	5,55	3,52	39,85	21,42	1,04	0,58	2833,80	458,50

Comprimento (Comp) (cm), largura (L) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>), comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), espessura (Esp) (µm), 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>), clorofila total (C. total) (g kg<sup>-1</sup>), carotenoide (Carot) (g kg<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), fotossíntese (A) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (gs) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), eficiência no uso da água intrínseca (A/g) (µmol). Média (X), erro padrão da média (EP), coeficiente de variação (CV), assimetria (As), curtose (C).

Tabela 2: Medidas de posição e dispersão de café conilon, oriundas dos cruzamentos 120x109 (58 progenies – P1) e 109x120 (19 progênies – P2), referentes à segunda avaliação (dezembro//2015) – Incaper.

	X		EP		CV		As		C	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
Comp (cm)	12,23	12,31	0,18	0,24	11,42	8,77	-0,45	0,78	3,58	2,20
L (cm)	5,33	5,66	0,08	0,13	12,01	10,69	0,12	0,37	0,72	0,66
AFU (cm)	45,73	48,91	1,23	2,00	20,54	18,72	-0,04	0,85	153,60	145,83
AFT (cm <sup>2</sup> )	819,55	925,46	32,70	56,15	30,38	27,80	-0,42	0,79	105835,32	134410,03
CRP (cm)	50,75	52,45	1,36	2,19	20,38	19,16	-0,43	0,31	206,40	216,86
CE (cm)	5,02	5,30	0,13	0,16	20,40	13,88	0,48	-0,10	0,67	0,57
Esp (µm)	244,38	235,81	2,85	4,11	8,88	7,98	0,05	-0,35	688,60	914,40
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	123,66	110,80	1,88	2,42	11,59	10,02	0,37	0,10	304,70	291,59
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	76,28	83,90	1,59	4,20	15,85	22,94	-0,09	0,83	187,31	169,18
Cl total (g kg <sup>-1</sup> )	4,91	4,89	0,11	0,17	16,35	15,79	0,03	0,25	1,31	1,20
Carot (g kg <sup>-1</sup> )	1,07	1,04	0,02	0,03	13,55	12,79	0,02	0,04	0,04	0,04
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,32	0,35	0,01	0,02	28,74	24,62	0,70	0,10	0,02	0,02
N. total (% g <sup>-1</sup> )	4,67	4,61	0,06	0,16	9,78	16,02	-0,07	0,29	0,31	1,04
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	2,09	2,17	0,03	0,07	10,06	14,83	0,06	-0,71	0,08	0,10
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	10,71	11,38	0,42	0,79	29,77	31,94	0,61	0,87	17,42	19,98
A (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	6,54	7,39	0,27	0,61	31,27	37,96	-0,27	-0,13	8,94	16,32
gs(µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,07	0,10	0,00	0,01	47,94	45,64	0,32	0,24	0,00	0,00
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	80,61	69,14	1,84	3,87	17,38	25,63	0,26	-0,04	333,18	579,64
A/gs (µmol)	96,38	76,17	2,78	3,89	22,00	23,40	0,04	0,73	872,20	690,60

Comprimento (Comp) (cm), largura (L) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>), comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), espessura (Esp) (µm), 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>), clorofila total (C. total) (g kg<sup>-1</sup>), carotenoide (Carot) (g kg<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), fotossíntese (A) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (gs) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), eficiência no uso da água intrínseca (A/gs) (µmol).

Média (X), erro padrão da média (EP), coeficiente de variação (CV), assimetria (As), curtose (C).

Tabela 3: Medidas de posição e dispersão de café conilon, oriundas dos cruzamentos 120x109 (58 progenies – P1) e 109x120 (19 progênes – P2), referentes à terceira avaliação (abril/2016) – Incaper.

	X		EP		CV		As		C	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
Comp (cm)	9,30	8,97	0,12	0,24	9,75	12,06	-0,26	-0,25	1,49	2,38
L (cm)	4,14	4,21	0,07	0,10	12,74	10,99	0,36	0,12	0,40	0,43
AFU (cm)	26,88	26,39	0,76	1,31	21,59	22,79	0,35	-0,09	47,55	69,67
AFT (cm <sup>2</sup> )	481,02	452,88	17,18	43,60	27,21	44,12	0,55	0,95	30346,89	65900,04
CRP (cm)	33,74	33,13	0,73	2,10	16,47	29,03	0,33	0,35	63,30	135,29
CE (cm)	3,83	3,65	0,08	0,09	16,75	11,17	0,30	0,42	0,42	0,20
Esp (µm)	199,38	204,19	2,69	4,15	10,26	9,31	-0,24	0,98	605,80	406,80
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	120,53	115,85	1,20	1,92	7,58	7,58	-0,44	0,63	126,96	108,28
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	83,71	74,17	2,05	2,27	18,63	14,05	-0,19	-0,12	325,58	236,24
Cl total (g kg <sup>-1</sup> )	4,55	4,74	0,10	0,13	16,58	12,86	0,11	0,18	0,82	0,56
Carot. (g kg <sup>-1</sup> )	0,82	0,86	0,02	0,02	14,54	11,16	0,25	0,39	0,02	0,02
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,57	0,35	0,02	0,03	24,77	36,32	0,37	0,98	0,04	0,02
N. total (% g <sup>-1</sup> )	3,50	3,30	0,05	0,05	10,06	6,79	0,49	-0,46	0,21	0,11
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	2,75	2,65	0,01	0,02	3,32	3,41	0,18	0,01	0,01	0,02
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	5,74	5,08	0,38	0,25	50,08	22,89	0,29	0,26	9,91	3,14
A (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	5,33	3,62	0,27	0,55	38,74	69,82	-0,06	1,65	7,57	12,28
gs (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,07	0,07	0,00	0,01	54,07	105,05	0,19	1,28	0,00	0,00
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	44,05	45,91	1,50	3,43	25,87	34,24	-0,26	0,05	270,16	492,04
A/gs (µmol)	93,56	79,65	4,83	10,45	39,35	60,12	1,08	0,18	1823,47	4160,15

Comprimento (Comp) (cm), largura (L) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>), comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), espessura (Esp) (µm), 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>), clorofila total (C. total) (g kg<sup>-1</sup>), carotenoide (Carot) (g kg<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), fotossíntese (A) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (gs) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), eficiência no uso da água intrínseca (A/gs) (µmol).

Média (X), erro padrão da média (EP), coeficiente de variação (CV), assimetria (As), curtose (C).

Comparando-se as populações 109x120 e 120x109, constata-se que em julho/2015 e dezembro/2015 a população 109x120 prevaleceu com as maiores médias dentre as variáveis analisadas. Porém em abril/2016 houve inversão, com a população do cruzamento 120x109 apresentando as maiores médias. Registra-se que no cruzamento 120x109, o clone 109 foi o doador de pólen e o clone 120 a mãe receptora com o óvulo, enquanto no cruzamento 109x120 essa condição foi inversa. Analisando as Figuras 1 e 2 dos dados climáticos, observa-se na terceira avaliação (abri/2016), período de maior estresse hídrico, inversão das maiores médias das variáveis entre as populações.

Analisando as características dos clones 109 e 120 descritos por Ronchi; DaMatta (2007), observa-se que o genótipo 109, suscetível à seca, mantém um controle deficiente da transpiração, com seus estômatos respondendo de forma limitada à redução da disponibilidade de água no solo ou a demanda evaporativa da atmosfera. A desidratação dos tecidos é acelerada sob deficiência hídrica, levando ao colapso do metabolismo, culminando com perda considerável da área foliar e, em última instância, comprometendo irremediavelmente a produção. A exploração econômica desses clones requer, via de regra, a implementação de irrigação, para que os mesmos apresentem excelência em desenvolvimento e produtividade. O clone 120, tolerante a seca, possui sistemas radiculares relativamente profundos, sensibilidade estomática satisfatória à disponibilidade hídrica, alta

condutância hidráulica, comportamento intermediário no que concerne à taxa de desidratação de seus tecidos na seca. Com disponibilidade adequada de água no solo, esses clones aliam taxas de transpiração relativamente elevadas (e, portanto, maior influxo de CO<sub>2</sub> para fotossíntese) com rápida reposição da água transpirada. À medida que a disponibilidade de água no solo diminui, o sistema radicular relativamente profundo garantiria a manutenção parcial da absorção da água. Esse clone, possivelmente, tem certo grau de tolerância protoplasmática (sistema antioxidante mais eficiente) à dessecação, o que possivelmente previne o colapso do metabolismo celular. Normalmente, clones com esse comportamento produzem satisfatoriamente tanto em condições de seca como irrigadas, sendo, pois, denominados de clones de dupla aptidão, porém o clone 109 possui melhor rendimento que o 120 em condições de irrigação.

Com uma melhor compreensão individual dos clones, como exposto acima, verifica-se que no período de maior hidratação das plantas, nos meses de julho/2015 e dezembro/2015, às características do clone 109 prevaleceram melhores. Verifica-se que o clone 109, em todas as épocas, apresentou as maiores médias, para maioria dos parâmetros, em relação ao clone 120 (Tabela 4, 5 e 6).

Tabela 4: Medidas de posição e dispersão de café conilon, dos clones 109 (5 plantas) e 120 (5 plantas), referentes à primeira avaliação (julho/2015) – Incaper.

MEDIDAS	X		EP		CV		As	
	109	120	109	120	109	120	109	120
Comp (cm)	13,27	12,28	0,81	0,34	13,59	6,11	-0,33	0,57
L (cm)	5,62	4,93	0,31	0,16	12,51	7,42	-0,43	1,07
AFU (cm)	52,66	42,13	5,89	1,98	25,03	10,50	-0,23	1,10
AFT (cm <sup>2</sup> )	571,90	610,34	105,28	104,32	41,17	38,22	-0,54	-0,01
CRP (cm)	47,94	55,51	4,82	5,24	22,49	21,12	-0,64	-0,48
CE (cm)	4,24	3,60	0,18	0,30	9,67	18,79	0,21	1,05
Esp (µm)	249,20	210,40	7,71	3,92	6,92	4,17	0,21	-1,92
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	179,36	157,68	10,18	7,13	12,69	10,11	-0,88	-0,56
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	67,66	70,75	5,40	9,19	17,85	29,03	-0,33	1,45
DLC (g cm <sup>3</sup> )	0,66	0,69	0,01	0,02	2,56	6,08	-0,08	0,71
Cl total (g kg <sup>-1</sup> )	6,78	5,74	0,31	0,15	10,26	5,68	0,79	1,27
Carot. (g kg <sup>-1</sup> )	0,96	0,95	0,02	0,04	5,10	9,14	-0,29	-1,42
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,71	0,72	0,17	0,25	52,87	77,53	0,24	0,40
N. total (% g <sup>-1</sup> )	3,65	3,62	0,16	0,23	10,10	14,30	0,87	-1,06
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	2,11	2,20	0,04	0,03	4,64	3,04	1,27	0,42
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	2,47	3,63	0,31	0,57	28,26	35,11	0,51	0,78
A (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	7,77	7,40	0,62	0,52	17,81	15,62	1,23	-1,59
gs (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,11	0,09	0,02	0,01	35,46	22,20	1,18	1,50
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	40,91	52,44	8,99	4,76	49,12	20,31	-0,28	-0,37
A/gS (µmol)	75,93	83,44	5,40	9,37	15,89	25,12	-0,81	0,32

Comprimento (Comp) (cm), largura (L) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>), comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), espessura (Esp) (µm), 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>), clorofila total (C. total) (g kg<sup>-1</sup>), carotenoide (Carot) (g kg<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), fotossíntese (A) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (gs) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), eficiência no uso da água intrínseca (A/gS) (µmol). Média (X), erro padrão da média (EP), coeficiente de variação (CV), assimetria (As).

Tabela 5: Medidas de posição e dispersão de café conilon, dos clones 109 (5 plantas) e 120 (5 plantas), referentes à segunda avaliação (dezembro/2016) – Incaper.

MEDIDAS	X		EP		CV		As	
	109	120	109	120	109	120	109	120
Comp (cm)	13,27	12,28	0,81	0,34	13,6	6,1	-0,33	0,57
L (cm)	5,62	4,93	0,31	0,16	12,5	7,4	-0,43	1,07
AFU (cm)	52,66	42,13	5,89	1,98	25,0	10,5	-0,23	1,10
AFT (cm <sup>2</sup> )	645,78	610,34	140,70	104,32	48,7	38,2	0,30	-0,01
CRP (cm)	22,00	20,40	0,96	1,15	9,8	12,6	-1,60	0,23
CE (cm)	3,68	2,70	0,13	0,08	7,6	6,3	1,29	-0,29
Esp (µm)	238,40	219,60	6,91	12,04	6,5	12,3	-0,70	0,18
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	118,17	143,88	3,25	6,84	6,2	10,6	-1,53	-0,66
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	161,00	251,92	42,32	58,53	58,8	52,0	0,84	-0,82
Cl total (g kg <sup>-1</sup> )	5,47	5,98	0,44	0,35	18,0	12,9	1,29	-0,42
Carot. (g kg <sup>-1</sup> )	1,11	1,18	0,08	0,05	15,7	10,0	1,10	0,91
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,15	0,23	0,02	0,03	22,9	26,0	1,00	0,35
N. total (% g <sup>-1</sup> )	3,31	3,32	0,16	0,09	10,8	5,8	-0,95	0,86
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	2,02	2,21	0,05	0,08	5,8	7,9	-1,35	0,90
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	2,71	3,58	0,39	0,63	31,9	39,6	-0,53	0,67
A (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	7,63	6,72	0,95	0,74	28,0	24,5	-0,25	-0,82
gs (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,07	0,06	0,01	0,01	36,3	27,6	-1,42	0,14
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	69,59	66,85	6,96	4,87	22,4	16,3	1,41	-1,70
A/gs (µmol)	111,38	123,22	7,23	7,77	14,5	14,1	-0,38	0,72

Comprimento (Comp) (cm), largura (L) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>), comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), espessura (Esp) (µm), 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>), clorofila total (C. total) (g kg<sup>-1</sup>), carotenoide (Carot) (g kg<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), fotossíntese (A) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (gs) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), eficiência no uso da água intrínseca (A/gs) (µmol). Média (X), erro padrão da média (EP), coeficiente de variação (CV), assimetria (As).

Tabela 6: Medidas de posição e dispersão de café conilon, dos clones 109 (5 plantas) e 120 (5 plantas), referentes à terceira avaliação (abril/2016) - Incaper.

MEDIDAS	X		EP		CV		As	
	109	120	109	120	109	120	109	120
Comp (cm)	11,48	8,64	0,44	0,26	8,67	6,84	0,36	-0,36
L (cm)	5,11	3,69	0,30	0,13	13,24	7,71	0,27	0,47
AFU (cm)	41,12	22,10	4,06	1,43	22,06	14,48	0,42	0,17
AFT (cm <sup>2</sup> )	402,88	375,73	77,81	47,15	43,18	28,06	-0,17	0,91
CRP (cm)	32,57	31,89	4,04	2,43	27,76	17,03	-0,74	-0,14
CE (cm)	5,85	3,04	1,04	0,14	39,86	10,12	0,04	0,91
Esp (µm)	190,40	164,80	6,76	9,52	7,94	12,92	1,27	-0,45
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	158,06	175,75	12,15	5,96	17,18	7,58	-1,13	-0,22
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	105,30	77,94	20,56	4,23	43,66	12,12	1,59	0,38
Cl total (g kg <sup>-1</sup> )	5,65	4,53	0,63	0,22	24,81	10,62	1,25	1,07
Carot. (g kg <sup>-1</sup> )	1,03	0,83	0,09	0,04	20,25	9,94	0,37	-1,03
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,39	0,58	0,06	0,15	33,07	56,80	-0,31	-0,28
N. total (% g <sup>-1</sup> )	2,86	3,02	0,09	0,26	7,13	19,58	-0,26	-0,49
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	2,78	2,65	0,12	0,01	9,56	1,11	0,72	0,49
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	2,39	2,49	0,31	0,51	28,73	45,65	1,03	1,31
A (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	3,96	3,51	0,93	0,70	52,42	44,52	-0,39	0,63
gs (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,08	0,05	0,01	0,01	38,77	52,57	-1,20	0,50
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	36,07	32,01	3,88	2,39	24,02	16,71	0,52	0,46
A/gs (µmol)	51,02	74,39	6,74	10,29	29,52	30,93	-0,32	-0,52

Comprimento (Comp) (cm), largura (L) (cm), área foliar unitária (AFU) (cm), área foliar total (AFT) (cm<sup>2</sup>), comprimento do ramo plagiotrópico (CRP) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), espessura (Esp) (µm), 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>), clorofila total (C. total) (g kg<sup>-1</sup>), carotenoide (Carot) (g kg<sup>-1</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub>) (% g<sup>-1</sup>), nitrogênio total (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), fotossíntese (A) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (gs) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), eficiência no uso da água intrínseca (A/gs) (µmol). Média (X), erro padrão da média (EP), coeficiente de variação (CV), assimetria (As).

É importante considerar que ambos estavam plantados em uma área irrigada e sombreada, e constatou-se que o clone 109 possui melhores características morfofisiológicas que o clone 120, sem condições de estresse. Silva et al. (2013) estudando os clones 109 e 120, com irrigação e com déficit hídrico, verificaram que com hidratação, os clones 109 apresentaram melhores características morfofisiológicas que o 120, porém quando submetidos ao estresse hídrico, o clone 120 destacou-se.

Analisando as progênies, observa-se que houve comportamento similar aos pais, demonstrando que no período de maior hidratação (julho e dezembro de 2015) a população 109x120 apresentou as maiores médias (para maioria das variáveis), tendo o clone 109 como mãe, entretanto em abril de 2016, período crítico da seca, a população 120x109 apresentaram as maiores médias (maioria das variáveis), tendo o clone 120 como mãe. Mediante as observações apresentadas acima pelos cruzamentos recíprocos, há uma grande possibilidade que as populações estudadas neste experimento possuem herança materna extracromossômica, principalmente devido as explicações de Ramalho et al. (2001) que descreveram que se a herança de um determinado caráter é controlada por genes nucleares, os resultados de um cruzamento e seu recíproco serão similares. Caso haja efeitos citoplasmáticos os resultados dos cruzamentos recíprocos serão diferentes, onde o fenótipo dos descendentes será influenciado pelo genitor feminino que contribuiu com o citoplasma, fato este observado no presente trabalho, já que a média dos recíprocos foi diferente (Tabela 1, 2 e 3).

Bordallo et al. (2005), trabalhando com análise dialélica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agrônômicos e proteína total, conseguiram encontrar efeito no cruzamento, com o genitor feminino contribuindo com sua herança materna, ao observarem diferenças significativas no cruzamento recíproco para característica estande do milho.

IIDA et al., 2007 estudando a herança materna para tolerância à seca em uma planta aquática híbrida natural, *Potamogeton anguillanus* conseguiram identificar diferenças no cruzamento recíproco, M-híbridos e *P. malaianus* (progenitor mãe) formaram mais brotos terrestres e exibiram maior sobrevivência do que P-híbridos e *P. perfoliatus* (progenitor pai) em experimentos de seca.

Latzel et al 2010 estudando os efeitos maternos em duas espécies de *Plantago*, forneceram algumas evidências de que efeito materno pode ser adaptativo para *P. lanceolata*, uma vez que a progênie produziu mais biomassa foliar quando cultivada nas mesmas condições de sua mãe. Concluíram que a herança materna poderia ser aplicada na agricultura ou na ecologia da restauração.

A herança materna plastídica em *C. arabica* foi sugerida com base em evidências citológicas de microscopia de epifluorescência (CORRIVEAU; COLEMAN, 1988). Utilizando a análise de fragmentos de endonuclease de restrição do genoma cpDNA, Berthou et al.

(1983) também relataram herança materna em um híbrido interespecífico entre *C. canephora* e *C. arabica*. No entanto, a baixa sensibilidade dessas análises de restrição a pequenas quantidades de DNA e o fato de que apenas uma árvore híbrida foi analisada, colocaram em dúvida a respeito desta herança. Por isso Lashermes et al. (1996) resolveram determinar o modo de herança de cpDNA com objetivo também de estimar a variação do genoma de cpDNA entre híbridos interespecíficos entre *C. arabica* e *C. canephora*, e em uma progênie intraespecífica de *C. canephora*. Utilizaram análise de restrição de fragmentos intergênicos amplificados por PCR em DNA de cloroplasto e constataram que a herança plastídica nesta espécie é estritamente materna e detectaram a baixa variação de DNA cloroplastídico em *Coffea*, propuseram também a possibilidade de estudos em regiões mais variáveis, tais como íntrons e espaços intergênicos (ITS). No ano seguinte Lashermes et al. (1997) publicou um artigo trabalhando com ITS em *Coffea* e confirmaram um alto nível de variação, o suficiente para tornar o ITS uma ferramenta útil para a reconstrução filogenética.

Os resultados encontrados aliados aos de outros autores evidenciam que as maiores médias das progênies oriundas do cruzamento 120x109 (120 genitor materno e tolerante a seca) no período de maior estresse hídrico, colaboram com a hipótese de presença de herança materna cloroplastidial nas progênies, manifestado pela característica de tolerar mais a seca.

Silva et al. (2013) estudando os clones 109 e 120, com irrigação e com déficit hídrico, verificaram também que o clone 120 apresentou maior densidade do lenho caulinar (DLC) que o 109, independente da condição de hidratação. Em nossos resultados o clone 120 em condições de irrigação (Tabela 4) também apresentou maior DLC. Esta característica parece não ter relação com a herança materna cloroplastídica nas progênies, já que o 120x109 apresentou maior DLC, na primeira avaliação (julho/2015), quando as plantas estavam com maior hidratação, o que sugere que seja um parâmetro controlado por genes nucleares.

As variáveis estudadas neste capítulo estão relacionadas ao aparato fotossintético das plantas, por isso, que a maioria dos parâmetros, demonstraram prospecção a herança materna cloroplastídica. O cloroplasto possui cerca de 600 a 5000 proteínas em seu interior, sendo a maioria codificada pelo genoma nuclear, que são endereçadas ao plastoma (estroma do cloroplasto), responsável por codificar em torno de 120 proteínas (MCFADDEEN, 1999). A localização de genes codificados pelo genoma nuclear leva a conclusão da existência de um complexo mecanismo de sinalização e coordenação entre as organelas celulares, como o cloroplasto (MOCHIZUKI et al., 2001). Possivelmente, os genes do cloroplasto e/ou sua interação através da sinalização com o genoma nuclear possa influenciar o clone 120 na manifestação de melhores características fotossintéticas para o desenvolvimento em ambientes com estresse hídrico, como verificado neste estudo.

Além das variações nos genes dos cloroplastos para tolerância à seca, é possível também a ocorrência de herança materna epigenética no experimento, que pode gerar variações fenotípicas adaptativas (GRANT-DOWNTON; DICKINSON, 2006). No caso da hibridação interespecífica de plantas silvestres, tais efeitos maternos desempenham um papel importante na aptidão dos híbridos, com consequências notáveis para a dinâmica das zonas de hibridização. A sobrevivência dos híbridos pode depender da direção dos cruzamentos e das interações genótipo e meio ambiente que estão envolvidas na aptidão híbrida (CAMPBELL; WASER 2001; KIRK et al., 2005).

O ambiente materno experimentado por um organismo em desenvolvimento pode desempenhar um papel crítico na formação de padrões adultos de comportamento. Além disso, pode haver transmissão desses efeitos para as gerações subsequentes através de alterações no comportamento reprodutivo da prole. Assim, o cuidado materno pode ser transmitido das mães às filhas e as netas (CHAMPAGNE, 2008).

Estes relatos são muito importantes, pois abre a possibilidade de um estudo mais aprofundado do DNA cloroplastídico no clone 120, para identificar as possíveis regiões moleculares e/ou genes envolvidos no melhor desempenho das plantas em condições seca. Assim como a possibilidade de estudo de herança materna epigenética, para observar os padrões de metilação para os clones mais tolerantes. É possível ressaltar a importância do estudo em outros clones que tenham manifestado maior tolerância à seca, já que Lashermes et al. (1997) mencionaram uma grande variação no DNA cloroplastídico do café. Estes estudos contribuirão para conhecimento e seleção de regiões genéticas envolvidas no mecanismo de tolerância e resistência à seca, importantes para um futuro melhoramento genético de plantas, envolvendo tecnologias de DNA recombinante através de DNA cloroplastídico.

### 3.3.3. Análises descritivas das variáveis morfofisiológicas

No geral, verifica-se que de julho de 2015 a abril de 2016 (Tabela 1, 2 e 3) houve uma grande diminuição de A e gs, em concomitância com redução de Comp, L, AFU e AFT. Segundo DaMatta, (2003), em condições de déficit hídrico no solo, a curto prazo, a redução do rendimento pode estar relacionada com a redução da condutância estomática (gs) e concomitantemente menor taxa de assimilação líquida de carbono (A). No entanto, na maioria dos casos e particularmente em estresse prolongado, uma área foliar menor e uma distribuição alterada de assimilados entre os órgãos arbóreos parecem ser mais diretamente responsáveis pelo menor rendimento da cultura.

Observou-se maiores médias na população 120x109 em relação à 109x120, em abril/2016, para as características Comp, AFU, AFT e RAF (Tabela 3), conclui-se que nesta



condição de estresse hídrico, houve uma menor inibição da ampliação e crescimento celular. Notou-se também a mesma média de gs nas duas populações, porém a população 120x109 apresentou maior média de A. Segundo Jaleel et al. (2009), Farooq et al. (2009) o déficit hídrico, promove a redução do crescimento das plantas, afetando vários processos fisiológicos e bioquímicos, como pôde ser observado das análises de julho de 2015 a abril de 2016, com alteração de parâmetros importantes para desenvolvimento da planta. Entretanto, a população 120x109 conseguiu manter melhores características morfofisiológicas no período de maior seca (abril/2016). O desenvolvimento da área foliar ideal é importante para a fotossíntese (A) e o rendimento da matéria seca.

Comparando-se as três épocas de coletas de dados nas duas populações, para as variáveis Cl. total e Carot, nota-se que apenas de julho a dezembro/2015 ocorreu aumento das concentrações de ambas. Entretanto, as médias apresentadas em abril/2016 foram maiores que em Julho/2015, e a população 120x109 apresentou as maiores médias. Segundo Havaux, (1998) e Kiani et al. (2008) o estresse hídrico, entre outras mudanças, tem a capacidade de reduzir as concentrações teciduais de clorofilas e carotenoides, principalmente com a produção de ROS nos tilacóides (NIYOGI, 1999; REDDY et al., 2004). Fato este pouco evidenciado no presente trabalho, devido as maiores médias apresentada nas variáveis Cl. total e Carot, no período crítico de seca (abril/2016).

Explorando melhor as Tabelas 1, 2 e 3, alguns parâmetros apresentaram uma maior variabilidade entre os indivíduos, dado que pode ser verificado pelo coeficiente de variação, isso demonstra que existem indivíduos nas populações estudadas que são bastante distintos entre si. Entre as épocas de estudo, abril/ 2016, apresentou as variáveis com maior coeficiente de variação (CV), (diferença de 7,58 para AFE a 105,05 para gs), destacando-se a AFT, AFU, NO<sub>3</sub>, prolina, A, gs, ETR e A/gs. Medri (2011) relatou que uma distribuição é homogênea quando a variabilidade relativa expressa pelo coeficiente de variação, não ultrapassar a 20%. Este resultado observado é muito valioso, pois as plantas foram cultivadas sob um período de seca e ainda assim apresentaram essa grande variação de valores entre os parâmetros avaliados, o que pode ser favorável na seleção de genótipos que possuem maior aptidão para tolerar a seca com características adequadas ou não para o desenvolvimento em condição de seca.

Segundo Guedes et al. (2010) o coeficiente de variação além de avaliar a homogeneidade do conjunto de dados também averigua se a média é uma boa medida para representar os dados, compara conjuntos com unidades de medidas distintas. Sua desvantagem é que deixa de ser útil quando a média está próxima de zero, pois pode inflacionar o CV, fato este que pode ser observado na variável condutância estomática (gs) do presente trabalho, que apresentaram alto CV, porém a média é próxima de zero.

As medidas de dispersão são tão importantes quanto às medidas de tendência central para se descrever o conjunto de dados adequadamente. Indicam se os dados estão, ou não, próximos uns dos outros. Embora essas medidas possibilitem descrever estatisticamente um conjunto de dados, é importante também verificar o comportamento da distribuição, podendo ser simétrica (forma de sino), assimétrica positiva (distribuição à direita) e assimétrica negativa (distribuição à esquerda). O grau da assimetria da distribuição foi calculado utilizando-se a medida estatística adimensional denominada de Coeficiente de Assimetria de Pearson ( $A_s$ ), sendo que uma distribuição perfeitamente simétrica, o valor de  $A_s$  é zero; se,  $0,15 < A_s < 1$ , a assimetria é considerada moderada; se  $A_s > 1$ , é forte (GUEDES et al., 2010).

A grande maioria das variáveis em todas as épocas apresentaram assimetria moderada nas duas populações 109x120 e 120x109, com exceção das variáveis prolina e A/gs, em julho/2015; A/gs em dezembro de 2015 para a população 109x120; A/gs em abril/2016 para população 109x120 e A e gs para 120x109, que apresentaram valores acima de um.

Outra forma de avaliar a distribuição dos dados é através da medida estatística adimensional denominada de Coeficiente de Curtose, que é o grau de achatamento de uma distribuição em relação a uma distribuição padrão, denominada de curva normal. Se  $C = 0,263$  tem-se uma curva mesocúrtica ou normal, se  $C < 0,263$  a curva é leptocúrtica e se  $C > 0,263$  a curva é platicúrtica.

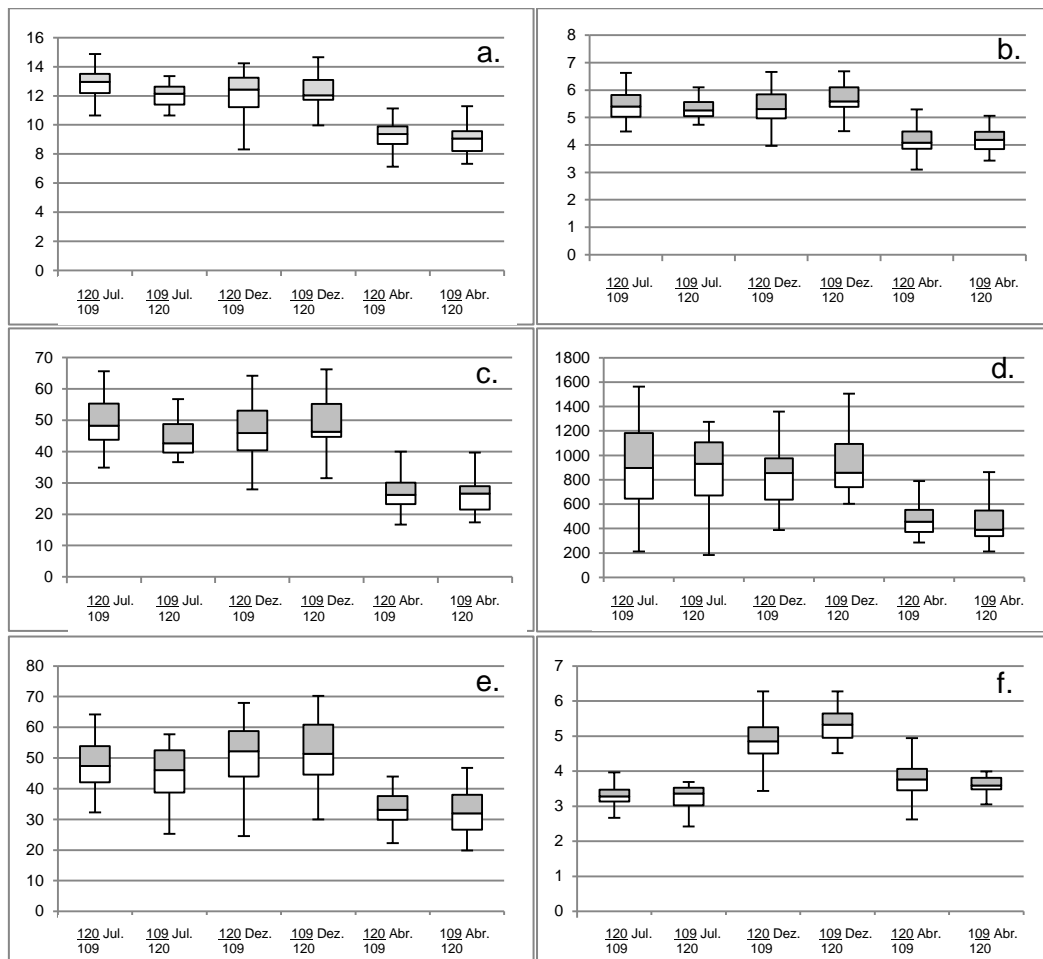
Observando as Tabelas 1, 2 e 3, com as medidas descritivas, verifica-se que a maioria dos parâmetros possui um tipo de curva platicúrtica, frequências mais abertas, existindo algumas com curva do tipo leptocúrtica. A tendência da grande maioria dos dados serem platicúrtica é muito importante, pois através dessa medida confirma-se variação entre os indivíduos para cada variável.

Outra forma de avaliar o comportamento do conjunto de dados é através dos gráficos box plot, os cinco itens ou valores: o menor valor, os quartis ( $Q_1$ ,  $Q_2$  e  $Q_3$ ) e o maior valor, são importantes para dar uma ideia da posição, dispersão e assimetria da distribuição dos dados. Na sua construção são considerados os quartis e os limites da distribuição, permitindo uma visualização do posicionamento da distribuição na escala da variável. Analisando os gráficos box plot (Figura 3), observa-se mais claramente as diferenças na maioria dos parâmetros entre as épocas de avaliações, como por exemplo, as características Comp, L, AFU, AFT, CE, RAF, Carot.,  $NO_3$ , N. total, FT, prolina, A, gs e ETR. Estes resultados confirmam que a maior discrepância dos dados entre as épocas avaliadas foram os apresentados no mês de abril de 2016, maior período de seca.

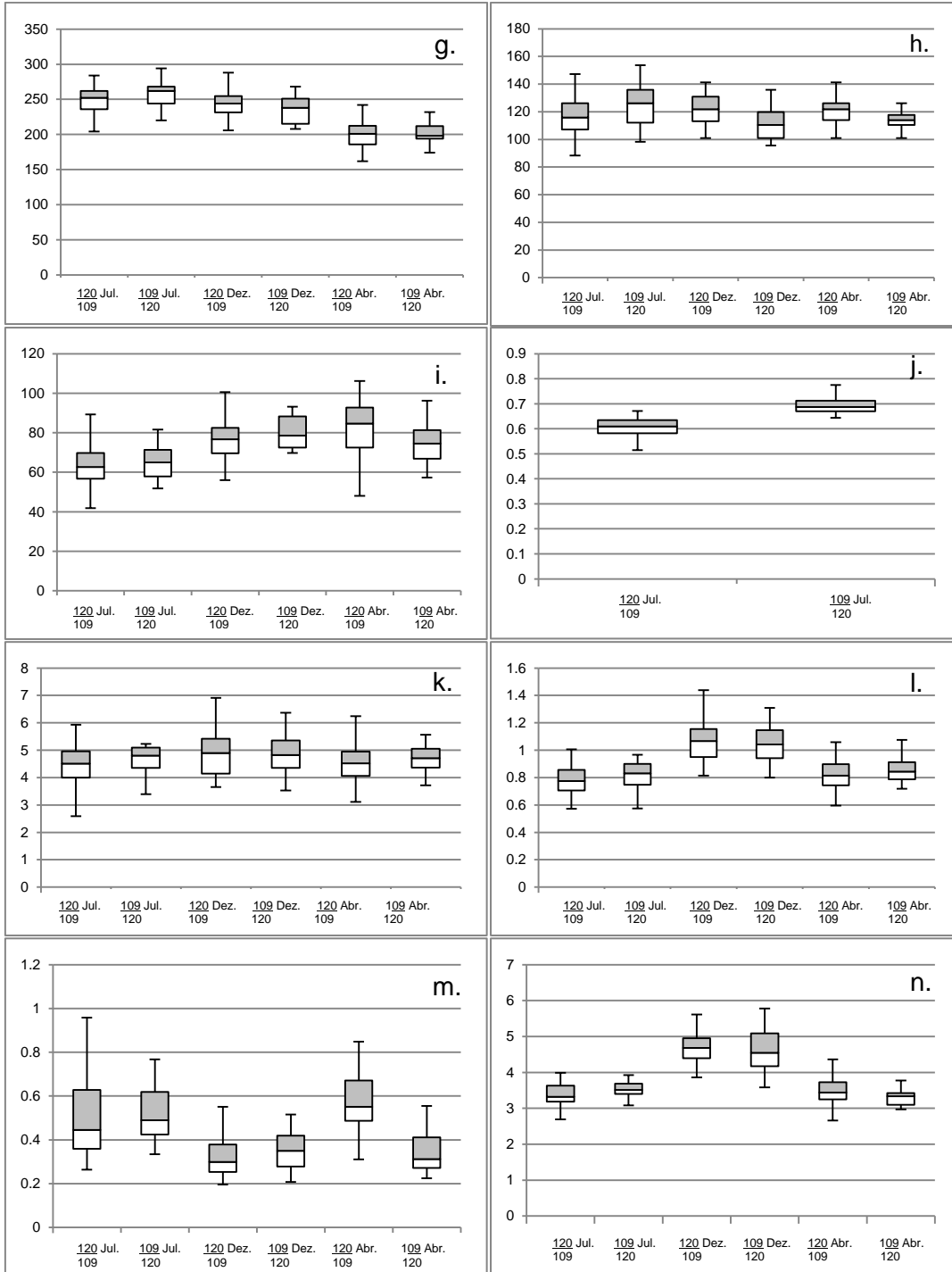
Analisando os dados descritivos e os gráficos box plot, nota-se uma diferença na fenologia das plantas no decorrer do tempo em que passaram de déficit hídrico. De julho de

2015 a abril de 2016, por exemplo, a AFT passou de 924,04 (população 109x120) e 851,87 (população 120x109) para 481,02 (população 109x120) e 452,88 (população 120x109) respectivamente e a A passou de 11,10 (população 109x120) e 14,96 (população 120x109) para 5,33 (população 109x120) e 3,62 (população 120x109) respectivamente.

Além do Coeficiente de Assimetria de Pearson, na avaliação da assimetria da distribuição, é possível também observar este comportamento através dos gráficos box plot. Se a amplitude for muito maior que à distância interquartílica e a mediana estiver mais próxima do 1º quartil, há forte indicação de assimetria positiva e do que 3º quartil assimetria negativa, indicando grande dispersão das observações (MEDRI, 2011). Na figura 3, pode-se observar que muitas variáveis, nas diferentes épocas, apresentaram este comportamento, confirmando a variação dos dados ao longo de todo experimento.



Continua ...



Continua...

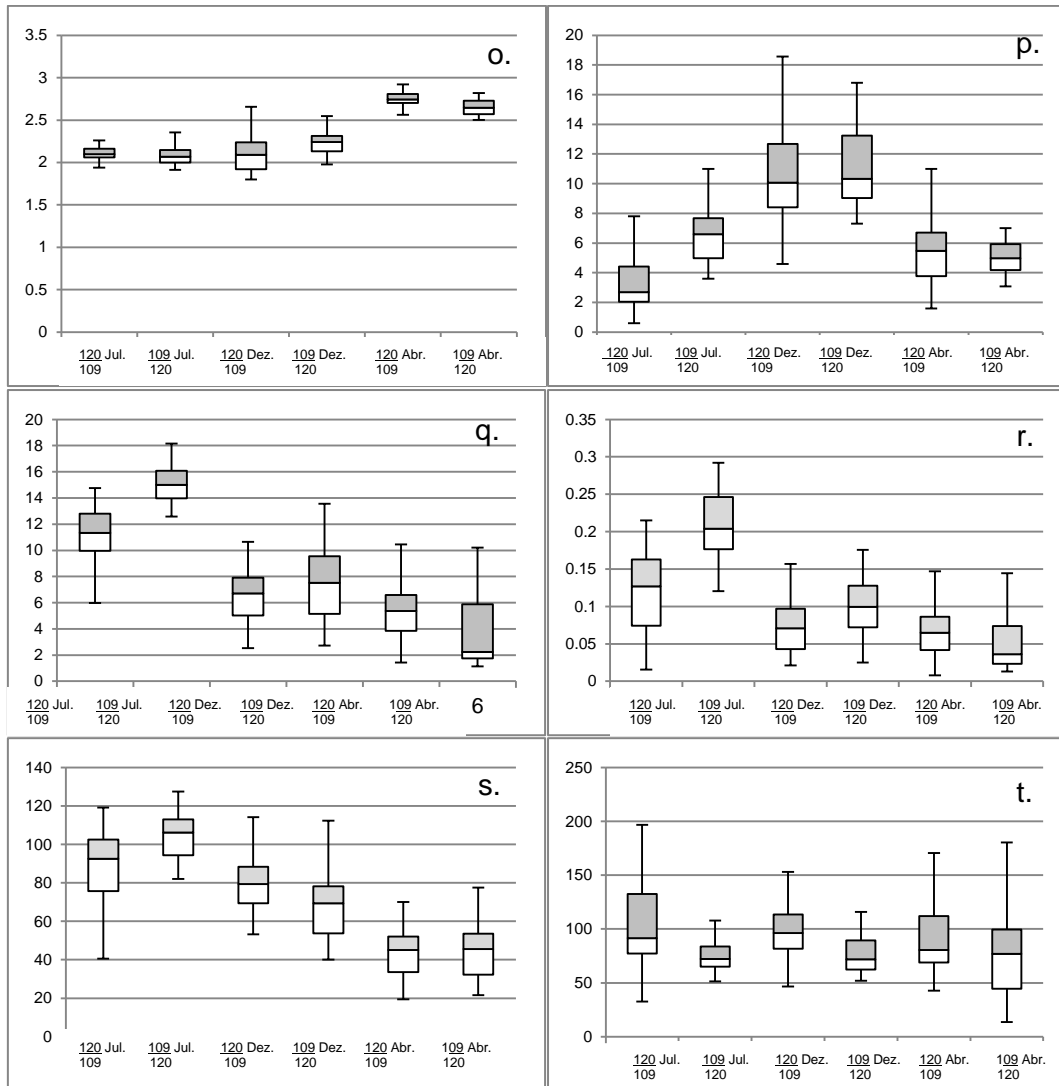


Figura 3: Variação observada nos parâmetros através do gráfico box plot nas populações 109x120 e 120x109. (a) Comp (cm), (b) L (cm), (c) AFU (cm), (d) AFT (cm<sup>2</sup>), (e) CRP (cm), (f) CE (cm), (g) Esp (µm), (h) AFE (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), (i) RAF (cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>), (j) DLC (g cm<sup>3</sup>), (k) C. total (g kg<sup>-1</sup>), (l) Carot (g kg<sup>-1</sup>), (m) NO<sub>3</sub> (% g<sup>-1</sup>), (n) N. total (% g<sup>-1</sup>), (o) FT (g Kg<sup>-1</sup>), (p) Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), (q) A (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), (r) gs (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), (s) ETR (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), (t) A/gS (µmol).

Neste experimento, foi possível sugerir a herança materna para tolerância à seca, abrindo possibilidades de estudos mais aprofundados na genômica do DNA cloroplástico, com a possibilidade de entendimento do efeito epigenético na adaptação das plantas em condições de estresse hídrico para herança materna. A população 120x109 conseguiu manter melhores características morfofisiológicas no período de maior seca (abril/2016), não apresentando diminuições nas concentrações Cl. total e Carot, indicando menor produção de ROS nos tilacóides. Apresentaram também maior média na assimilação de CO<sub>2</sub> (A), com a mesma média de condutância estomática (A/gS) nas duas populações. Foi possível identificar grande variabilidade entre os indivíduos e nas épocas de avaliação, principalmente, através do coeficiente de variação (CV) e pelos gráficos box plot.

### 3.4. REFERÊNCIAS

- ALLARD, R. W. The analysis of genetic-environmental interactions by means of diallel crosses. **Genetics**, v. 41, n.3, p.305-318, 1956.
- ANTUNES, W. C. et al. 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.
- 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.
- BERTHOU, F.; MATHIEU, C.; VEDEL, F. Chloroplast and mitochondrial DNA variation as an indicator of phylogenetic relationships in the genus *Coffea* L. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 65, p. 77-84, 1983.
- BORDALLO, P. N. et al. Análise dialélica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n.1, p.123-127, 2005.
- CATALDO, D. A. et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, n. 6, p. 71-80, 1975.
- CAMPBELL, D. R.; WASER, N. M. Genotype-by-environment interaction and the fitness of plant hybrids in the wild. **Evolution**, v. 55, p. 669-676, 2001.
- CHAMPAGNE, F. A. Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 29, p. 386-397, 2008.
- COLLINS, N. C.; TARDIEU, F. TUBEROSA, R. Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: Where do we stand? **Plant Physiology**, v. 147, p. 469-486, 2008.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café. v. 3, n. 2, p. 1-104, 2016.
- CORRIVEAU, J. L.; COLEMAN, A. Rapid screening method to detect potential biparental inheritance of plastid DNA and results for over 200 angiosperm species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, n. 75, p. 1443-1458, 1988.
- DAMATTA, F. M. et al. Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. **Plant Science**, n. 164, p. 111-117, 2003.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Pocket book Coffee 2015. Disponível em: <[www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)>. Acesso em: nov. 2016.
- FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, n. 29, p. 185-212, 2009.
- Feitosa, L. R. **Carta agroclimática do Espírito Santo**. (1986). Vitória, ES: Emcapa (Mapa).
- FERRÃO, M. A. G. et al. Genetic divergence in Conilon coffee revealed by RAPD. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, p. 67-74, 2009.

FERRÃO, R. G. (Org.); FONSECA, A. F. A. (Org.); FERRÃO, M. A. G. (Org.); DE MUNER, L. H. (Org.). **Café Conilon**. 2. ed. Vitória: DCM/Incaper, 2016a. v. 1. 784p.

FERRÃO, R. G. et al. Genética e Melhoramento: Desenvolvimento e recomendação de cultivares com tolerância à seca para o Espírito Santo. **Incaper em Revista**, v. 6 e 7, p. 51-71, 2016b.

FERRÃO, R. G. et al. Melhoramento Genético de *Coffea canephora*. In: FERRÃO, R.G.; FONSECA, A. F. A. da; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Org.). **Café Conilon**. 2 ed. Vitória: DCM/Incaper, 2016c, v. 1, p. 131-175.

GRANT-DOWNTON, R. T, DICKINSON, H. G. Epigenetics and its implications for plant biology 2. The 'epigenetic epiphany': epigenetics, evolution and beyond. *Annals of Botany* v. 97, p. 11-27, 2006.

GUEDES, T. A. et al. Estatística Descritiva. Projeto de ensino aprender fazendo estatística, 2010.

HAVAUX, M. Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. **Trends in Plant Sciences**, n. 3, p. 147–151, 1998.

HERRERA, J. C. et al. Efficient use of coffee genetic resources: Molecular analyses of genome interactions in the robusta hybrid (*Coffea arabica* × *C. canephora*). **19th conference of ASIC**, Trieste, Italy, 2001.

IIDA, S. et al. Inherited maternal effects on the drought tolerance of a natural hybrid aquatic plant, *Potamogeton anguillanus*. **Journal of Plant Research**, v. 120, p. 473-481, 2007.

JALEEL, C. A. et al. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. **International Journal of Agriculture and Biology**, n. 11, p. 100–105, 2009.

JINKS, J. L. A survey of the genetical basis of heterosis in a variety of diallel crosses. **Heredity**, v. 9, p. 223-238, 1955.

KIRK, H.; VRIELING, K.; KLINKHAMER, P. G. L. Maternal effects and heterosis influence the fitness of plant hybrids. **New Phytologist**, v. 166, p. 685-694, 2005.

KIANI, S. P. et al. QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. **Plant Science**, n. 175, p. 565–573, 2008.

LASHERMES, P. et al. Inheritance and restriction fragment length polymorphism of chloroplast DNA in the genus *Coffea* L. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 93, p. 626-632, 1996.

LASHERMES, P. et al. Phylogenetic relationships of coffee-tree species (*Coffea* L.) as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 94, p. 947-955, 1997.

LATZEL, V. et al. Maternal effects alter progeny's response to disturbance and nutrients in two *Plantago* species. **Oikos**, v. 119, p. 1700-1710, 2010.

LICHTHENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: COLOWICK SP, KAPLAN NO (ed) *Methods in Enzymology*, v.148. **Academic Press**, 1987. San Diego. p.350-382.

MARRACCINI, P. et al. 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.

MCFADDEN, G. I. Plastids and protein targeting. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 46, p. 339-346, 1999.

MEDRI, W. Análise Exploratória de Dados. Centro de ciências exatas – CCE. Departamento de estatística. Universidade Estadual de Londrina, 2011.

MOCHIZUKI, N. et al. Arabidopsis genomes uncoupled 5 (GUN5) mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 98, n. 4, p. 2053-2058, 2001.

NIYOGI, K. K. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, n. 50, p. 333–359, 1999.

POORTER, H.; VILLAR, R. The fate of acquired carbon in plants: Chemical composition and construction costs. In: Bazzaz FA, Grace J, eds. *Resource allocation in plants*. **Academic Press**, p. 39-72, 1997.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C.B. **Genética na Agropecuária**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2001. 472 p.

REDDY, A. R.; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, n. 161, p. 1189-1202, 2004.

REYNOLDS, M. P.; ORTIZ, R. Adapting crops to climate change: a summary. In: Reynolds MP (eds) *Climate change and crop production*, **CAB international**, p. 1-8, 2010.

RONCHI, C. P.; DAMATTA, F. M. Aspectos fisiológicos do café conilon. In: FERRÃO, G. F. et al. (Orgs.). **Café Conilon**. Vitória: Incaper, 2007. p. 67-91.

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**, n. 87, p. 49-57, 2013.

TOKER, C.; CANCI, H.; YILDIRIM, T. Evaluation of perennial wild *Cicer* species for drought resistance. **Genetic Resources and Crop Evolution**, n. 54, p. 1781-1786, 2007.

VOSSSEN, H. A. M. A critical analysis of the agronomic and economic sustainability of organic coffee production. **Experimental Agriculture**, v. 41, p. 449-473, 2005.



#### IV. CAPÍTULO 2: AVALIAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS EM PROGÊNIES DE CAFÉ CONILON PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS COM TOLERÂNCIA A SECA.

##### RESUMO

O café é um produto de grande importância comercial para o Brasil e muitos outros países, tendo o café conilon destaque de desenvolvimento e produtividade no estado do Espírito Santo. Porém, nos dois últimos anos, esta cultura tem sofrido com o déficit hídrico, ocasionado pela falta de chuvas e aumento da temperatura do ambiente, desencadeando em decréscimo na produção das lavouras. Por isso, os programas de melhoramento, cada vez mais, tem tido interesse na seleção de plantas mais tolerantes à seca para auxiliar os produtores que vêm sofrendo com as perdas na produção. Assim, o objetivo deste capítulo foi avaliar duas populações de *C. canephora* (109x120 e 120x109), com genótipos parentais contrastantes à seca, 109 suscetível e o 120 tolerante, para verificar a dissimilaridade entre os indivíduos, estudar as variáveis mais importantes na avaliação em condições de déficit hídrico, para identificar indivíduos que respondem por maior tolerância à seca. Foi possível determinar alguns genótipos superiores, que passaram pela seca com maior tolerância, como os apresentados nos grupos 3, 5 e 7 em abril/2016, sendo representados pelos indivíduos 1, 2, 12, 13, 17, 26, 28, 50 e 58. Estes demonstraram características de desenvolvimento importantes para um programa de melhoramento genético de plantas, possuindo potencial para bons rendimentos em condições de limitação de água. Os genótipos 1, 26, 56 e 58 exibiram maior dissimilaridade, tendo o indivíduo 56 mais caracterizado como suscetível à seca e os outros como tolerantes, estando incluídos dentro dos grupos selecionados. As variáveis AFE, RAF, A, ETR, gs e A/gs, foram as mais relevantes para discriminar os genótipos mais tolerantes à seca. Foi possível identificar também outros indivíduos que possuíram algumas características semelhantes com os grupos selecionados e, que, merecem ser melhor explorados, como os indivíduos 8, 9, 14, 22, 25, 29 para tolerância e os genótipos 20, 21, 23, 31, 32, 33, 34, 35 para suscetibilidade à seca.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

O café é um dos produtos agrícolas mais importantes do comércio mundial, destacando-se como fonte de renda em diversos países, especialmente no Brasil, que sempre liderou a posição de maior produtor. Entretanto esta cultura tem sofrido com o déficit hídrico, que constitui o principal determinante ambiental que limita o crescimento e a produtividade das culturas agrícolas em todo o mundo (CHAVES et al., 2009), podendo ser superior aos danos oriundos de todos os outros fatores bióticos e abióticos em conjunto (LAMBERS et al., 2008).

Em anos muito secos, a produtividade do café pode ser reduzida em até 80%, caso não seja adotada a irrigação (DAMATTA; RAMALHO, 2006). Nos dois últimos anos houve um decréscimo de aproximadamente 50% na produção das lavouras do café conilon do estado do Espírito Santo, devido ao aumento médio da temperatura durante o dia de até 3°C, aliado à redução média da precipitação pluviométrica entre 30 e 60% nas diferentes regiões e à deficiência de irrigação por falta de água nos mananciais (CONAB, 2016).

Dessa forma, a capacidade de adaptação e aclimatação à baixa disponibilidade de água, bem como a capacidade de recuperação após períodos de desidratação, reveste-se de grande importância para o crescimento e a produtividade desta cultura (GALLÉ; FELLER, 2007). Estes fatores demonstram a importância do estudo de características morfofisiológicas para seleção de plantas mais tolerantes à seca para que possam ser utilizadas em programas de melhoramento genético.

Os requisitos para obtenção de ganhos em um programa de melhoramento estão relacionados à existência de variabilidade genética e utilização de estratégias de melhoramento alinhadas às demandas, como o desenvolvimento de cultivares resistentes a períodos de seca severa e que apresentem rendimentos aceitáveis em condições de limitação de água. Dentro deste contexto, o Incaper em seu programa de pesquisa vem selecionando materiais genéticos possuidores de características agrônômicas de interesse e tolerância à seca. Estudos com os clones selecionados mostram que a produção relativamente elevada sob seca o fazem via manutenção do status hídrico adequado (por meio da combinação de sistemas radiculares profundos e controle estomático satisfatório da transpiração) e manutenção da área foliar com folhas com orientação mais verticalizada. Além disso, características bioquímicas seriam também importantes, como a existência de sistema antioxidativo mais robusto e manutenção da capacidade de exportação, o que permitiria, por exemplo, o crescimento radicular e, assim, maior acesso a horizontes mais profundos do solo, de modo a aumentar a absorção de água (RONCHI; DAMATTA, 2007).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar duas populações de *C. canephora* (109x120 e 120x109), com genótipos parentais contrastantes à seca, 109 suscetível e o 120

tolerante, para verificar a dissimilaridade entre os indivíduos, estudar as variáveis mais importantes na avaliação em condições de déficit hídrico, para identificar indivíduos que respondem por maior tolerância à seca.

## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1. Material genético

Os materiais genéticos utilizados neste trabalho foram obtidos e cedidos pelo programa de Melhoramento de Café do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). O trabalho foi conduzido na Fazenda Experimental de Marilândia, pertencente ao Incaper, que está localizada no município de Marilândia, região Noroeste do Estado do Espírito Santo. O local do experimento, segundo a carta agroclimática do Espírito Santo (Feitosa, 1986) apresenta latitude de 19°24' sul e longitude de 40°31' oeste, altitude de 104 m, solo classificado como cristalino, com baixa fertilidade, precipitação pluviométrica anual de 1.100 mm, temperatura média anual de 24°C, umidade relativa média do ar de 74% e topografia ondulada acidentada, característica da região.

Foram avaliadas famílias de irmãos completos oriundas de cruzamentos controlados entre clones de *C. canephora*.

As progênies dos cruzamentos entre os clones 120x109 (58 progênies) / 109x120 (19 progênies) foram levadas a campo em agosto de 2008 e Maio de 2009, respectivamente, no espaçamento de 3,0 x 1,0 m. Os progenitores dos cruzamentos são clones de café Conilon com características de interesse para a cafeicultura, sendo: I); clone 109: clone de café conilon, porte médio, maturação média, suscetível à ferrugem e à seca; II) 120: clones de café Conilon de porte médio, maturação média, suscetível à ferrugem, vigoroso e tolerante à seca.

O experimento foi conduzido sem irrigação. As adubações, podas, desbrotas, tratamentos culturais e fitossanitários seguiram as recomendações técnicas da cultura (Ferrão et al., 2007, 2012).

### 4.2.2. Época de avaliação

Os dados experimentais deste estudo foram coletados por planta e em três épocas distintas, entre julho/2015 a abril/2016: 1ª) 14/07 a 21/07/2015, 2ª) 10/12 a 18/12/2015 e 3ª) 21/04 a 27/04/2016.

Em cada época foram tomados dados de características morfológicas, fotossintéticas e de composição química dos tecidos foliares.

#### 4.2.3. Características Morfológicas

Foram selecionados dois ramos plagiotrópicos em cada época de análise, que melhor representasse a planta e seguiu-se o padrão de coleta, no oitavo ramo plagiotrópico (contando de cima para baixo), estando sem frutos. Nestes foram avaliados o comprimento (Comp) do ramo e comprimento entrenódio (CE), através da contagem do número de rosetas. Nas folhas dos dois ramos foram calculados a área foliar total (AFT) e área foliar unitária (AFU), seguindo o modelo proposto por Antunes et al., (2008). Foram coletadas também quatro folhas índices, no terceiro ou quarto par do ramo plagiotrópico, por planta, para cálculo da área foliar específica (AFE), para tal vinte discos foliares com 1,5 cm de diâmetro (SILVA et al., 2013) e mediu-se a espessura destas folhas com auxílio de Paquímetro Inox Digital 150 Mm 684132 - Lee Tools.

Nas análises de Julho de 2015, as progênies foram podadas, por isso a densidade do lenho caulinar (DLC), no ramo ortotrópico foi realizada, seguindo o modelo proposto por Silva et al. (2013). Para todas as coletas realizadas, houve a avaliação da massa seca, folhas, ramos plagiotrópicos, ramos ortotrópicos e discos foliares, colocados em estufa a 60° C por uma semana e pesados em balança semi analítica Marte ad200.

Através destas avaliações foi possível estimar a razão da área foliar (RAF).

#### 4.2.4. Medições fotossintéticas

As avaliações das trocas gasosas foram realizadas em folhas do terceiro ou quarto par do ramo plagiotrópico, a partir da mensuração da assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), a condutância estomática ao vapor de água (gs), a taxa de transporte de elétrons (ETR). Estas avaliações, foram medidas entre os horários de 08:00-11:00 h, em sistema aberto, sob luz e concentração de CO<sub>2</sub> ambientes e pressão parcial de CO<sub>2</sub> de 40 Pa sob PAR artificial, isto é 1200 e 200  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  ao nível da folha, em analisador de gás infravermelho (IRGA) modelo Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, EUA. De posse destes dados, foram quantificadas a eficiência no uso da água intrínseca (A/g<sub>s</sub>).

#### 4.2.5. Composição química dos tecidos foliares

A maioria das análises químicas seguiram os procedimentos descritos em Poorter; Villar (1997), com algumas modificações. Foram coletadas quatro folhas do terceiro ou quarto par do ramo plagiotrópico, em seguida foram armazenadas em freezer -80°C, liofilizadas e maceradas com gral e pistilo.

#### 4.2.5.1. Quantificação de clorofilas e carotenoides totais

Foram pesados 25 mg de tecido foliar liofilizado/ triturado em tubos de 2 mL e adicionado 1,5 mL de acetona 80% v/v, levou-se ao vórtex para homogeneizar e seguiu-se a centrifugação por 5 minutos a 13600 rpm (Thermo Scientific - Heraeus Pico e Fresco). Transferiu-se 1 mL do extrato para novos tubos de 2 mL e realizou-se a leitura da amostra em absorvância de 470 nm, 646,8 nm e 663,2 nm no espectrofotômetro. O extrato ficou muito concentrado, por isso foi feita uma diluição de 80 µL do extrato com 920 µL de acetona 80% e novamente realizou-se a leitura no espectrofotômetro. Os valores de absorvância esperados estão entre 0,2 nm e 0,8 nm (LICHTENTHALER, 1987).

As concentrações de clorofila e de carotenoides (em ng/L) foram calculadas utilizando-se as seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila a} = C_a = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8}$$

$$\text{Clorofila b} = C_b = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}$$

$$\text{Clorofilas totais} = C(a+b) = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8}$$

$$\text{Carotenoides (xantofilas + carotenos)} = (1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b) / 198$$

Para determinação da clorofila e carotenoides na amostra, levou-se em consideração a quantidade de amostra pesada inicialmente, as diluições e a quantidade do extrato utilizado para fazer a leitura no espectrofotômetro.

#### 4.2.5.2. Quantificação de nitrogênio nítrico

A quantificação de NO<sub>3</sub> foi realizada conforme Cataldo et al. (1975), com algumas modificações. Para o preparo do extrato bruto, foram pesadas 0,1 g de folhas liofilizadas/ trituradas em tubos de ensaio e adicionados 1 mL de etanol absoluto e 10 mL de água destilada, levou-se ao banho-maria a temperatura de 45°C por 60 minutos. Ao esfriarem os tubos, foi adicionado aproximadamente 250 mg de carvão ativo, agitado e filtrado em papel de filtro lento (esta etapa foi repetida até obter um filtrado cristalino).

As concentrações da curva padrão foram de 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm e 100 ppm, utilizando-se como solução estoque de referência o nitrato de potássio na concentração de 0,1628%. No preparo da amostra para leitura no espectrofotômetro, foram utilizados 20 µL do extrato bruto, 80 µL de ácido salicílico 5% em ácido sulfúrico absoluto e 1900 µL de hidróxido de sódio 2N em tubos de 2 mL. Após 30 minutos de repouso, foi feita leitura da absorvância da amostra em espectrofotômetro a 410 nm.

Para determinação exata de NO<sub>3</sub> na amostra, levou-se em consideração a equação da curva padrão, a quantidade de amostra pesada inicialmente, as diluições e a quantidade do extrato utilizado para fazer a leitura no espectrofotômetro.

#### 4.2.5.3. Quantificação nitrogênio orgânico $\text{NH}_4^+$

Para o preparo do extrato bruto, foram pesadas 0,1 g de folhas liofilizadas/ trituradas em tubos digestor e adicionados 1 mL de ácido sulfúrico P.A. (deixados aproximadamente 12 horas para uma pré-digestão). Após este período foram adicionados 1 mL de peróxido de hidrogênio 35% e as amostras foram colocadas em um bloco digestor, elevando a temperatura lentamente até atingir 300°C, mantendo-se nesta temperatura por 30 minutos. Esperou-se esfriar até 150°C, aos tubos que apresentaram extrato amarelo ou preto, foi adicionado novamente 1 mL de peróxido de hidrogênio e levados novamente para digestão da amostra, subindo a temperatura do bloco digestor até atingir a 200°C e mantendo-se esta temperatura por 15 minutos para terminar de clarificar as amostras. Após os extratos esfriarem, foram adicionados 24 mL de água destilada em cada tubo e homogeneizados em vórtex.

As concentrações da curva padrão utilizadas foram de 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm e 8 ppm, utilizando-se como solução estoque de referência o sulfato de amônio na concentração de 0,025%. Para o preparo das amostras foram utilizados 100 µL do extrato, 3,9 mL de água destilada, 500 µL de tartarato de sódio 10% e 500 µL de reagente de Nessler, em tubos de ensaio de 5 mL. Após 20 minutos de repouso, foi feita leitura da absorbância da amostra no espectrofotômetro a 480 nm.

Para determinação de  $\text{NH}_4^+$  na amostra, levou-se em consideração a equação da curva padrão, a quantidade de amostra pesada inicialmente, as diluições e a quantidade do extrato utilizado para fazer a leitura no espectrofotômetro.

De posse dos valores de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ , foi calculada a quantidade de nitrogênio total (N. total), através da soma na forma orgânica e nítrica.

#### 4.2.5.4. Preparo do extrato etanólico para determinação de compostos fenólicos e aminoácido prolina.

Foram pesados 50 mg de folhas liofilizadas/ maceradas em tubos de 2 mL e adicionados 500 µL de etanol 98% com posterior agitação em vórtex. Em seguida os tubos foram levados ao banho maria à 80°C por 20 minutos, centrifugados a 14000 rpm (Thermo Scientific - Heraeus Pico e Fresco) por 5 minutos e coletado o sobrenadante, adicionando em um novo tubo de 2 mL. Adicionou-se 500 µL de etanol 80% ao pellet, novamente agitou-se no vórtex, levou-se ao banho maria a 80°C por 20 minutos, centrifugou-se a 14000 rpm (Thermo Scientific - Heraeus Pico e Fresco) por 5 minutos e coletou-se o sobrenadante, misturando-se ao sobrenadante anterior. O procedimento foi repetido, acrescentando 500 µL de etanol 50% e misturando o novo sobrenadante aos anteriores.

#### 4.2.5.5. Quantificação de compostos fenólicos solúveis totais

Para o preparo da amostra, o extrato etanólico foi diluído, coletando 50  $\mu\text{L}$  do extrato, completando o volume para 2 mL com etanol 80%. Deste foi utilizado 30  $\mu\text{L}$ , 470  $\mu\text{L}$  de água destilada, 250  $\mu\text{L}$  de reagente de Folin-Ciocalteu (diluído de 50 mL em 450 mL de água destilada) e 1250  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio 10%. Em seguida foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 725 nm. Para determinação de fenol, levou-se em consideração a equação da curva padrão, a quantidade de amostra pesada inicialmente, a diluição do extrato etanólico e a quantidade do extrato utilizado para fazer a leitura no espectrofotômetro.

Foi utilizado como padrão para quantificação de fenol total, o ácido tânico, pesando-se 500 mg e diluindo em 100 mL de etanol 80%, em seguida, foi rediluído, coletando-se 1 mL da mistura acima em 100 mL de etanol 80%. Para o preparo da curva padrão foi utilizado a solução de ácido tânico rediluída, na concentração de 0  $\mu\text{g}$ , 1,25  $\mu\text{g}$ , 2,5  $\mu\text{g}$ , 5  $\mu\text{g}$ , 7,5  $\mu\text{g}$  e 10  $\mu\text{g}$ .

#### 4.2.5.6. Quantificação do aminoácido prolina

Para o preparo da curva padrão foi utilizado uma solução de prolina a 50  $\mu\text{M}$ , nas concentrações de 0  $\mu\text{mol}$ , 0,020  $\mu\text{mol}$ , 0,050  $\mu\text{mol}$ , 0,086, 0,160  $\mu\text{mol}$ , 0,188  $\mu\text{mol}$ , 0,26  $\mu\text{mol}$  e 0,29  $\mu\text{mol}$ . Para o preparo da amostra foram utilizados 150  $\mu\text{L}$  do extrato etanólico bruto, 2,75 mL de água destilada, 100  $\mu\text{L}$  de glicina 126 mM, 2 mL de ácido acético glacial, 2 mL de reagente de ninhidrina. Os tubos foram levados ao banho maria à 95°C por 35 minutos, em seguida a reação foi interrompida depositando-se os tubos em banho de gelo, posteriormente, acrescentou-se 4 mL de tolueno, seguindo-se à agitação dos tubos e foram agitados vigorosamente no vórtex por 10 segundos. O cromóforo contendo tolueno (fase rósea superior) foi aspirado com uma pipeta descartável e colocado em outro tubo de vidro. Em seguida foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 515 nm. Para determinação exata de prolina nas amostras, levou-se em consideração a equação da curva padrão, a quantidade do extrato etanólico total produzido e a quantidade de amostra pesada inicialmente (BATES et al., 1973).



#### 4.2.6. Análise dos dados

##### 4.2.6.1. Estatística Multivariada

Foi utilizado a estatística multivariada para análise de componentes principais (ACP), que consiste em transformar um conjunto de variáveis originais em outro conjunto de variáveis de mesma dimensão denominadas de componentes principais. Os componentes principais apresentam propriedades importantes: cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais, são independentes entre si e estimados com o propósito de reter, em ordem de estimação, o máximo de informação, em termos da variação total contida nos dados. A análise de componentes principais é associada à ideia de redução de massa de dados, com menor perda possível da informação.

O critério de seleção das variáveis, para uso nas ACP, foi baseado no descarte dos parâmetros que são relacionados, ou seja, indiretamente representam a mesma característica.

Foi utilizada também a medida de dissimilaridade, baseado em variáveis quantitativas. O cálculo das distâncias entre os indivíduos foi através da distância euclidiana média, utilizando os valores individuais dos indivíduos em cada época de análise separada. Após gerar a matriz de dissimilaridade foi realizada a análise de agrupamento através do método hierárquico, ligação média entre grupo (UPGMA), para reunir os genótipos que apresentam similaridade em estruturas de dendogramas. O ponto de corte do dendograma, para estabelecimento dos grupos formados entre os indivíduos, foi realizado através do método de Mojena (1977), baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias).

A ACP juntamente com a análise de agrupamento, foi importante para estimar os indivíduos que tiveram destaque morfológica e fisiologicamente na condição de seca, com a tendência de melhor tolerância. Estas análises foram realizadas com auxílio do programa Genes (CRUZ, 2008).

### 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1. Análise de componentes principais e agrupamentos entre os indivíduos.

Para uma avaliação da variação entre as progênies, foi realizada a análise de componentes principais (ACP), utilizando um conjunto de dados multidimensional e reduzindo as dimensões para o menor número de componentes, para identificar os parâmetros que melhor representam a variação entre os indivíduos. A princípio foram utilizadas vinte variáveis, porém muitas não representaram a maior variação entre os indivíduos, por isso utilizou-se as variáveis mais representativas, que responderam por maior variabilidade entre os indivíduos. Foram selecionados dez parâmetros em julho/2015, nove em dezembro/2015 e nove em abril/2016.

Os resultados evidenciaram a necessidade de cinco ou seis ACP para explicar 80% da variação na população 109x120 e, quatro e cinco na 120x109. As Tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6 mostram as correlações entre as características com os CP nas diferentes populações e épocas de avaliação.

Tabela 1: Correlação entre 10 parâmetros morfofisiológicos com cada componente principal, na população 120x109 avaliada em julho/2015, Fazenda Experimental de Marilândia.

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
AFU (cm)	0,032	-0,108	0,307	0,676	-0,180	-0,468
CE (cm)	-0,221	-0,467	0,405	0,089	-0,110	-0,117
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0,106	0,275	-0,334	0,557	0,384	0,069
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	-0,251	-0,062	0,516	0,143	0,483	0,527
DLC (g cm <sup>3</sup> )	0,328	0,013	0,313	-0,336	0,511	-0,328
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,319	0,543	0,144	0,024	0,129	0,127
N. total (% g <sup>-1</sup> )	-0,365	0,511	0,195	-0,024	0,072	-0,099
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	0,349	0,197	0,305	0,067	-0,501	0,526
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	-0,516	-0,050	-0,048	-0,241	-0,177	-0,111
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	-0,381	-0,307	-0,335	0,167	0,097	0,250
Desvio Padrão	1,937	1,814	1,380	1,219	0,897	0,765
Proporção de Variância	19,371	18,141	13,803	12,189	8,971	7,647
Proporção acumulativa	19,371	37,512	51,316	63,504	72,475	80,123

Fortes correlações entre variáveis e componentes principais estão indicadas com a cor vermelho escuro, correlações mais fracas estão representadas com vermelho mais claro à rosa claro. 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 (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Tabela 2: Correlação entre 10 parâmetros morfofisiológicos com cada componente principal, na população 109x120 avaliada em julho/2015, Fazenda Experimental de Marilândia.

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
AFU (cm)	-0,380	-0,196	0,406	0,046	-0,429
CE (cm)	-0,452	0,011	0,200	0,112	-0,476
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0,304	-0,060	-0,215	0,357	-0,422
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0,245	0,535	0,278	-0,119	-0,183
DLC (g cm <sup>3</sup> )	-0,191	-0,369	-0,499	0,291	0,026
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,401	-0,166	-0,040	0,308	-0,360
N. total (% g <sup>-1</sup> )	0,426	-0,315	0,309	-0,177	-0,127
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	-0,208	-0,162	-0,290	-0,625	-0,247
Prolina (μmol g <sup>-1</sup> )	0,239	-0,539	0,152	-0,363	0,020
ETR (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	-0,141	-0,305	0,468	0,332	0,411
Desvio Padrão	2,664	1,720	1,526	1,290	1,109
Proporção de variância	26,640	17,199	15,259	12,902	11,091
Proporção acumulativa	26,640	43,839	59,098	72,000	83,091

Fortes correlações entre variáveis e componentes principais estão indicadas com a cor vermelho escuro, correlações mais fracas estão representadas com vermelho mais claro à rosa claro. 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 (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (μmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Tabela 3: Correlação entre 9 parâmetros morfofisiológicos com cada componente principal, na população 120x109 avaliada em Dezembro/ 2015, Fazenda Experimental de Marilândia.

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
AFU (cm)	0,0001	-0,490	-0,375	0,302	0,151	0,358
CE (cm)	-0,002	0,479	-0,152	0,524	0,121	-0,522
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	-0,241	0,057	0,744	0,037	0,266	0,270
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0,044	-0,579	0,077	-0,241	-0,212	-0,499
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,398	-0,168	0,183	-0,132	0,729	-0,319
N. total (% g <sup>-1</sup> )	0,488	0,033	0,261	0,010	-0,468	-0,146
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	0,507	-0,090	-0,127	0,312	0,169	0,210
Prolina (μmol g <sup>-1</sup> )	0,524	0,188	0,154	-0,030	-0,180	0,320
ETR (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,111	0,345	-0,368	-0,678	0,187	0,090
Desvio Padrão	2,065	1,710	1,146	0,991	0,813	0,741
Proporção de variância	22,947	18,998	12,739	11,016	9,037	8,234
Proporção acumulativa	22,947	41,945	54,684	65,700	74,737	82,971

Fortes correlações entre variáveis e componentes principais estão indicadas com a cor vermelho escuro, correlações mais fracas estão representadas com vermelho mais claro à rosa claro. 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 (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (μmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Tabela 4: Correlação entre 9 parâmetros morfofisiológicos com cada componente principal, na população 109x120 avaliada em Dezembro/ 2015, Fazenda Experimental de Marilândia.

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
AFU (cm)	-0,254	-0,346	-0,359	-0,197	0,552
CE (cm)	0,088	-0,469	0,006	0,456	0,471
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0,526	0,053	-0,112	0,044	0,260
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0,530	-0,012	-0,344	0,063	-0,193
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	-0,007	0,496	-0,164	0,474	0,142
N. total (% g <sup>-1</sup> )	-0,050	0,565	-0,088	0,153	0,396
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	-0,133	-0,235	-0,527	0,492	-0,434
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	0,588	-0,095	0,046	-0,178	0,049
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,072	-0,166	0,653	0,475	-0,023
Desvio Padrão	2,533	2,136	1,374	1,119	0,833
Proporção de variância	28,148	23,732	15,269	12,428	9,251
Proporção acumulativa	28,148	51,879	67,149	79,577	88,828

Fortes correlações entre variáveis e componentes principais estão indicadas com a cor vermelho escuro, correlações mais fracas estão representadas com vermelho mais claro à rosa claro. 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 (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Tabela 5: Correlação entre 9 parâmetros morfofisiológicos com cada componente principal, na população 120x109 avaliada em Abril/2016, Fazenda Experimental de Marilândia.

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
AFU (cm)	0,413	-0,040	-0,366	-0,346	0,248
CE (cm)	0,400	-0,035	-0,203	-0,550	0,074
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0,084	0,171	0,748	-0,167	0,330
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0,396	0,276	0,336	0,004	0,201
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,308	-0,481	0,258	-0,123	-0,399
N. total (% g <sup>-1</sup> )	0,374	-0,418	0,172	0,292	-0,298
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	0,115	0,562	0,057	-0,098	-0,656
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	0,374	0,016	-0,133	0,615	0,302
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,343	0,412	-0,186	0,249	-0,125
Desvio Padrão	2,845	1,606	1,284	0,911	0,785
Proporção de variância	31,608	17,848	14,269	10,123	8,724
Proporção acumulativa	31,608	49,455	63,725	73,848	82,572

Fortes correlações entre variáveis e componentes principais estão indicadas com a cor vermelho escuro, correlações mais fracas estão representadas com vermelho mais claro à rosa claro. 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 (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Tabela 6: Correlação entre 9 parâmetros morfofisiológicos com cada componente principal, na população 109x120 avaliada em Abril/2016, Fazenda Experimental de Marilândia.

	CP1	CP2	CP3	CP4
AFU (cm)	0,273	0,459	-0,060	0,304
CE (cm)	-0,012	0,609	0,039	-0,186
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	-0,029	-0,229	0,439	0,657
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	-0,495	-0,178	-0,154	0,322
NO <sub>3</sub> (% g <sup>-1</sup> )	0,511	-0,042	-0,206	0,039
N. total (% g <sup>-1</sup> )	0,483	-0,288	-0,039	0,093
FT (g Kg <sup>-1</sup> )	-0,206	0,201	0,643	-0,187
Prolina (µmol g <sup>-1</sup> )	0,371	0,063	0,519	0,081
ETR (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	-0,077	0,453	-0,231	0,535
Desvio Padrão	2,701	1,972	1,452	1,162
Proporção de variância	30,015	21,910	16,134	12,915
Proporção acumulativa	30,015	51,925	68,059	80,975

Fortes correlações entre variáveis e componentes principais estão indicadas com a cor vermelho escuro, correlações mais fracas estão representadas com vermelho mais claro à rosa claro. 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 (N. total) (% g<sup>-1</sup>), fenol total (FT) (g Kg<sup>-1</sup>), Prolina (µmol g<sup>-1</sup>), taxa de transferência de elétrons (ETR) (µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

Cada componente principal (CP) representou uma proporção da variação e foi correlacionado em diferentes graus aos parâmetros medidos. O primeiro CP (CP1) representou a maior parte da variação 31,608% e 30,015% nas populações 120x109/109x120, respectivamente, no período de abril/2016. Enquanto que o CP6 na 120x109 de julho/2015 e o CP5 na 109x120 de dezembro foram os que menos representaram, com 7,647% e 9,251%, respectivamente. Os parâmetros que se correlacionam com cada CP são indicados como um mapa de intensidade de cores vermelhas (Tabela 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

Para cada variável nas épocas e populações diferentes houve componentes com correlações distintas. Para a população 120x109 avaliada em Julho/2015, observou-se que: prolina e ETR correlacionaram mais com CP1; CE, NO<sub>3</sub> e N. total com CP2; RAF com CP3; AFU e AFE com CP4; DLC com CP5; FT com CP6; população 109x120-Julho/2015: NO<sub>3</sub> e N. total correlacionaram mais com CP1; RAF e prolina com CP2; DLC e ETR com CP3; FT com CP4; AFT, CE e AFE com CP5. Para a população 120x109-Dezembro/2015: Prolina, FT e N. total correlacionaram mais com CP1; RAF e AFU com CP2; AFE com CP3, ETR e CE com CP4; NO<sub>3</sub> com CP5; população 109x120-Dezembro/2015: AFE, RAF e prolina correlacionaram mais com CP1; NO<sub>3</sub> e N. total com CP2; ETR e FT com CP3; AFU e CE com CP5. Para a população 120x109-Abril/2016: AFU e RAF correlacionaram mais com CP1, NO<sub>3</sub> e N. total com CP2; AFE com CP3, CE e prolina com CP4; FT com CP5;

população 109x120-Abril/2016: RAF,  $\text{NO}_3^-$  e N. total correlacionaram mais com CP1; AFU e CE com CP2; FT e prolina com CP3, AFE e ETR com CP4.

Considerando-se os resultados das análises dos dados coletados no mês de abril de 2016, verifica-se que no geral as variáveis tiveram uma alta correlação positiva com o CP1, para a população 109x120, com exceção das variáveis AFE e FT, indicando uma relação positiva de desenvolvimento de acordo com a massa seca, área foliar da planta, na condição de nitrogênio apresentada, para alguns indivíduos, mesmo havendo correlação positiva com CE. Esses dados explicam uma maior distância entre as gemas, onde as inflorescências são formadas originando os frutos, sugerindo, assim, uma menor produtividade. No CP2, ETR e FT, correlacionaram-se negativamente com  $\text{NO}_3^-$  e N. total, demonstrando baixa relação com AFU, CE, AFE e RAF, que são variáveis mais diretamente envolvidas no desenvolvimento e crescimento da planta. Na população 120x109, o CP1 que demonstra a maior proporção de variância, o  $\text{NO}_3^-$ , N. total e prolina correlacionaram negativamente com RAF, sugerindo um menor desenvolvimento quando há mais nitrogênio e prolina. No CP2 houve correlação positiva entre AFU, CE e ETR, porém também se correlacionou negativamente com RAF. A alta relação positiva com CE indica menor produtividade, havendo maior AFU e ETR ocorrerá também maior CE, representando maior distância entre as gemas reprodutivas onde os frutos serão formados.

Para as informações do CP1 e CP2, verificam-se melhor condição de desenvolvimento e crescimento na população 109x120 e a existência de grande variação entre os indivíduos. Esse resultado comprovou a necessidade de estudos separados entre os indivíduos, para verificar a possibilidade de superioridade entre eles para tolerância à seca.

Em virtude da explanação acima, foi realizado um agrupamento hierárquico UPGMA, baseado na distância euclidiana média, com base no ACP, que representou a maior proporção da variação observada entre os parâmetros. O ponto de corte do dendograma foi estabelecido através do método de Mojena (1977), baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias).

Para a população 120x109 obteve-se oito grupos em julho de 2015 (Figura 1), dez em dezembro de 2015 (Figura 3) e sete em abril de 2016 (Figura 5). Para a população 109x120, foram formados quatro grupos em julho de 2015 (Figura 2), três em dezembro de 2015 (Figura 4) e três em abril de 2016 (Figura 6). Estudos da separação dos indivíduos em cada grupo estão representadas nas Tabelas 7 e 8.

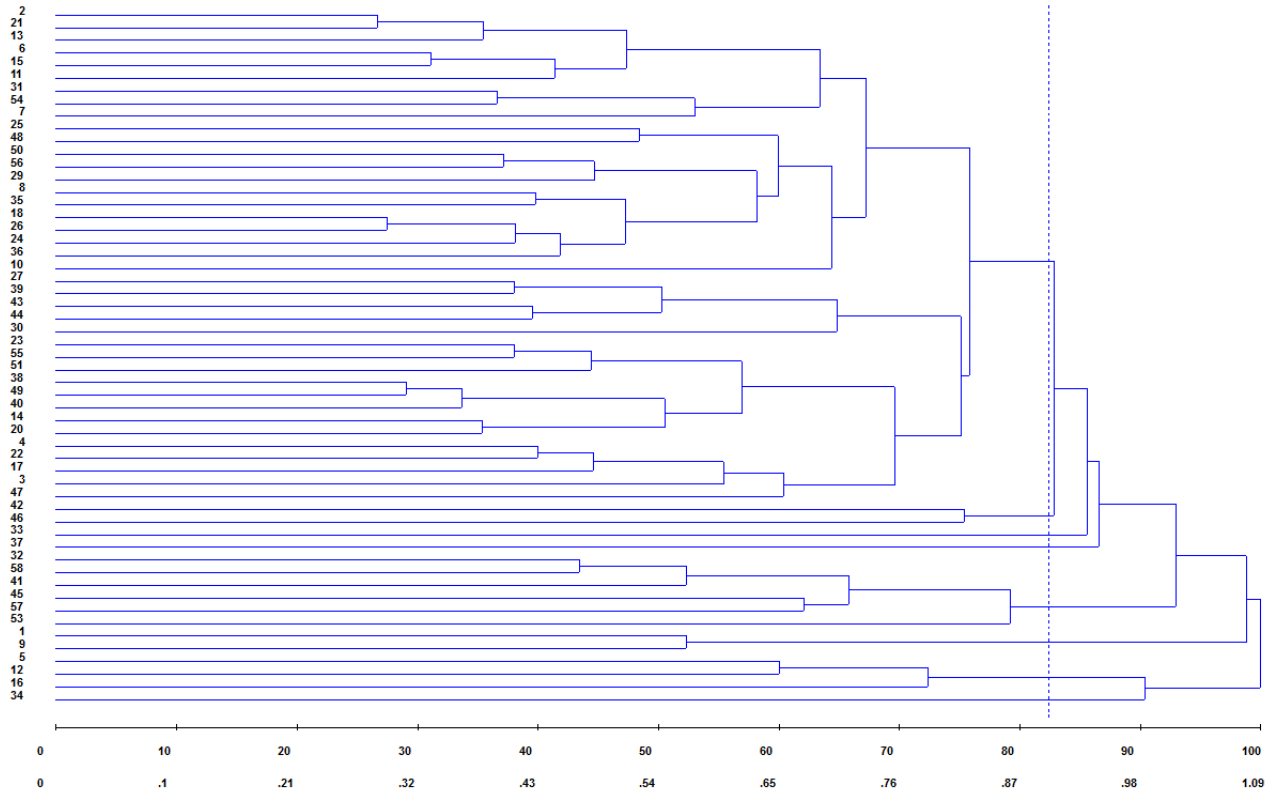


Figura 1: Agrupamento hierárquico UPGMA baseado na distância euclidiana média dos indivíduos da população 120x109 de Julho de 2015.

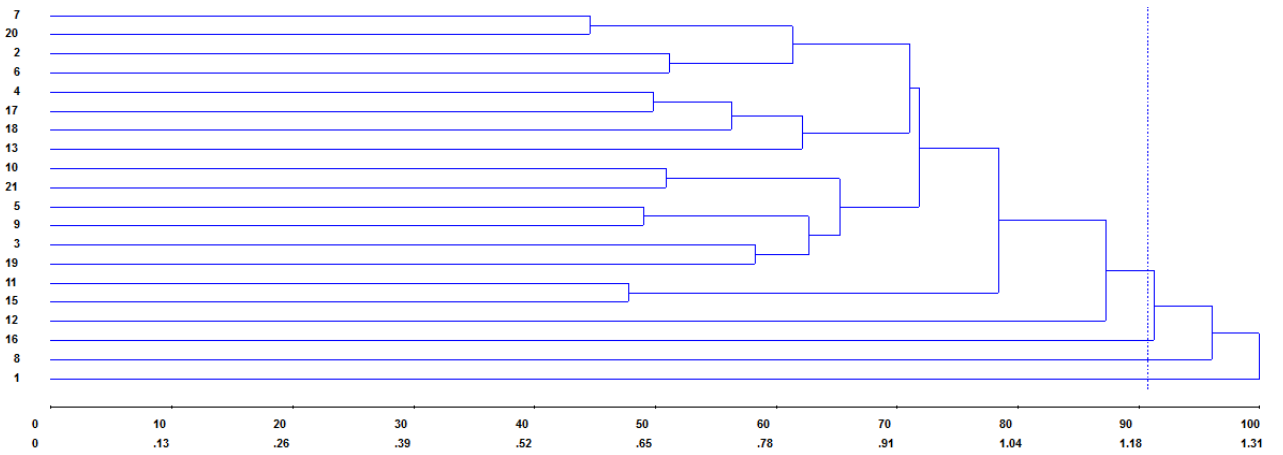


Figura 2: Agrupamento hierárquico UPGMA baseado na distância euclidiana média dos indivíduos da população 109x120 de Julho de 2015.

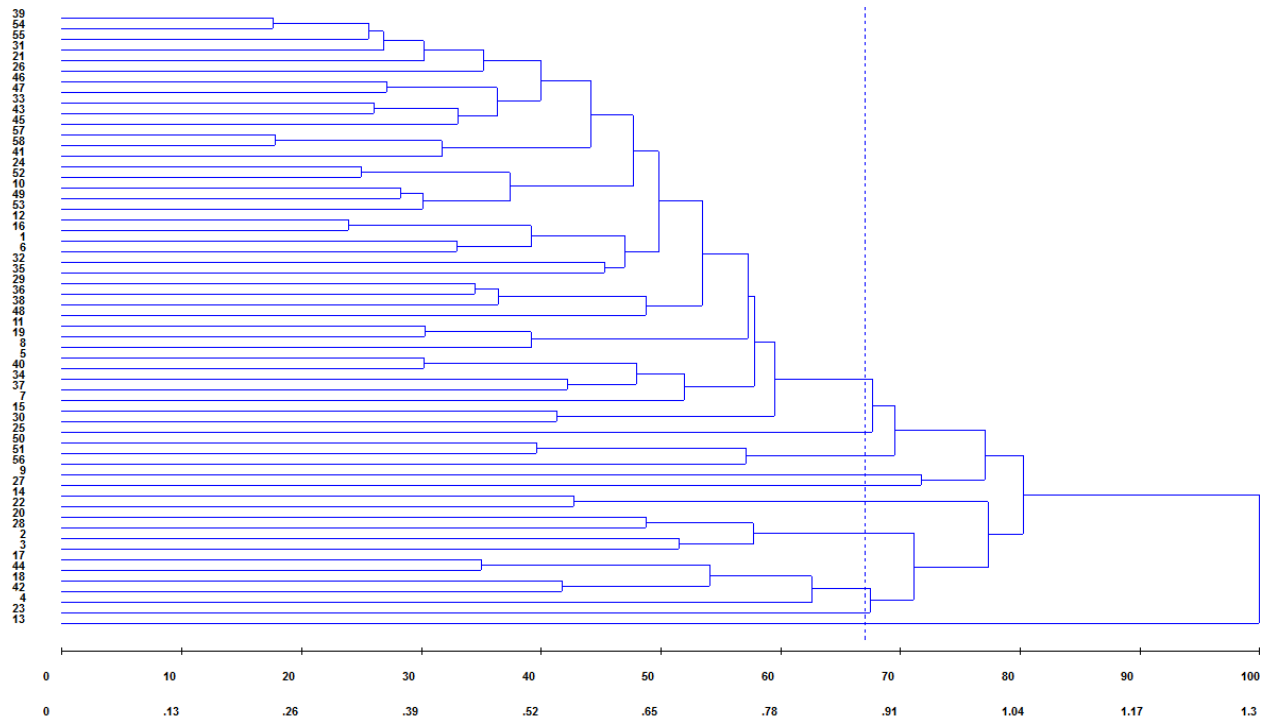


Figura 3: Agrupamento hierárquico UPGMA baseado na distância euclidiana média dos indivíduos da população 120x109 de Dezembro de 2015.

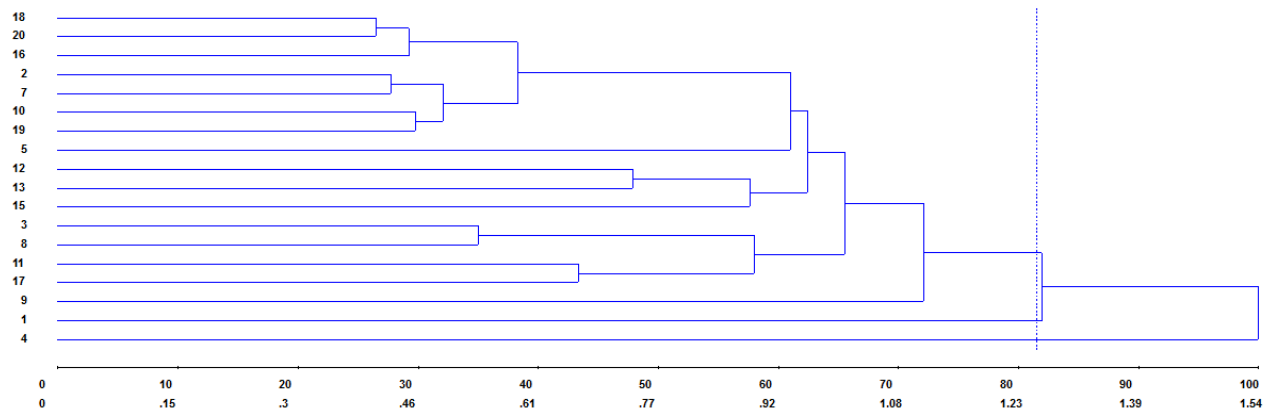


Figura 4: Agrupamento hierárquico UPGMA baseado na distância euclidiana média dos indivíduos da população 109x120 de Dezembro de 2015.



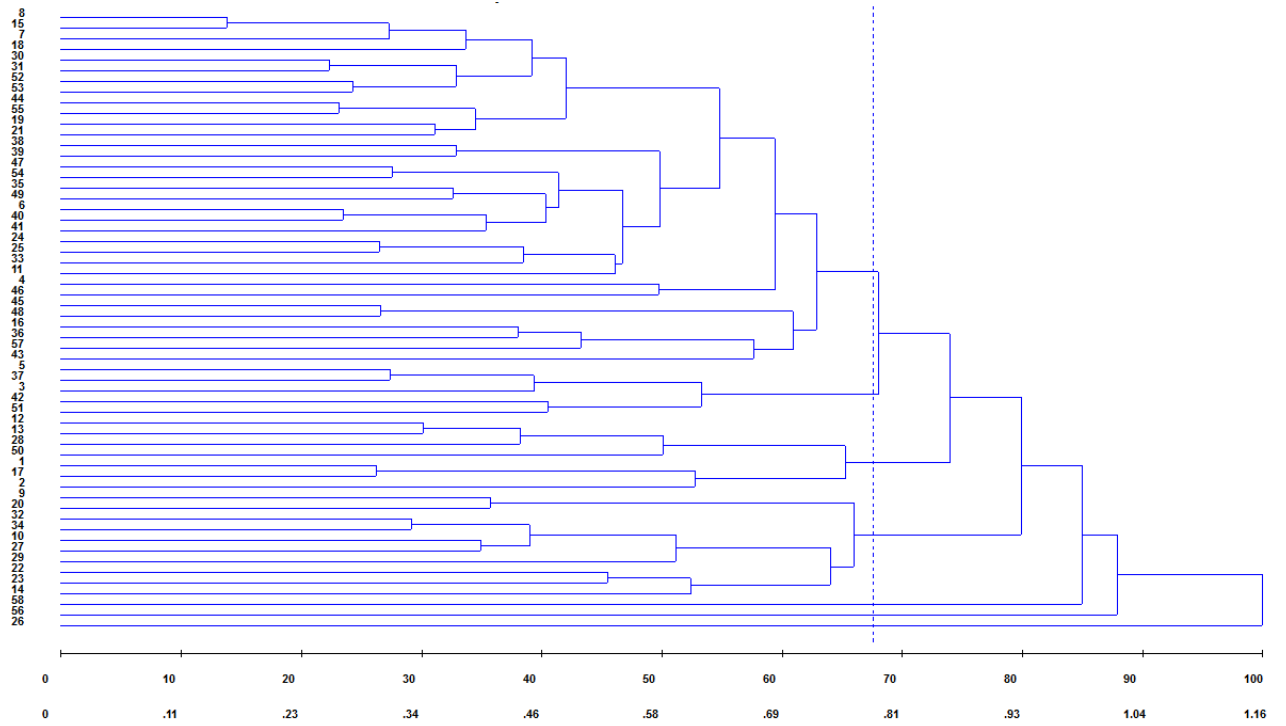


Figura 5: Agrupamento hierárquico UPGMA baseado na distância euclidiana média dos indivíduos da população 120x109 de Abril de 2016.

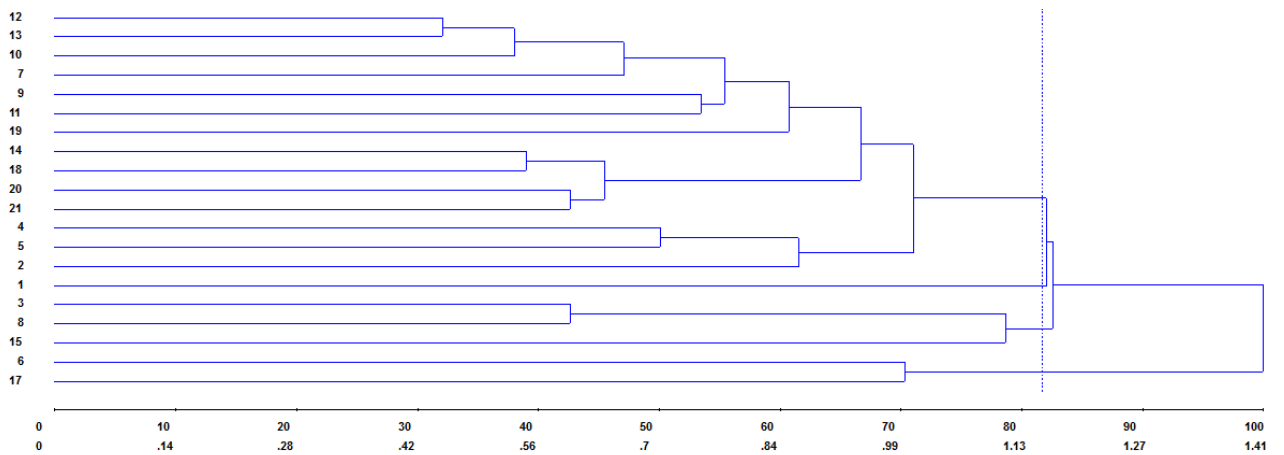


Figura 6: Agrupamento hierárquico UPGMA baseado na distância euclidiana média dos indivíduos da população 109x120 de Abril de 2016.

Tabela 7: Análise dos agrupamentos realizados no dendograma pelo método UPGMA da população 120x109 durante os períodos de análise do experimento.

109x120	Julho 2015	Dezembro 2015	Abril 2016
Grupo 1	2, 21, 13, 6, 15, 11,31	39, 54, 55, 31, 21, 26, 46	8, 15, 17, 18, 30, 31, 52
	54, 7, 25, 48, 50, 56, 29	47, 33, 43, 45, 57, 58, 41	53, 44, 55, 19, 21, 38
	8, 35, 18, 26, 24, 36, 10	24, 52, 10, 49, 53, 12, 16	39, 47, 54, 35, 49, 6, 40
	55, 27, 39, 43, 44, 30, 23	1, 6, 32, 35, 29, 36, 38	41, 24, 25, 33, 11, 4, 46
	51, 38, 49, 40, 14, 20, 4	48, 11, 19, 8, 5, 40, 34	45, 48, 16, 36, 57, 43,
	22, 17, 3, 47	37, 7, 15, 30	
Grupo 2	42, 46	25	5, 37, 3, 42, 51
Grupo 3	33	50, 51, 56	12, 13, 28, 50, 1, 17, 2
Grupo 4	37	9	9, 20, 32, 34, 10, 27, 29, 22 23, 14
Grupo 5	32, 58, 41, 45, 57, 53	27	58
Grupo 6	1, 9	14, 22	56
Grupo 7	5, 12, 16	20, 28, 2, 3	26
Grupo 8	34	17, 44, 18, 42, 4	
Grupo 9		23	
Grupo 10		13	

Tabela 8: Análise dos agrupamentos realizados no dendograma pelo método UPGMA da população 109x120 durante os períodos de análise do experimento.

120x109	Julho 2015	Dezembro 2015	Abril 2016
Grupo 1	7, 20, 2, 6, 4, 17, 18, 13, 10	18, 20, 16, 2, 7, 10,19, 5	12, 13, 10, 7, 9, 11, 19, 14,
	21, 5, 9, 3, 19, 11, 15, 12	12, 13, 15, 3, 8, 11, 17, 9	18, 20, 21, 4, 5, 2, 1
Grupo 2	16	1	3, 8, 15
Grupo 3	8	4	6, 17
Grupo 4	1		

Na população 120x109-Julho/2015, as maiores distâncias (1,0) foram encontradas entre os indivíduos 1 e 2 (98%) e, 2 e 30 (92%); os mais similares (0,29) entre os indivíduos 2 e 20 (26%). Para população 109x120-Julho/2015 as maiores distâncias (1,0) foram encontradas entre os indivíduos 2 e 8 (96%) e, 2 e 15 (91%); os mais similares (0,58) entre os indivíduos 7 e 9 (44%). Em dezembro/2015 para população 120x109, as maiores distâncias (1,0) foram encontradas entre os indivíduos 1 e 13 (100%), 1 e 2 (80%), 1 e 9 (77%) e, 2 e 14 (77%); os mais similares (0,22) entre os indivíduos 39 e 54 (17%). Para população 109x120-Dezembro/2015 as maiores distâncias (1,0) foram encontradas entre os indivíduos 1 e 4 (100%), 1 e 2 (81%), 2 e 3 (72%), 2 e 8 (65%); os mais similares (0,40) entre os indivíduos 16 e 18 (26%). Na população 120x109-Abril/2016 as maiores distâncias (1,0) foram encontradas entre os indivíduos 1 e 26 (100%), 1 e 56 (87%) e, 1 e 58 (85%); os mais similares (0,16) entre os indivíduos 8 e 16 (13%). Para população 109x120-Abril/2016 as maiores distâncias (1,0) foram encontradas entre os indivíduos 1 e 6 (100%), 1 e 3 (82%) e, 1 e 2 (82%); os mais similares (0,45) entre os indivíduos 12 e 13 (32%).

A relação das dissimilaridades é muito importante, pois demonstram os indivíduos mais diferentes ou semelhantes, baseado nas variáveis estudadas, podendo haver algum

destaque entre eles para tolerância ou suscetibilidade à seca, principalmente quando há isolamento, agrupando-se sozinhos, indicando superioridade ou não.

Nos agrupamentos observou-se também que a maioria dos indivíduos permaneceu em um mesmo grupo (G1). Detecta-se que, para maioria destes indivíduos, não há muita relevância, considerando os parâmetros avaliados, em cada período diferente, que mereçam ser melhor avaliada para tolerância à seca. Entre as épocas alguns indivíduos permaneceram no mesmo grupo e outros se agruparam de forma diferente, por terem tido alterações em seus parâmetros, que se distanciaram dos demais. Muitos destes merecem destaque, pois em condições de maior estresse hídrico mantiveram características para tolerar mais a seca, principalmente, no período crítico, abril/2016.

#### 4.3.2. Comparação entre as médias dos grupos para detecção de indivíduos superiores.

Analisando separadamente cada época e cada grupo, verifica-se que para a população 120x109 – julho/2015, as maiores médias entre as variáveis (Tabela 9), foram AFU e FT no grupo seis, AFE e CE no grupo 3, AFE, RAF, NO<sub>3</sub> e N, total no grupo 8, DLC no grupo 4, e Prolina e ETR no grupo 5; já as menores médias, foram encontradas no grupo 2 para AFU, RAF, NO<sub>3</sub> e N. total, no G3 para FT, no G5 para AFE, no G6 para prolina e ETR, no G7 para CE e no G8 para DLC.

Tabela 9: Média dos grupos para as variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para população 120x109, avaliada em Julho/2015.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	DLC	NO3	N. total	FT	Prolina	ETR
Grupo 1	49,46	3,26	117,04	62,66	0,60	0,44	3,31	2,11	2,96	89,81
Grupo 2	39,27	3,67	120,12	53,80	0,60	0,33	2,36	2,09	3,34	96,09
Grupo 3	51,34	3,87	141,37	68,15	0,60	0,63	3,66	1,99	5,65	84,84
Grupo 4	46,39	3,48	103,95	65,43	0,88	0,65	3,41	2,11	1,65	73,42
Grupo 5	47,60	3,42	102,63	70,72	0,62	0,66	3,83	2,09	8,33	101,13
Grupo 6	60,61	3,48	120,12	68,92	0,62	0,63	3,33	2,46	1,59	61,31
Grupo 7	43,55	2,80	127,71	64,41	0,61	0,78	4,21	2,09	1,68	61,58
Grupo 8	54,71	3,15	141,37	72,28	0,57	1,24	4,33	2,23	1,75	97,35

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

Em dezembro/2015, nesta população (Tabela 10), muitas diferenciações entre as médias foram verificadas, constatando-se um período de transição entre os indivíduos para rearranjo do metabolismo fisiológico, devido à seca, já instalada. As maiores médias foram observadas no grupo 9 para AFU, FT, prolina e ETR, no G10 para CE, no G3 para AFE, no

5 para RAF, no G6 para NO<sub>3</sub>, e no G7 para N. total. As menores médias no grupo 10 foram para AFU, RAF e NO<sub>3</sub>, no G4 para CE e FT, no G9 para AFE, no G2 para N. total, no G5 para prolina e no G3 para ETR.

Tabela 10: Média dos grupos para as variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para população 120x109, avaliada em Dezembro/2015.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	N. total	FT	Prolina	ETR
Grupo 1	47,85	4,86	122,49	76,07	0,29	4,55	2,03	9,97	78,59
Grupo 2	37,07	4,84	126,23	95,86	0,28	3,41	2,10	4,59	86,53
Grupo 3	46,42	4,67	150,27	68,52	0,36	4,48	2,13	9,25	68,62
Grupo 4	33,80	3,25	121,87	100,64	0,33	4,72	1,81	10,75	111,48
Grupo 5	32,02	4,79	126,23	106,39	0,38	5,86	1,92	5,19	72,46
Grupo 6	54,85	5,24	114,13	84,34	0,56	4,74	2,31	9,17	71,34
Grupo 7	47,87	5,33	114,31	82,15	0,36	5,38	2,42	15,83	71,69
Grupo 8	35,22	5,23	119,59	62,48	0,41	4,98	2,25	14,95	100,11
Grupo 9	56,45	4,96	114,01	79,51	0,45	5,61	2,56	17,12	114,11
Grupo 10	18,41	10,63	126,23	46,12	0,21	4,55	2,12	9,55	78,57

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

Em Abril/2016 - 120x109 (Tabela 11) constatou-se que, de modo geral, a demanda de energia pelas plantas para sua manutenção (sobrevivência) foi maior que a produção, o que levou a uma desestabilização inicial das funções da planta, seguida por uma normalização e indução dos processos fisiológicos de aclimatação, adquirindo menores médias que nos períodos anteriores de análises; as maiores médias foram encontradas no grupo 7 para AFU, CE e RAF, no G6 para AFE, no G4 para NO<sub>3</sub> e N. total, no G3 para FT e prolina, no G5 para ETR. As menores médias no grupo 6 para AFU e CE, no G1 para AFE e RAF, no G5 para NO<sub>3</sub>, N, total e prolina, e no G2 para FT e ETR.

Tabela 11: Média dos grupos para as variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para população 120x109, avaliada em Abril/2016.

Média	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	N. total	FT	Prolina	ETR
Grupo 1	25,94	3,67	117,85	77,60	0,52	3,36	2,74	4,88	39,33
Grupo 2	23,06	3,41	119,85	82,20	0,71	3,95	2,63	5,43	36,14
Grupo 3	28,95	3,84	125,79	95,74	0,46	3,51	2,82	9,41	56,27
Grupo 4	30,67	4,51	123,60	90,31	0,74	3,87	2,75	7,75	52,51
Grupo 5	26,06	4,29	121,87	88,29	0,31	2,80	2,73	1,58	65,76
Grupo 6	17,28	2,62	153,67	100,38	0,52	3,15	2,79	3,52	38,80
Grupo 7	45,93	4,94	121,87	150,28	0,59	3,45	2,79	6,32	57,56

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

Para a população 109x120/ Julho de 2015, as maiores médias foram observadas no grupo 2 para AFU, AFE, NO<sub>3</sub>, prolina e ETR, no G3 para CE e RAF, no G4 para DLC, N. total e FT e no G1 também para DLC e FT. As menores médias, no grupo 1 para RAF e N. total, no grupo G3 para AFE, DLC, NO<sub>3</sub>, FT e prolina, no G4 para AFU, CE e ETR (Tabela 12).

Tabela 12: Média dos grupos para as variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para população 109x120, avaliada em Julho/2015.

Média	AFU	CE	AFE	RAF	DLC	NO <sub>3</sub>	N. total	FT	Prolina	ETR
Grupo 1	44,20	3,34	126,53	62,74	0,70	0,50	3,47	2,09	6,47	104,71
Grupo 2	47,11	3,01	130,90	78,94	0,64	0,72	4,54	2,05	8,53	119,06
Grupo 3	42,09	3,46	117,81	111,66	0,59	0,45	3,53	1,97	4,74	101,76
Grupo 4	21,61	2,42	121,87	81,62	0,70	0,64	3,92	2,09	7,62	91,32

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

Em dezembro/2015 as maiores médias foram no grupo 1, para AFU e ETR, no G2 para NO<sub>3</sub> e N. total, no G3 para CE, AFE, RAF, FT e prolina. As menores médias no grupo 1 para NO<sub>3</sub> e N. total, no G2 para CE, AFE, RAF, FT e prolina, no G3 para AFU e ETR (Tabela 13).

Tabela 13: Média dos grupos para as variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para população 109x120, avaliada em Dezembro/2015.

MÉDIA	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	N. total	FT	Prolina	ETR
Grupo 1	49,08	5,40	110,55	80,91	0,36	4,57	2,22	10,95	71,44
Grupo 2	44,31	3,23	100,98	71,50	0,47	6,47	1,98	7,30	48,78
Grupo 3	41,51	5,51	135,93	160,71	0,39	4,84	2,26	22,36	46,51

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

Em Abri/2016, as maiores médias foram no grupo 1, para CE, FST e ETR, no G2 a AFE, RAF, no G3 a AFU, NO<sub>3</sub>, N. total e prolina. As menores no grupo 1 foram a AFE, NO<sub>3</sub> e N. total, no G2 AFU, CE, prolina e ETR, no G3 a RAF e FT (Tabela 14).

Tabela 14: Média dos grupos para as variáveis utilizadas no agrupamento UPGMA para 109x120 – Abril/2016.

Média	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	N. Total	FT	Prolina	ETR
Grupo 1	27,77	3,79	113,40	73,93	0,32	3,21	2,66	4,93	50,20
Grupo 2	18,80	3,12	121,40	83,73	0,33	3,44	2,60	4,61	30,51
Grupo 3	31,29	3,45	115,91	57,83	0,66	3,74	2,59	6,89	40,72

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

Foi realizada uma análise mais detalhada em abril na população 120x109, devido às colocações e contribuições descritas no capítulo 1, demonstrando ser uma época mais promissora para averiguar os indivíduos mais tolerantes à seca.

Considerando os parâmetros AFE e RAF, verifica-se uma grande variação, havendo grupos com maior AFE (grupo 6 – abril) e RAF (grupo 3, 4, 6 e 7 – abril); grupos com menor AFE (grupo 1, 2, 3, 4, 5 e 7 – abril) e RAF (grupo 1, 2 e 5), como dito anteriormente.

Cavatte et al. (2012), avaliando clones de café, verificaram que independente da condição de hidratação das plantas, com alta exposição a luz, as folhas apresentaram menores valores de AFE e RAF. Descreveram também que a seca causou diminuições em A (46%), gs (60%), e ETR (31%).

Poorter et al. (2009), relataram que espécies que possuem alta AFE, normalmente, estão associadas a ambientes com alta concentração de nutrientes, com competição de luz, cutículas e epiderme mais delgadas, menor espessura de mesofilo e menor proporção de parênquima paliçádico. Entretanto, as que possuem baixa AFE estão em competição por nutrientes, investem mais em crescimento de raiz, menos em galhos e folhas, mantém alta concentração de metabólitos secundários, o que auxilia na diminuição da herbivoria.

As menores AFE geralmente estão associadas a maiores espessuras, devido à largura das células paliçádicas (MATOS et al., 2009). As folhas mais espessas possuem maiores valores de eficiência no uso da água do que folhas mais fina (ARANDA et al., 2005). As cutículas mais espessas podem estar associadas a altas concentrações de lipídios, que ajudam a reduzir a perda de água e a melhorar ainda mais a eficiência do uso da água (LAMBERS et al., 2008).

Estudando alguns parâmetros mais detalhadamente, verifica-se que os grupos 1 e 2 demonstraram menor AFE, RAF e ETR, e apresentaram média de A igual 4,73; 5,27 e gs 0,059; 0,077 respectivamente (Figura 7). Os grupos 3, 4, 5 e 7, com menor AFE, apresentaram maior ETR e RAF com média de A igual a 8,26; 5,00; 8,97; 6,68 e gs 0,11; 0,050; 0,163; 0,09, respectivamente. Mesmo que tenha havido divergências nestas variáveis, constata-se que em abril/2016, alguns indivíduos conseguiram manter maiores concentrações, como nos grupos 3, 5 e 7 da população 109x120 (Figura 7), demonstrando importância no desenvolvimento e crescimento das plantas em estresse hídrico, principalmente no grupo 3, que possui menor CE para desenvolvimento de mais gemas e frutos, além de maior FT, que é importante no combate a herbivoria.

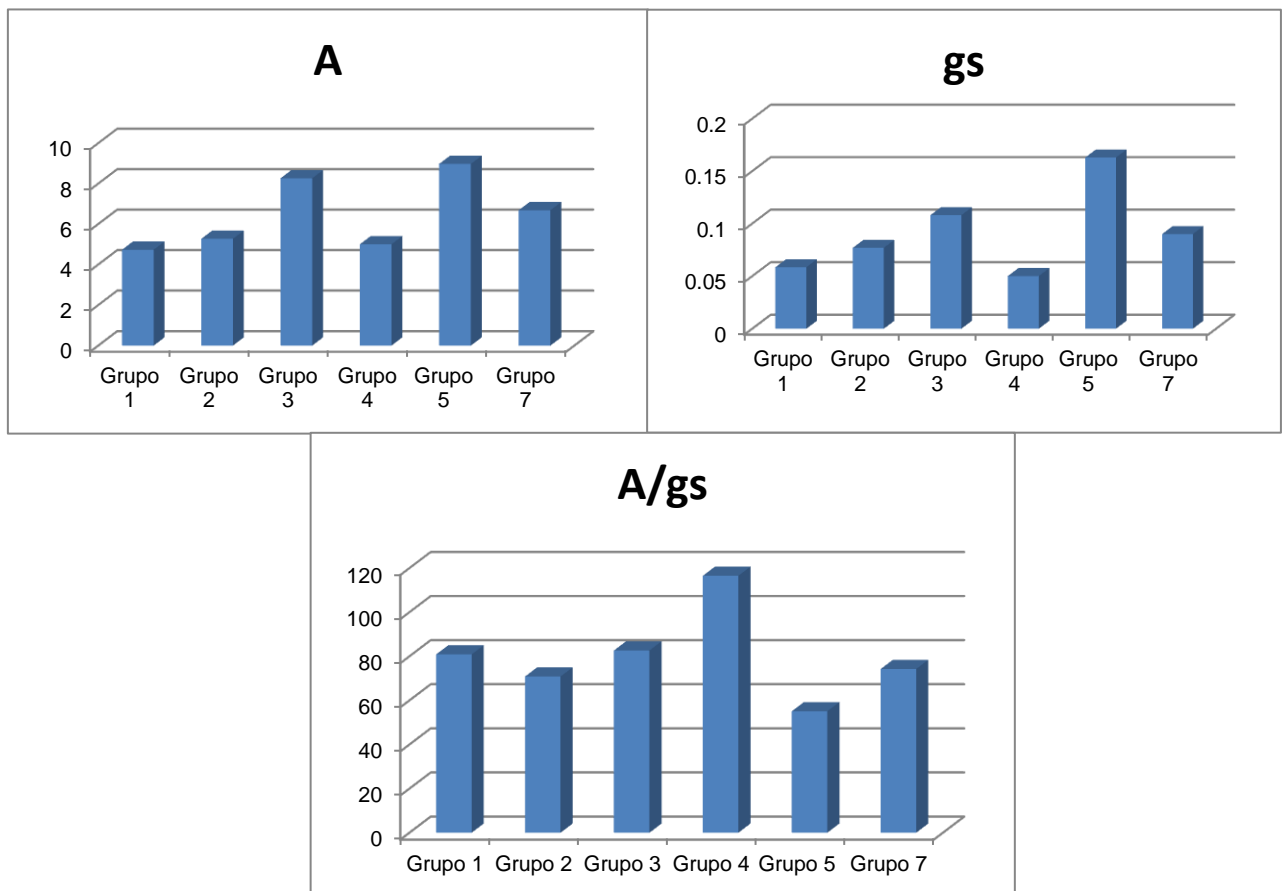


Figura 7: Análise exploratória da fotossíntese (A), condutância estomática (gs) e eficiência no uso da água intrínseca (A/gs) dos grupos selecionados em abril para população 109x120.

Entretanto apresentaram menor A/gs (Grupo 3, 5 e 7), em comparação principalmente ao grupo 4, e valores mais padronizados em relação aos grupos 1, 2 3 e 7, havendo um menor valor no grupo 5. BLUM (2009) descreveu que A/gs foram relatados erroneamente, em muitos trabalhos, como um importante determinante para produtividade em estresse hídrico e até mesmo como um componente da resistência à seca das culturas. Dias et al. (2007), trabalhando com progênies de café tolerante e susceptível a seca, sugeriram que a seleção das plantas para uma alta eficiência no uso da água pode aumentar o crescimento e a produtividade geral. Blum (2009), faz uma crítica a essas pesquisas e comprova através de demonstrações formulares que A/gs é uma variável independente para afetar o rendimento dos grãos. Descreve que o aumento da produção de biomassa em estresse hídrico pode ser conseguido, principalmente, maximizando a captação de água no solo enquanto desvia a maior parte da umidade do solo disponível para transpiração estomática, definido como o uso efetivo da água. Isso requer alta condutância estomática ao longo do tempo, para permitir uma maior fixação de CO<sub>2</sub>, traduzindo em uso de água no solo maximizado para transpiração, gerando na maioria dos

casos menor A/g. Este relato foi muito importante para o presente trabalho, pois as plantas com melhores características para tolerância à seca (Grupos 3, 5 e 7) apresentaram menor A/g, indicando que estas conseguem uma maior captação de água no solo, transpiram mais, assimilam maior quantidade de CO<sub>2</sub> e perdem mais água, por isso possuem menor A/g.

Observando as Tabelas 1, 2 e 3 do capítulo 1 (dados descritivos), verifica-se que a variável prolina foi uma das que teve maior variação entre as épocas e analisando a tabela das ACP, verifica-se também que a prolina é uma das variáveis que responde por maior variabilidade entre os indivíduos. Em algumas espécies, o acúmulo de solutos compatíveis, como prolina e compostos de amônio quaternário, tem sido considerado como uma adaptação ao estresse à seca, devido ao ajuste osmótico. No café, no entanto, vários trabalhos têm indicado que a prolina pode ser um indicador da severidade do estresse, ao invés de estar associada a um mecanismo protetor (MAZZAFERA; TEIXEIRA, 1989; MAESTRI et al., 1995; VERBRUGGEN; HERMANS, 2008, SILVA et al., 2010). Segundo Silva et al. (2010), o acúmulo desse aminoácido só seria promovido caso a desidratação celular ultrapassasse um limiar de dano à célula, sendo sua acumulação mais notória em genótipos mais sensíveis. Entretanto, descreveram também que isso não excluiria a possibilidade de que, em outros genótipos, o aumento no teor de prolina possa contribuir para tolerância à seca. Como o que parece ser o caso no presente estudo, em que as plantas com as melhores características morfofisiológicas AFE, RAF, ETR, A e gs (Grupo 3 e 7- 109x120/ abril) para tolerância a seca apresentaram as maiores concentrações de prolina, com exceção do grupo 5. A alta concentração de prolina pode ter contribuído para uma menor perda de água nos tecidos, mantendo uma boa assimilação de CO<sub>2</sub> nos estômatos, com bons rendimentos fotossintéticos. De acordo com DaMatta et al. (1993), em déficit hídrico, a manutenção de um elevado teor de água relativo em folhas é mais importante do que ajuste osmótico em conferir tolerância à seca em café. O que parece não está relacionado como os nossos resultados.

Blum (2005) descreveu que a principal resposta adaptativa da planta à seca, no nível celular, que tem um efeito comprovado sobre o rendimento em estresse hídrico, é o ajuste osmótico. Demonstrou-se que o ajuste osmótico permite a manutenção da turgescência foliar para o mesmo potencial de água foliar, suportando assim a condutância estomática em baixo estado de água nas folhas e melhora a capacidade radicular para captação de água.

Considerações importantes sobre o suprimento de N para tolerância seca também são descritas por alguns autores (MEGURO; MAGALHÃES 1983; TERASHIMA; EVANS 1988; DAMATTA et al., 2002a; DAMATTA et al., 2002b; DAMATTA; RAMALHO, 2006). A disponibilidade adequada pode melhorar indiretamente a tolerância à seca, pois permitirá o desencadeamento de mecanismos de fotoproteção do cloroplasto e alterações qualitativas



da membrana com excesso de energia de excitação, que ocorrem quando o fechamento dos estômatos é promovido pela escassez de água (DAMATTA; RAMALHO, 2006).

Geralmente, o nitrogênio (N) é o nutriente mineral com maior potencial para limitar A (EVANS, 1989), pois além de influenciar os efeitos da fotossíntese (A) sobre a condutância estomática (gs), a limitação de N também pode diminuir A através da diminuição do teor de pigmentos no cloroplasto e da síntese de várias enzimas envolvidas no ciclo de Calvin, particularmente ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase / oxigenase (Rubisco) (TERASHIMA; EVANS 1988).

Meguro; Magalhães (1983), em estudo de cultivares de café arabica em vaso, observaram diminuições lineares na atividade de nitrato redutase à medida que o potencial hídrico da folha diminuiu de -1,0 a -3,0 Mpa. No presente trabalho, parece ter havido pouca inibição da nitrato redutase, pois houve altas concentrações de  $\text{NO}_3$ , em comparação com os clones (Tabelas 4, 5 e 6, no capítulo 1).

DaMatta et al. (2002a), estudando as limitações da fotossíntese em *C. canephora* em relação a disponibilidade de nitrogênio e água, sugerem que com alto e baixo suprimento de nitrogênio, sem hidratação, ocorreu grande diminuição de A e gs. Porém, as plantas com hidratação e alto N teve aumento de A sem afetar gs, o que contribuiu para o aumento da eficiência no uso da água instantânea em plantas. Estas plantas exibiram também uma AFE mais baixa, por isso eram susceptíveis em ter mais cloroplastos por unidade na superfície foliar e, deste modo, era de esperar uma maior A por área (DAMATTA et al., 2002b).

Extrapolando essas avaliações para este estudo, como as plantas estavam em estresse hídrico, em abril/2016 houve grande diminuição de A e gs como demonstrado por DaMatta et al. (2002a). Verificou-se que não houve relação positiva entre quantidade de nitrogênio disponível com rendimento fotossintéticos da planta, pois os grupos 2 e 4 (109x120 - abril) tiveram maior quantidade de N. total (3,95 e 3,87, respectivamente), porém não apresentaram características morfofisiológicas suficientes para o melhor rendimento das plantas nesta condição. Esta condição pôde ser observada nos grupos 3, 5 e 7, pois com menor suprimento de nitrogênio, apresentaram qualidades para um melhor rendimento em condições de déficit hídrico e potencial para serem utilizadas em um programa de melhoramento vegetal.

Em relação à média geral, a DLC foi maior na população 120x109 (Tabela 11), havendo apenas o grupo 2 (indivíduo 37) da população 109x120 com valor superior aos demais (0,88) (Figura 1 e Tabela 8), o que provavelmente, foi o principal fator do isolamento dos outros grupos. Silva et al. (2013), trabalhando com vários clones diferentes, suscetíveis e tolerantes a seca, relataram que clones de café com alta densidade do lenho caulinar, utiliza a água disponível lentamente e possui uma maior eficiência hidráulica em condições de déficit hídrico, devido a uma possível segurança hidráulica contra a cavitação, o que

resulta em melhor hidratação dos seus tecido. Porém clones de café com menor DLC e maior eficiência hidráulica investiram quantidades maiores de biomassa em raízes para suportar taxas mais elevadas de transporte de água e o maior ganho de carbono poderia compensar os elevados custos de construção de um sistema radicular mais robusto. As análises de DLC deste estudo foram realizadas no período em que a seca ainda não havia se instalado (julho de 2015), verifica-se que o maior valor de DLC, na população 120x109, teve um aumento no uso efetivo da água, condutância, transpiração, com maior carboxilação, conseqüentemente maior A, por isso apresentou menor A/gs. Demonstrando que em condições de hidratação esta população apresenta melhores características morfofisiológicas do que a 109x120, como observado no capítulo 1 na Tabela 1. A população 109x120 com menor DLC, não utilizaram a água de forma efetiva, por isso apresentaram menor condutância, transpiração, carboxilação e A.

Akula; Ravishankar (2011) e Cavatte et al. (2012) relataram que a seca provoca aumento de compostos fenólicos em folhas. De fato, de julho para abril, houve um aumento considerável desta variável (Tabelas 1, 2 e 3 – capítulo 1), porém entre os grupos, na mesma época, houve uma menor variação, destacando-se abril (Tabela 11), principalmente no grupo 3 (2,82). Este aumento pode contribuir significativamente para a proteção contra o excesso de energia (CLOSE et al., 2003; WILHELM; SELMAR 2011) e danos associados à radiação UV-B (GILL; TUTEJA 2010), demonstrando mais uma vez a superioridade no grupo 3.

Os grupos 3, 5 e 7 (abril - 109x120), apresentaram melhores características fotossintéticas e morfológicas que os demais. A AFE, RAF, A, ETR, gs e A/gs, foram as variáveis mais relevantes para discriminar os genótipos mais tolerantes à seca. O G3 é representado pelos indivíduos 1, 2, 12, 13, 17, 28, 50, o G5 pelo genótipo 58 e o G7 pelo indivíduo 26. É importante ressaltar que os genótipos 1, 26, 56 e 58, foram os que apresentaram maior dissimilaridade entre os indivíduos, como podem ser observados, no dendograma da Figura 5. Porém a maior distância representada pelo o indivíduo 56 não foi relacionado com boas características morfofisiológicas, destacando-se mais como suscetível à seca e os outros (1, 26 e 58) como tolerantes, estando incluídos dentro dos selecionados.

No Anexo deste trabalho estão representadas as análises individuais da população 109x120-Abril/2016 para cada parâmetro. Verifica-se que, além dos genótipos citados como mais importantes para tolerância e susceptibilidade à seca, existem outros indivíduos que possuem características semelhantes com os selecionados, como os indivíduos 8, 9, 14, 22, 25, 29 para tolerância e os genótipos 20, 21, 23, 31, 32, 33, 34, 35 para susceptibilidade à seca. Provavelmente, estes, apresentaram, alguma variável que fizeram com que se agrupassem em grupos sem destaque para tolerância à seca, tendo algumas de suas características importantes, mascaradas, por isso merecem ser melhor explorados.

#### 4.4. REFERÊNCIAS

- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.
- ANTUNES, W. C. et al. 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.
- ARANDA I. et al. Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak *Quercus suber* L. seedlings. **Forest Ecology and Management**, n. 210, p. 117-129, 2005.
- 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.
- BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? **Australian Journal of Agricultural Research**, n. 56, p. 1159-1168, 2005.
- 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**, n. 112, p. 119-123, 2009.
- CATALDO, D. A. et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, n. 6, p. 71-80, 1975.
- CAVATTE, P. C. et al. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, n. 144, p. 111-122, 2012.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, n. 103, p. 551-560, 2009.
- CLOSE, D. et al. Photoinhibition: a link between effects of the environment on eucalypt leaf chemistry and herbivory. **Ecology**, n. 84, p. 2952-2966, 2003.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café. v. 3, n. 2, p. 1-104, 2016.
- CRUZ, C. D. **Programa genes. Diversidade Genética**. Ed. Viçosa: UFV, 2008. 390 p.
- DAMATTA, F. M. et al. Effects of soil water deficit and nitrogen nutrition on water relations and photosynthesis of pot-grown *Coffea canephora* Pierre. **Trees**, n. 16, p. 555-558, 2002a.
- DAMATTA, F. M. et al. Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. **Journal of Plant Physiology**, n. 159, p. 975-981, 2002b.
- DAMATTA, F. M. et al. Water relations of coffee leaves (*Coffea arabica* and *C. canephora*) in response to drought. **Journal of Horticultural Science**, n. 68, p. 741-746, 1993.
- 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.
- EVANS, J. R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. **Oecologia**, n. 78, p. 9-19, 1989.
- Feitosa, L. R. **Carta agroclimática do Espírito Santo**. (1986). Vitória, ES: Emcapa (Mapa).
- GALLÉ, A.; FELLER U. R. S. Changes of photosynthetic traits in beech saplings (*Fagus sylvatica*) under severe drought stress and during recovery. **Physiologia Plantarum**, n. 131, p. 412-421, 2007.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, n. 48, p. 909-930, 2010.
- LAMBERS, H.; CHAPIN, F. S.; PONS, T. L. **Plant Physiological Ecology**. Springer-Verlag, New York, 2008.
- 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.
- MAESTRI, M. Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water stressed coffee plants (*Coffea arabica* and *C. canephora*). **Journal of Horticultural Science**, v. 70, p. 229-233, 1995.
- MATOS, F. S. et al. Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. **Environmental and Experimental Botany**, n. 67, p. 421-427, 2009.
- MAZZAFERA, P.; TEIXEIRA, J. P. F. Prolina em cafeeiros submetidos à estresse hídrico. **Turrialba**, v. 39, n. 3, p. 305-313, 1989.
- MEGURO, N. E.; MAGALHÃES, A. C. Water stress affecting nitrate reduction and leaf diffusive resistance in *Coffea arabica* L. cultivars. **Journal of Horticultural Science**, n. 58, p. 147-152, 1983.
- MOJENA, R. Hierárquical grouping method and stopping rules: an evaluation. **Computer Journal**, v.20, p.359-363, 1977.
- PAULO, C. D. et al. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **Journal of Plant Physiology**, n. 164, p. 1639-1647, 2007.
- POORTER, H.; VILLAR, R. The fate of acquired carbon in plants: Chemical composition and construction costs. In: Bazzaz FA, Grace J, eds. Resource allocation in plants. **Academic Press**, p. 39-72, 1997.
- POOTER, H. et al. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. **New Phytologist**, v. 82, n. 2, p. 565-588, 2009.
- RONCHI, C. P.; DAMATTA, F. M. Aspectos fisiológicos do café conilon. In: FERRÃO, G. F. et al. (Orgs.). **Café Conilon**. Vitória: Incaper, 2007. p. 67-91.

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**, n. 87, p. 49-57, 2013.

SILVA, V. A. et al. 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.

TERASHIMA, I.; EVANS, J. R. Effects of light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in spinach. **The Plant Cell Physiology**, n. 29, p. 143-155, 1988.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 35, p. 753-759, 2008.

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.

## V. CONCLUSÕES GERAIS

- Verifica-se que o cafeeiro possui uma grande capacidade de alterar a sua fisiologia e morfologia de acordo com as condições do ambiente, isto pôde ser observado pela alteração na fenologia durante o período de análise, passando de uma maior para menor hidratação.

- Comprova-se uma grande importância neste estudo, pois apenas com a interpretação dos dados da estatística descritiva, que resumem a informação recolhida sobre uma amostra ou uma população, foi possível obter resultados muito importantes para o melhoramento.

- Foi possível sugerir a herança materna para tolerância à seca, abrindo possibilidades de estudos mais aprofundados na genômica do DNA cloroplastídico, com a possibilidade de entendimento do efeito epigenético na adaptação das plantas em condições de estresse hídrico para herança materna.

- A população 120x109 conseguiu manter melhores características morfofisiológicas no período de maior seca (abril/2016), não apresentando diminuições nas concentrações Cl. total e Carot, indicando menor produção de ROS nos tilacóides. Apresentaram também maior média na assimilação de CO<sub>2</sub> (A), com a mesma média de condutância estomática (A/g) nas duas populações.

- Foi possível identificar grande variabilidade entre os indivíduos e nas épocas de avaliação, principalmente, através do coeficiente de variação (CV) e pelos gráficos box plot.

- Foi determinado alguns genótipos superiores, que passaram pela seca com maior tolerância, como os apresentados nos grupos 3, 5 e 7 em abril/2016, sendo representados pelos indivíduos 1, 2, 12, 13, 17, 26, 28, 50 e 58. Estes demonstraram características de desenvolvimento importantes para um programa de melhoramento genético de plantas, possuindo potencial para bons rendimentos em condições de limitação de água.

- Os genótipos 1, 26, 56 e 58 exibiram maior dissimilaridade, o indivíduo 56 foi mais caracterizado como suscetível à seca e os outros como tolerantes, estando incluídos dentro dos grupos selecionados.

- As variáveis AFE, RAF, A, ETR, gs e A/g, foram as mais relevantes para discriminar os genótipos mais tolerantes à seca.

- Foi possível identificar também outros indivíduos que possuíram algumas características semelhantes com os grupos selecionados e, que, merecem ser melhor explorados, como os indivíduos 8, 9, 14, 22, 25, 29 para tolerância e os genótipos 20, 21, 23, 31, 32, 33, 34, 35 para suscetibilidade à seca.

## VI. ANEXO

Avaliações individuais das características morfofisiológicas de café conilon, oriundas dos cruzamentos 109x120 (58 progenies), referentes à terceira avaliação (abril/2016). Incaper de Marilândia – ES.

N. campo	N. análises	AFU	CE	AFE	RAF	NO <sub>3</sub>	N. Total	FT	Prolina	A	gs	A/gs	ETR
1	1	30,03	3,74	121,87	95,75	0,49	3,69	2,60	11,79	8,30	0,11	73,06	55,29
6	2	25,47	3,81	121,87	106,23	0,42	3,72	2,82	17,44	9,26	0,13	69,08	58,51
7	3	19,97	2,88	117,81	79,76	0,70	3,76	2,72	6,73	5,27	0,07	76,07	31,27
9	4	38,08	3,75	103,95	71,96	0,47	2,97	2,72	7,04	6,75	0,12	56,14	49,30
10	5	20,67	3,54	126,23	81,67	0,81	3,80	2,61	5,71	5,71	0,09	65,63	30,98
11	6	29,74	3,33	121,87	80,95	0,60	3,23	2,75	5,04	6,58	0,08	84,78	38,55
12	7	25,67	3,25	110,45	71,65	0,47	2,97	2,76	6,13	6,48	0,09	74,01	45,87
14	8	26,01	3,44	114,01	79,11	0,50	3,40	2,79	6,68	8,11	0,10	81,58	43,55
15	9	35,27	6,02	121,87	90,67	0,63	3,74	2,67	7,73	8,64	0,13	64,03	43,17
17	10	24,07	4,38	130,90	71,96	0,79	3,59	2,81	4,64	7,64	0,08	94,74	51,88
22	11	33,10	3,99	130,90	104,21	0,58	3,43	2,75	7,82	6,64	0,08	78,14	35,18
25	12	31,85	3,88	121,87	88,96	0,50	3,48	2,91	5,94	9,96	0,15	67,82	60,87
27	13	32,76	3,58	130,90	98,57	0,54	3,43	2,86	9,67	10,46	0,14	72,88	58,79
29	14	28,61	4,65	121,87	89,13	0,81	4,19	2,72	13,33	6,24	0,07	92,48	47,06
31	15	28,44	3,35	117,81	69,34	0,49	3,42	2,81	5,94	5,36	0,04	124,31	42,19
32	16	16,90	2,75	121,87	66,29	0,49	3,41	2,73	5,42	3,55	0,04	84,04	29,22
35	17	31,95	4,15	121,87	97,06	0,50	3,43	2,70	11,00	7,69	0,08	92,00	54,82
37	18	22,63	3,29	114,01	77,53	0,58	3,43	2,89	7,44	4,09	0,03	130,92	38,27
38	19	19,86	3,02	114,01	65,86	0,38	3,24	2,71	6,06	5,59	0,05	121,44	47,45
40	20	29,60	6,15	130,90	91,17	0,70	3,77	2,80	6,06	3,87	0,02	155,95	46,43
42	21	18,67	3,51	103,95	84,79	0,38	3,11	2,78	4,76	3,55	0,02	162,80	51,50
43	22	34,65	4,91	110,45	85,57	0,79	3,92	2,81	7,54	6,04	0,06	109,51	66,09
44	23	40,01	4,36	110,45	84,59	0,71	4,15	2,67	11,57	1,61	0,01	119,54	57,99
45	24	29,61	4,00	117,81	85,41	0,61	3,73	2,79	6,87	3,74	0,02	170,44	44,70
46	25	26,34	4,06	117,81	97,48	0,51	3,84	2,74	7,82	7,23	0,08	85,45	50,88
50	26	45,93	4,94	121,87	150,28	0,59	3,45	2,79	6,32	6,68	0,09	74,24	57,56
52	27	25,08	4,08	126,23	104,98	0,78	3,57	2,84	5,66	5,25	0,04	146,33	42,01
53	28	25,93	3,97	135,93	97,64	0,41	3,35	2,84	6,09	5,88	0,04	134,03	53,32
54	29	29,11	4,32	130,90	92,54	0,81	3,72	2,92	6,49	5,70	0,05	108,57	70,01
56	30	21,82	3,57	117,81	84,99	0,45	3,18	2,75	2,57	5,18	0,04	133,79	49,58
57	31	20,42	3,83	117,81	78,52	0,55	3,27	2,77	3,30	1,43	0,01	164,72	55,98
59	32	28,65	4,08	126,23	93,68	0,71	3,93	2,73	5,59	2,85	0,02	140,90	52,10
61	33	25,14	3,46	114,01	95,24	0,65	3,54	2,84	3,20	2,14	0,02	96,71	47,05
62	34	27,33	3,46	126,23	95,48	0,85	4,05	2,75	3,77	2,12	0,02	132,89	52,45
64	35	33,69	3,91	117,81	63,24	0,65	3,59	2,63	5,50	1,90	0,01	235,23	41,85
65	36	16,64	3,31	121,87	83,40	0,54	3,37	2,57	3,35	4,35	0,10	42,70	31,24
66	37	27,10	3,87	126,23	79,57	0,75	3,68	2,61	3,81	4,12	0,07	56,09	26,65
67	38	28,15	3,80	114,01	85,61	0,71	3,39	2,85	2,84	4,69	0,07	66,68	28,89
68	39	30,32	3,97	107,10	75,79	0,69	3,78	2,78	3,59	2,95	0,04	69,58	19,47
69	40	31,05	3,70	114,01	83,13	0,63	3,25	2,71	4,46	3,82	0,06	59,43	30,48
70	41	23,33	3,91	114,01	68,64	0,55	3,30	2,73	3,17	4,37	0,06	73,24	25,10
72	42	22,74	3,32	107,10	72,23	0,62	4,36	2,66	4,59	5,67	0,10	57,38	46,46

73	43	26,05	3,34	130,90	65,99	0,62	2,66	2,64	4,82	4,32	0,07	66,49	29,79
74	44	17,54	3,49	117,81	72,61	0,39	3,06	2,84	4,66	5,77	0,08	76,18	38,00
75	45	24,97	4,05	117,81	63,92	0,32	3,05	2,71	4,05	3,99	0,06	65,78	26,47
76	46	28,37	3,63	100,98	53,78	0,60	3,33	2,64	3,44	4,26	0,05	92,68	47,94
77	47	30,92	4,74	126,23	75,06	0,55	3,71	2,72	4,92	3,75	0,07	50,36	31,55
78	48	23,50	3,76	114,01	48,12	0,31	3,06	2,63	2,90	5,99	0,09	70,22	33,89
79	49	32,44	3,51	121,87	58,39	0,54	3,39	2,73	4,36	2,78	0,04	71,29	44,65
80	50	24,68	3,78	126,23	85,94	0,33	3,50	3,02	3,95	6,29	0,09	69,47	52,30
81	51	24,80	3,45	121,87	97,77	0,67	4,17	2,56	6,33	5,55	0,06	98,90	45,35
82	52	24,88	3,99	126,23	89,83	0,48	3,45	2,74	3,89	5,58	0,05	105,11	42,37
83	53	27,47	3,46	121,87	83,62	0,49	3,21	2,70	2,27	3,95	0,04	99,92	39,22
84	54	26,76	4,10	117,81	78,94	0,62	3,87	2,71	5,59	6,82	0,09	79,11	32,86
85	55	20,58	3,63	114,01	85,19	0,33	3,15	2,86	3,77	3,77	0,05	75,32	45,39
86	56	17,28	2,62	153,67	100,38	0,52	3,15	2,79	3,52	4,37	0,05	86,02	38,80
87	57	20,53	3,15	141,37	86,74	0,49	3,64	2,65	2,48	5,38	0,08	65,10	30,50
89	58	26,06	4,29	121,87	88,29	0,31	2,80	2,73	1,58	8,97	0,16	55,06	65,76

Área foliar unitária (AFU) (cm), comprimento entrenódio (CE) (cm), área foliar específica (AFE) ( $\text{cm}^2\text{g}^{-1}$ ), razão da área foliar (RAF) ( $\text{cm}^2\text{g}^{-1}$ ), nitrato ( $\text{NO}_3$ ) ( $\% \text{g}^{-1}$ ), nitrogênio total (N. total) ( $\% \text{g}^{-1}$ ), fenol total (FT) ( $\text{g Kg}^{-1}$ ), Prolina ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ), fotossíntese (A) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática (gs) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), taxa de transferência de elétrons (ETR) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), eficiência no uso da água intrínseca (A/g) ( $\mu\text{mol}$ ). N. campo (numeração das plantas em campo), N. análises (numeração das plantas para as análises).