

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA



Dissertação a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais.

SÃO CARLOS – SP

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

N935rp

Novaes, Paula.

Rustificação de plantas jovens de *Coffea arabica* L. /
Paula Novaes. -- São Carlos : UFSCar, 2007.
61 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2007.

1. Café - cultivo. 2. Fisiologia vegetal. 3. Rustificação. 4.
Estresse hídrico I. Título.

CDD: 633 (20^a)

Paula Novaes

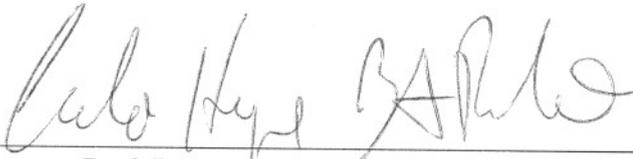
RUSTIFICAÇÃO DE PLANTAS JOVENS DE *Coffea arabica* L.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 06 de junho de 2007

BANCA EXAMINADORA

Presidente



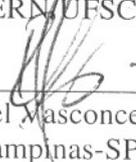
Prof. Dr. Carlos Henrique B. de Assis Prado
(Orientador)

1º Examinador



Prof. Dr. Marco Antonio P. L. Batalha
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



Prof. Dr. Rafael Masconcelos Ribeiro
IAC/Campinas-SP

Agradeço sinceramente à:

Meu orientador, professor Dr. Carlos Henrique Britto de Assis Prado, pela disponibilidade, ajuda, correções, persistência, exigência, amizade e orientação.

João Paulo de Souza pelo companheirismo, amizade e pela ajuda fundamental na dissertação, principalmente nas análises estatísticas, opiniões, leituras e empréstimo do micro.

Carlos Casali pela amizade, aprendizado e apoio em campo e em todas as minhas atividades no Laboratório de Fisiologia Vegetal.

Sr. Luís e Ademir, pelo plantio e cuidado precioso com as plantas até o final dos experimentos.

D. Inês, pelas conversas agradáveis e por toda paciência em arrumar e limpar toda a bagunça dos experimentos no laboratório, e por que não, no Departamento....

Eugênio Celso Emérito Araújo, pela troca de idéias e amizade oferecidas.

Ana Lúcia S. Albino, João Paulo de Souza, Luciana Estriga, Michelle Lara, Paolo Sartorelli e Rodrigo Nepomuceno, pela ajuda em campo.

Professores que compuseram a banca de qualificação, Prof. Dra. Sônia C. Juliano Gualtieri de Andrade Perez, Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima, Prof. Dr. Marco Antônio Batalha, pela disponibilidade e sugestões ao trabalho.

Minha mãe, Regina Célia Di Ciommo, pelo exemplo, carinho, opiniões, revisões e principalmente paciência nas últimas fases de redação deste trabalho.

Meu pai, Celso Carlos Novaes, pelo exemplo de vida, apoio e pelas oportunidades de escolha que me proporcionou.

Meu irmão Marcel, por ter me ensinado que inteligência e humildade, quando andam juntas, produzem grandes resultados, e ao meu irmão Ricardo pela sua sempre carinhosa amizade.

Meu namorado Rodrigo, pelo amor, carinho, atenção e paciência. Sem ele tudo teria sido muito mais difícil...

Amigos Marina, Lucia, Renatinha, Marcão, João Paulo, Sadao, Lu, Zé Pedro, DW, Thori, Bel, Gra Del Mônaco (especialmente pelo empréstimo do micro), Bruna, as Tatis, Nando, Bruno, Julia, Carlão, Maristela, Maíra, Beatriz, Elisa, Lígia, Nunes, Amanda, Marília e Gra. Além de Buffo, Lua, Foca, Shanti, Mei e Mel.

Cooperativa de Agricultores de Marília (Coopemar, Marília-SP-Brasil) e Cooperativa de Cafeicultores de Garça (Garcafé, Garça- SP-Brasil) pelo fornecimento do material vegetal.

Este trabalho teve apoio financeiro da FAPESP (Bolsa de Mestrado MSI e MSII).

SUMÁRIO

RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
TROCAS GASOSAS E POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDA A CICLOS DE SUSPENSÃO DE REGA	
Resumo e Abstract.....	5
Introdução.....	6
Material e Métodos.....	7
Resultados.....	10
Discussão.....	11
Referências Bibliográficas.....	14
Figuras e Tabela.....	17
DESENVOLVIMENTO INICIAL EM CAMPO DE <i>Coffea arabica</i> PREVIAMENTE SUBMETIDO A CICLOS DE SUSPENSÃO DE REGA	
Resumo e Abstract.....	23
Introdução.....	23
Material e Métodos.....	25
Resultados.....	27
Discussão.....	28
Referências Bibliográficas.....	29
Figuras.....	31
CONCLUSÕES FINAIS.....	34

ANEXOS

I. HARDENING *Coffea arabica* BY WATERING CYCLES

1. GAS EXCHANGE AND LEAF WATER POTENTIAL BEFORE GROWING UNDER FIELD CONDITIONS.....	36
---	----

II. HARDENING *Coffea arabica* BY WATERING CYCLES

2. INITIAL DEVELOPMENT IN FIELD OF <i>Coffea arabica</i> PREVIOUSLY HARDENED.....	52
---	----

III. PÁGINA INICIAL DA REVISTA BIOLOGIA PLANTARUM.....	61
--	----

IV. NORMAS DA REVISTA	62
-----------------------------	----

RESUMO

Plantas jovens de *Coffea arabica* enxertadas sobre *C. canephora* foram submetidas a 6 ciclos de suspensão de rega (CR) durante 35 dias. Cada CR foi acompanhado até que a fotossíntese líquida (P_N) fosse próxima de zero ou até que o potencial hídrico foliar (Ψ) fosse próximo de -2.0 MPa nos cultivares Acauã (AC), Mundo-Novo (MN) e Obatã (OB). Após 2 CR (cerca de 10 dias) os valores médios de condutância estomática (g_s) diminuíram de 0,15 para 0,01 mol m⁻² s⁻¹ em todos os cultivares, mudando o padrão de trocas gasosas nos subseqüentes CR. De 3 a 6 CR os cultivares apresentaram maiores oscilações da eficiência do uso da água e da concentração substomática de CO₂, além de valores negativos de P_N ao final dos CR. Após 3 CR ocorreu um aumento proporcionalmente maior em g_s do que em P_N após rega, com um aumento correspondente de C_i , indicando possíveis danos no aparato fotossintético. Este evento ocorreu de forma mais clara em OB, o qual demonstrou redução progressiva de P_N após 3 CR e os menores valores de Ψ (-2,0 MPa) ao final de 6 CR. A sobrevivência dos cultivares foi de 80% em 3 CR e 70% em 6 CR. As alterações dos padrões de trocas gasosas nos cultivares AC, MN e OB podem indicar que os exemplares foram potencialmente rustificados. Após o plantio de MN e OB rustificados e controle (sem prévia rustificação) em campo, com 180 dias de idade, foi observado no tratamento rustificado valores significativamente ($p < 0,05$) maiores do acúmulo de biomassa e do número de componentes estruturais da copa. A rustificação prévia proporcionou maior acúmulo de biomassa de folhas, de caule e de raízes que nas plantas controle em ambos os cultivares. O diâmetro do caule, a altura, o número de folhas e o número de ramos também foram significativamente maiores ($p < 0,05$) nos indivíduos previamente rustificados. As maiores diferenças da estrutura da copa e da biomassa acumulada entre plantas controle e rustificadas foram encontradas principalmente após o primeiro período de rejeição de disponibilidade hídrica (210 dias em condições de campo). O maior número de folhas e a maior área foliar em copas mais ramificadas podem proporcionar um aumento da assimilação de carbono por planta e maior produção de grãos nas plantas rustificadas. Em termos práticos, 3 CR antes do crescimento em campo são suficientes para mudar consistentemente o padrão de trocas gasosas foliares nos 3 cultivares estudados, mantendo o aparato fotossintético livre de danos e proporcionando maior

sobrevivência. A prática de rustificação prévia antes do plantio deve ser adotada nos cultivares estudados, pois o custo é reduzido e o desenvolvimento vegetativo inicial é fortemente favorecido após o transplante sob condições de campo.

Palavras chave: Área foliar, Arquitetura da copa, Biomassa, *Coffea arabica*, Condutância estomática, Desenvolvimento inicial, Fotossíntese líquida, Eficiência no uso da água, sobrevivência, Rustificação

ABSTRACT

Young plants of *Coffea arabica* grafted over *C. canephora* were submitted to six watering cycles (WC) during 35 days. Each WC was accomplished until net photosynthesis (P_N) close to zero or leaf water potential (Ψ) close to -2.0 MPa in Acauã (AC), Mundo-Novo (MN), and Obatã (OB) cultivars. After 2 WC (about 10 days) g_s dropped from 0.15 to 0.01 mol m⁻² s⁻¹ in all cultivars changing the pattern of leaf gas exchange in subsequent WC. From 3 to 6 WC the cultivars showed high oscillations of water use efficiency or substomatal CO₂ concentration (C_i) besides negative P_N at the end of WC. After 3 WC, g_s increased faster than P_N after watering and C_i increased indicating some damage in photosynthetic machinery. It happened strongly in OB, which showed progressive reduction of P_N after 3 WC and the lowest values of Ψ (-2.0 MPa) at the end of 6 WC. The survivorships for cultivars were 80% till 3 WC and 70% after 6 WC. The gas exchange pattern alteration could indicate the potential hardening of AC, MN and OB cultivars. After field plantation of hardened and control (without previous hardening) Mundo-Novo and Obatã cultivars, with 180-days-old, it was observed significant ($p < 0.05$) greater accumulation of leaf, stem and root biomass in hardened in control plants. Stem diameter, height and the number of leaf and branch were also higher ($p < 0.05$) in previous hardened individuals. Greater differences in crown structure and biomass between control and hardened plants were observed mainly after the first period of low water availability (210 days under field conditions). The higher leaf number and leaf area in more branched crowns could carbon assimilation and grain production. For practical proposes, 3 WC before growing under field conditions are sufficient for changing consistently the leaf gas

exchange pattern in 3 cultivars studied, keeping photosynthetic machinery free of damage and high survivorship. Previous hardening proportioned less interrupted vegetative development after transplantation under field conditions in both cultivars.

Additional key words: Biomass, *Coffea arabica*, Crown structure, Hardening, Growth, Initial development, Leaf area, Net photosynthesis, Stomata conductance, Survivorship, Water use efficiency.

INTRODUÇÃO GERAL

Entre as mercadorias naturais, o café apresenta valor superado apenas pela indústria petrolífera. Seu mercado internacional gera cerca de 90 bilhões de dólares a cada ano e emprega direta ou indiretamente cerca de 500 milhões de pessoas em todo o mundo (Da Matta e Ramalho 2006). O café é cultivado por cerca de 80 países em quatro continentes, sendo o Brasil o maior produtor mundial, seguido pela Colômbia e Vietnã. Muitos países africanos (como a Uganda, Etiópia e Ruanda) possuem o café como principal fonte de recursos. A grande maioria das plantações de café ao redor do mundo pertence a pequenas propriedades, nas quais a atividade é importante na manutenção do padrão econômico (Da Matta e Ramalho 2006). No Brasil a área ocupada pela exploração econômica do cafeeiro é superior a 2,4 milhões de hectares e nos últimos 15 anos a cultura tem se expandido para regiões anteriormente consideradas marginais, onde as condições ambientais (como temperatura e suprimento hídrico) nem sempre são as recomendadas para um desenvolvimento adequado (Marin *et al.* 2005).

Entre as mais de 90 espécies existentes no gênero *Coffea*, *C. arabica* L. (café arábica) e *C. canephora* Pierre (café robusta) são economicamente dominantes no mercado, sendo responsáveis por 99% da produção mundial. Atualmente, *C. arabica* responde por 62% do café consumido e *C. canephora* pelo restante (Da Matta e Ramalho 2006). O centro de origem de *C. arabica* é considerado frio, sombreado dentro de florestas densas de altitude da Etiópia. Neste local, as latitudes são de 6-9° N, altitudes de 1600-2000 m a.n.m., temperatura média do ar entre 15 e 20 °C, a precipitação anual entre 1600 – 2000 mm e há uma estação seca de 3 a 4 meses (Carr 2001). Muitas das características fisiológicas do café podem ser facilmente entendidas relembrando as condições nas quais *C. arabica* se desenvolveu, particularmente em relação às condições hídricas (Carr 2001). As situações climáticas que mais limitam a produção de grãos no cafeeiro são a baixa temperatura (geadas) e o estresse hídrico, afetando fortemente os preços internacionais (Da Matta e Ramalho 2006).

Em regiões sem irrigação, a produtividade dos plantios pode diminuir até 80% em anos mais secos. Os efeitos do déficit hídrico sobre *Coffea* são: redução do número de folhas, aumento da senescência foliar e abscisão foliar, redução do crescimento da planta e

menor produção de flores e frutos (Carr 2001). Os custos da instalação e utilização dos equipamentos de irrigação são altos, limitando sua utilização nas pequenas propriedades rurais. Além disso, fontes de água para a irrigação não estão sempre facilmente disponíveis.

Como as plantas jovens de *Coffea arabica* são cultivadas antes do plantio em campo em viveiros com rega permanente e em ambiente protegido, essas plantas não apresentam atributos de tolerância a valores mais negativos de potencial hídrico foliar sob estresse hídrico. Ademais, quando transferidas para o campo, estes indivíduos jovens podem ser submetidos à severa fotoinibição, principalmente em condições de déficit hídrico (Carelli *et al.* 2000). Mesmo em regiões onde a chuva é suficiente e bem distribuída ao longo do ano, pode ocorrer uma sobrevivência reduzida após o plantio no campo de mudas de café, acarretando em perdas significativas de plantas, recursos e horas de trabalho.

Para aumentar o desempenho das plantas após o transplante e estabelecimento em campo é possível agir durante a fase de produção das mudas em viveiros. No viveiro a rustificação deve ser realizada em tempo reduzido e demandar o mínimo custo. As plantas que deixam o viveiro rustificadas apresentam maior habilidade para trabalhar sob condições adversas, com maiores chances de sobrevivência (Bañon *et al.* 2006). Esta habilidade é dependente da capacidade de ajustes morfológicos e fisiológicos sob diferentes intensidades dos potenciais hídricos do solo e/ou da atmosfera. Entre as modificações morfológicas descritas para plantas rustificadas, estão as reduções no crescimento da parte aérea e maiores valores da razão parte aérea/subterrânea. Entre as modificações fisiológicas, destacam-se na folha as alterações na condutância estomática e no potencial osmótico (Bañon *et al.* 2003, 2006, Sanchez-Blanco *et al.* 2004, Franco *et al.* 2002). A manutenção da autotrofia sob valores reduzidos de potencial hídrico foliar foi atribuída principalmente aos ajustes osmóticos que previnem a desidratação severa e a abscisão foliar em *Prunus armeniaca* enxertado sobre *P. domestica* durante os ciclos de suspensão de rega (Ruiz-Sánchez *et al.* 2000).

Hipóteses:

Nós postulamos que a rustificação por ciclos de suspensão de rega é uma prática apropriada para plantas jovens de *Coffea arabica* a fim de se alterar o padrão de trocas

gasosas foliares frente ao estresse hídrico. A rustificação por ciclos de suspensão de rega deve condicionar maior tolerância a valores reduzidos de potencial hídrico foliar, postergar o fechamento estomático e manter balanços de carbono e hídrico mais favoráveis durante o crescimento em condições de campo. Se os balanços de carbono e hídrico das plantas rustificadas forem mais positivos frente às limitações ambientais sob condições de campo, provavelmente haverá um desenvolvimento maior e menos impedido, com maior ganho de biomassa e crescimento.

Objetivos:

O objetivo deste trabalho foi verificar se as trocas gasosas foliares, a sobrevivência e o desenvolvimento inicial de *C. arabica* enxertado sobre *C. canephora* sob condições de campo sofreram alterações significativas devido aos ciclos de suspensão de rega. Por meio destas observações pretende-se elaborar um protocolo de rustificação que possa ser utilizado facilmente, que seja rápido e de custo reduzido, diminuindo os prejuízos causados pelo período de estiagem e de veranicos (principalmente na implantação da cultura).

Bibliografia

- Bañon, S., Ocoa, J., Franco, J.A., Alarcón, J.J., Sánchez-Blanco, M.J.: Hardening in oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. - *Environ Exp Bot.* **56**: 36-43, 2006.
- Bañon, S., Ocoa, J., Franco, J.A., Alarcón, J.J., Sánchez-Blanco, M.J., Alarcón, J.J.: Influence of water deficit and low air humidity in the nursery on survival of *Rhannus alaternus* seedlings following planting. - *J. Hort. Sci. Biotechnol.* **78**: 518-522, 2003.
- Carelli, M.L.C., Fahl, J.I., Trivelin, P.C.O., Queiroz-voltan, R.B.: Carbon isotope discrimination and gas exchange in *Coffea* species grown under different irradiance regimes. - *Rev Bras de Fisiol Veg.* **11**: 63-68, 1999.
- Carr, M.K.V.: The water relations and irrigation requirements of coffee. - *Expl. Agric.* **37**: 1-36, 2001

Da Matta, F.M., Ramalho, J.D.C.: Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. - Braz. J. Plant Physiol. **18**: 55-81, 2006.

Franco, J.A. Cros, V. Bañón, S., González, A. Abrisqueta, J.M.: Effects of nursery irrigation on postplanting root dynamics of *Lotus creticus* in semiarid field conditions. –HortScience. **37**, 525-528, 2002.

Marin, F. R., Angelocci, L. R., Righi, E. Z., Sentelhas, P. C.: Evapotranspiration and irrigation requirements of a coffee plantation in southern Brazil. - Exp Agr. **41**:187-197, 2005.

Ruiz-Sánchez, M.C., Domingo, R., Torrecillas, A., Pérez-Pastor, A.: Water stress preconditioning to improve drought resistance in young apricot plants. - Plant Sci. **156**: 245-251, 2000.

Sánchez-Blanco, M., Ferrández, T., Navarro, A., Bañon, S. e Alarcón, J.J.: Effects of irrigation and air humidity preconditioning on water relations, growth and survival of *Rosmarinus officinalis* plant during and after transplanting. – J. Plant Physiol. **161**: 1133-1142, 2004.

TROCAS GASOSAS E POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR DE *Coffea arabica*
SUBMETIDA A CICLOS DE SUSPENSÃO DE REGA

Paula Novaes¹ e Carlos Henrique Britto Assis Prado^{1*}

Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Botânica, Laboratório de Fisiologia Vegetal. Via Washington Luis, km 235, 13565-905, São Carlos-SP, Brasil. *Autor para correspondência, fone +55 16 33518385, Fax +55 16 33518308, e-mail: prado_chba@yahoo.com.br

Resumo

Plantas jovens de *Coffea arabica* enxertadas sobre *C. canephora* foram submetidas a 6 ciclos de suspensão de rega (CR) durante 35 dias. Cada CR foi acompanhado até que a fotossíntese líquida (P_N) fosse próxima de zero ou até que o potencial hídrico foliar (Ψ) fosse próximo de -2.0 MPa nos cultivares Acauã (AC), Mundo-Novo (MN) e Obatã (OB). Após 2 CR (cerca de 10 dias) g_s diminuiu de 0,15 para 0,01 mol m⁻² s⁻¹ mudando o padrão de trocas gasosas nos subseqüentes CR em todos os cultivares. De 3 a 6 CR maiores oscilações da eficiência do uso da água ou da concentração substomática de CO₂ (C_i) ocorreram, além de valores negativos de P_N ao final de cada CR. Depois 3 CR, g_s e de C_i aumentaram mais do que P_N , indicando possíveis danos ao aparato fotossintético. Este evento ocorreu mais fortemente em OB, o qual demonstrou redução progressiva de P_N após 3 CR e os menores valores de Ψ (-2,0 MPa) ao final de 6 CR. A sobrevivência durante a 3 CR foi de 80% em 3 CR e 70% em 6 CR. Em termos práticos, 3 CR antes do crescimento em condições de campo são suficientes para rustificar potencialmente os cultivares de *Coffea arabica*, através de alteração permanente do padrão de trocas gasosas foliares nos 3 cultivares estudados, mantendo o aparato fotossintético livre de danos e proporcionando maior sobrevivência.

Palavras-chave: Fotossíntese líquida, Condutância estomática, Sobrevivência, Eficiência no uso da água.

Abreviações: AC – cultivar Acauã; C_i – concentração substomática de CO₂; E – transpiração; EIT – eficiência instantânea da transpiração; EUA – eficiência no uso da água; DPV – déficit de pressão de vapor; g_s – condutância estomática; IP_N – valor integrado de fotossíntese durante os ciclos de suspensão de rega; MN – cultivar Mundo-Novo; OB – cultivar Obatã; P_N – fotossíntese líquida; PPFD – densidade de fluxo de fótons; Ψ – potencial hídrico foliar; CR – ciclos de suspensão de rega.

Introdução

A rustificação por ciclos de suspensão de rega resulta em diminuição do potencial osmótico foliar, condutância estomática e do crescimento da parte aérea (Ackerson and Hebert 1981, Schulte *et al.* 1987). Estas respostas aumentam a tolerância a valores reduzidos de potencial hídrico foliar (Ψ) e aumentam a eficiência no uso da água (Villar Salvador *et al.* 1999, Sánchez-Blanco *et al.* 2004, Bãnon *et al.* 2006). A manutenção da autotrofia e a tolerância a valores reduzidos de Ψ são atribuídas principalmente a ajustes osmóticos, prevenindo desidratações severas e a abscisão foliar durante ciclos de suspensão de rega em *Prunus armeniaca* enxertado sobre *P. domestica* (Ruiz-Sánchez *et al.* 2000).

Plantas jovens de *Coffea arabica* são freqüentemente cultivadas em casa de vegetação sob rega permanente e ambiente protegido. Estes indivíduos geralmente não apresentam atributos para tolerar valores reduzidos de Ψ em estresse hídrico (Pinheiro *et al.* 2005). Quando transferidos para o campo são submetidos a forte fotoinibição principalmente sob estresse hídrico (Carelli *et al.* 1999). Estações secas são freqüentemente associadas a elevadas irradiâncias e temperatura do ar em áreas de plantio de *C. arabica* no Brasil (Da Matta *et al.* 1997). A dissipação de energia pelo alto calor latente de vaporização da água é fortemente reduzida devido ao fechamento do poro estomático de *Coffea* sob déficit hídrico (Gutiérrez e Meinzer 1994). Isso aumenta a temperatura das folhas, contribuindo ainda mais para a redução da taxa de assimilação líquida de carbono em *C. arabica* (Ronquim *et al.* 2006). A redução da condutância estomática, transpiração e fotossíntese líquida foram observadas sob estresse hídrico em *C. arabica*, *C. liberica* (Cai *et al.* 2005) e *C. canephora* (Da Matta *et al.* 2003, Pinheiro *et al.* 2004) em condições de campo, ou em *C. canephora* cultivado em casa de vegetação (Praxedes *et al.* 2006). No entanto, as conseqüências no comportamento das trocas gasosas de *Coffea* após ciclos de suspensão de rega ainda não foram estudadas.

Diferentes respostas das trocas gasosas e do Ψ ao déficit hídrico podem ocorrer em cultivares de *C. arabica*. Os cultivares Mundo-Novo e Acauã são considerados tolerantes ao estresse hídrico, contrastando com o sensível e produtivo Obatã (Fundação Procafé, 2006). Por outro lado, a enxertia de *Coffea arabica* sobre *C. canephora* confere maior capacidade de exploração dos recursos do solo e desta forma torna-se vantajosa para a

aquisição de água (Fahl *et al.* 1998, 2001). Postulamos que ciclos de suspensão de rega são práticas apropriadas para plantas jovens de *Coffea arabica* a fim de se obter maior tolerância a valores reduzidos de Ψ . Essa resposta deve melhorar os balanços de carbono e hídrico durante o crescimento em condições de campo, resultando em um desenvolvimento maior e menos interrompido. Viveiros cobertos são um ambiente adequado para testar os efeitos dos ciclos de suspensão de rega sobre as trocas gasosas foliares e Ψ antes do transplante das mudas para o campo. O objetivo deste estudo foi verificar se as trocas gasosas e o Ψ apresentaram alterações consistentes e permanentes durante os ciclos de suspensão de rega que as plantas jovens de *C. arabica* enxertadas sobre *C. canephora* foram submetidas. Pretendemos elaborar um protocolo de pré-condicionamento para os cultivares de *C. arabica* através do controle do estresse hídrico durante o desenvolvimento inicial sob as condições de casa de vegetação ou viveiros. Por outro lado, supomos que a rustificação por ciclos de suspensão de rega pode ser útil para minimizar a mortalidade ou aumentar o desenvolvimento inato de *C. arabica*.

Materiais e métodos

Cultivares e condições de crescimento

Trezentos indivíduos dos cultivares Acauã, Mundo-Novo e Obatã de *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) enxertado sobre *Coffea canephora* L. (Rubiaceae) foram utilizados neste estudo (total de 900 indivíduos). Cada planta cresceu em um tubete de 125 cm³ suportados por bandejas quadradas de plástico comumente usadas em viveiros ou casa de vegetação. As plântulas cresceram sobre substrato composto de fibra de coco e vermiculita (4:1, c/v). Foi utilizado 1,2 kg de fertilizante Basocote (GMBH e Co., Alemanha) com N (16 %), P (8 %), K (12 %), Zn (0.2 %) e B (0.2 %) para cada 200 dm³ de fibra de coco. Os cultivares foram aclimatados entre 13-23 de Junho de 2005 sob 75% de irradiação solar em casa de vegetação com temperatura média noturna e diurna 18±3,2 e 25.0±3,0 °C, respectivamente. De 23 de junho a 04 de julho de 2005 todos os indivíduos foram aclimatados sob irradiação solar plena no jardim experimental da Universidade Federal de São Carlos (21°58'59 S, 47°52'46 O; 843 m a.n.m.), cidade de São Carlos, estado de São Paulo, sudeste do Brasil. Os ciclos de suspensão de rega tiveram início sob radiação solar plena na metade da estação

seca em 04 de Julho de 2005, quando as plantas estavam com 4 (Mundo-Novo e Obatã) e 6 (Acauã) meses de idade. Essas idades são usuais para transplante em campo.

Trocas gasosas, eficiência no uso da água, déficit de pressão de vapor e valores integrados de P_N

As determinações das trocas gasosas foram realizadas utilizando-se um analisador de gases por infravermelho (“*Infra Red Gas Analyzer*”) (IRGA), modelo LCA-4 (ADC, Hoddeston, Inglaterra), sob fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) saturante ($1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Ronquim *et al* 2006). Um canhão de luz dicrónica (PLU-002, ADC, Inglaterra) foi montado sobre o topo da câmara foliar Parkinson (PLCB-4, ADC), fornecendo FFFA. Durante as medidas de trocas gasosas o LCA-4 funcionou como um sistema aberto, com uma torre coletando o ar de referência longe de fontes emissoras de CO_2 (Ronquim *et al.* 2006). A temperatura da folha ($23 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$) foi mantida pelo sistema Peltier (ADC) e medida por um termopar conectado a câmara PLCB-4. A umidade relativa do ar (UR) dentro da câmara PLCB-4 foi mantida pelo LCA-4 em 65 %, usando uma coluna de gás contendo $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ hidratado.

As plantas de cada cultivar (300 indivíduos) foi divididos em 3 grupos. No grupo 1, a fotossíntese líquida (P_N), condutância estomática (g_s), concentração substomática de CO_2 (C_i) e a transpiração foliar (E) foram medidas diariamente durante a manhã (7:00-9:00 h). O tempo de medida das trocas gasosas de cada cultivar foi de 30 minutos. A eficiência instantânea da transpiração (EIT) foi calculada pela razão de P_N/E e a eficiência no uso da água (EUA) pela razão P_N/g_s (Nogueira *et al.* 2004). Os valores médios (\pm EP) das trocas gasosas foram obtidos em quatro diferentes folhas expostas ao sol. Essas folhas eram completamente expandidas, totalmente verdes, livres de danos e cada uma estava conectada a um diferente indivíduo no mesmo grupo de plantas crescendo no centro das bandejas.

Os valores de déficit de pressão de vapor (VPD_{air} , kPa) durante as medidas de trocas gasosas foram calculados usando as equações I e II (Jones 1992):

$$DPV_{\text{air}} = 0,611375e^t \left[1 - (UR10^{-2}) \right] \quad (\text{I})$$

$$t = \frac{17,502T_{\text{air}}}{240,97 + T_{\text{air}}} \quad (\text{II})$$

e = base logarítmica natural; UR = umidade relativa do ar expressa em porcentagem (%); e
 T_{air} = temperatura do ar ($^{\circ}C$).

Os valores de P_N durante os trinta minutos diários de medida de cada cultivar nos ciclos de suspensão de rega (total de 35 dias) foram integrados usando a equação III (Ronquim *et al.* 2006), a qual deu origem ao valor correspondente ao total de P_N em 35 dias ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$):

$$IP_N = \int f(x) d(x) \quad (\text{III})$$

IP_N = valor integrado P_N (IP_N); x = intervalo de tempo em segundos durante 6 ciclos de suspensão de rega, 30 minutos em 35 dias (variável independente); $f(x)$ = variável dependente (P_N).

Ciclos de suspensão de rega, potencial hídrico foliar e efeito de borda nas bandejas

Um ciclo de suspensão de rega consistiu em rega até a capacidade de campo no primeiro dia e suspensão da rega nos dias seguintes até que os valores médios de P_N fossem próximos de zero (quando Ψ foi obtido) ou quando Ψ foi próximo de -2,0 MPa. Os ciclos de suspensão de rega (CR) foram repetidos até que os valores de Ψ não mais diminuíssem ao final de cada CR, resultando no total de 6 CR nos cultivares estudados. Uma referência alternativa (-2.0 MPa) foi escolhida porque valores de potencial osmótico foliar entre -2,0 e -3,0 MPa foram observados em *C. arabica* sob condições de campo (Da Matta *et al.* 2003). Além disso, valores de Ψ entre -2,0 e -3,0 MPa indicaram disponibilidade hídrica reduzida em *C. canephora* com 12 meses de idade em condições de campo (Pinheiro *et al.* 2004, Praxedes *et al.* 2006). Valores de Ψ entre -2,0 e -3,0 MPa também foram observados em plantas adultas de *C. arabica* em condição de estresse durante a depressão do meio dia em estação chuvosa em campo (Ronquim *et al.* 2006).

Os grupos 2 e 3 (300 indivíduos em cada grupo de cada cultivar) foram mantidos nos mesmos CR do grupo 1. Quando o valor médio de P_N no grupo 1 chegou a zero foram determinados os valores médios de Ψ nas plantas dos grupos 2 e 3, durante a manhã (9:00 h – 10:00 h). Cinco folhas expandidas em 5 diferentes plantas de cada cultivar foram usadas para a obtenção de valores médios de Ψ através de uma bomba de pressão (modelo 3005, Santa Barbara Soil Moisture, Santa Barbara, EUA). As plantas que cresciam na borda das bandejas de suporte não foram consideradas para as trocas gasosas ou para as

determinações de Ψ , evitando os efeitos exagerados do vento, da temperatura e do déficit de pressão de vapor nas folhas próximas à borda das bandejas.

Análise dos dados e sobrevivência

Constatada a anormalidade dos dados, as correlações entre $E-g_s$, g_s-Ci , $Ci-P_N$, P_N-g_s e P_N-E entre 1-3, 4-6 e 1-6 ciclos de suspensão de rega foram testadas pela correlação de Spearman, sendo consideradas significantes aquelas com nível de decisão (α) em $p < 0,05$. A sobrevivência durante os CR foi determinada como porcentagem de plantas vivas em relação a 300 plantas de cada cultivar no início do experimento.

Resultados

Após 2 CR (cerca de 10 dias) os valores médios de g_s reduziram consistentemente (de 0,15 para 0,01 mol m⁻² s⁻¹) em todos os cultivares (Figuras 1, 2 e 3). Os baixos valores de g_s foram mantidos mesmo após as regas subseqüentes. Os valores mínimos de E e de P_N diminuíram a cada CR. Os valores de E foram influenciados por g_s , uma vez que essas variáveis foram significativamente correlacionadas entre 1-6 CR em todos os cultivares estudados ($p < 0,01$; $r_s \geq 0,83$, Tabela 1). Os valores de DPV foram menores que 1,0 kPa durante os 6 CR.

Aumento de g_s ocorreu logo após a rega em cada CR. Por exemplo, o valor médio de g_s entre os cultivares aumentou de 0,006 para 0,019±12 mol m⁻² s⁻¹ após a segunda rega (cerca de 10 dias) e de 0 para 0,014 mol m⁻² s⁻¹ após a quarta rega (cerca de 20 dias). Nos primeiros 3 CR, a recuperação de P_N ocorreu simultaneamente com g_s após a rega. Por exemplo, o valor médio de P_N entre os cultivares aumentou de 0,25± 0,65 para 3,49±0,53 μmol m⁻² s⁻¹ após a segunda rega. Por outro lado, após 3 CR, o valor correspondente de P_N foi menor após a rega, por exemplo, de -0,09±0,86 para 1,18±0,72 μmol m⁻² s⁻¹ após a quarta rega. A menor recuperação de P_N após 3 CR foi simultânea ao aumento de Ci nos cultivares (e.g. de 204±53 para 648±504 ppm logo após a quarta rega). Além disso, P_N e g_s foram correlacionados apenas entre 1-3 CR quando os dados dos três cultivares foram unidos ($p < 0,01$, $r_s = 0,56$, Tabela 1).

Durante os 3 CR, os valores de Ψ decresceram lentamente em AC (Figura 1) e em MN (Figura 2). AC e MN apresentaram valores de Ψ maiores que -1.5 MPa durante os 6

CR. Em OB, os valores de Ψ foram cada vez mais negativos a cada CR, alcançando -2.0 MPa em 35 dias, 6 CR (Figura 3). Apenas em AC houve correlação significativa entre P_N -E ($p < 0,01$; $r_s = -0,49$, Tabela 1) de 1 a 6 CR. Em AC e MN houve correlação significativa entre P_N - g_s ($p < 0,01$; $r_s \geq 0,44$) e g_s -Ci ($p < 0,01$; $r_s \geq 0,42$, Tabela 1) entre 1-6 CR. Por outro lado, Ci foi correlacionado com P_N entre 1-6 CR em todos os cultivares ($p \leq 0,03$; $r_s \geq -0,38$, Table 1). AC apresentou valores positivos de P_N durante 6 CR e o maior valor integrado de fotossíntese (IP_N) entre os cultivares ($6,0 \text{ mol m}^{-2}$). Os valores de IP_N para cada cultivar são apresentados nas Figuras 1, 2 e 3 (painel no topo).

Apenas em AC os valores máximos e mínimos de EUA e EIT apresentaram tendência de aumento após 3 CR (Figura 1). Os valores de Ci foram mais estáveis em AC que nos outros cultivares (Figura 1). Em MN, os valores de P_N , EUA e EIT foram positivos entre 1-3 CR. Entre 4-6 CR (após 15 dias de experimento) P_N diminuiu em MN até próximo de zero ao final de cada CR, quando os valores médios de EUA, EIT e Ci apresentaram as maiores amplitudes de variação (Figura 2). A redução de P_N após 3 CR em MN diminuiu IP_N em $3,07 \text{ mol m}^{-2}$ (Figura 2). Valores negativos de P_N ocorreram desde o fim do primeiro CR em OB (Figure 3), quando houve forte oscilação de EUA, EIT e Ci após 2 CR (Figura 3). O valor de IP_N ($2,0 \text{ mol m}^{-2}$) em OB foi o menor entre os cultivares.

Após 3 CR, a sobrevivência foi reduzida em 5% a cada ciclo (Figura 4). Não houve grande diferença de sobrevivência entre os cultivares no decorrer do experimento. A maior mortalidade, cerca de 10 %, ocorreu entre 1-2 CR (durante os primeiros 5 dias de experimento). Em 3 CR a sobrevivência foi de 80%, e após 6 CR, de 70 % (35 dias). A maior mortalidade ocorreu nas plantas que cresciam na borda das bandejas de suporte.

Discussão

Foi observada alteração permanente do comportamento estomático durante os ciclos de suspensão de rega (CR). A principal alteração foi em g_s , o qual reduziu de 0.15 para $0.01 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ após 2 CR em todos os cultivares mesmo após as regas subsequentes. A transpiração também foi fortemente reduzida após 2 CR, uma vez que foi significativamente correlacionada com g_s . Browning e Fisher (1975) notaram que a abertura estomática diminuiu a metade quando plantas adultas de *Coffea arabica* foram submetidas

a 4 semanas de estresse hídrico em campo. Genótipos de *C. canephora* sensíveis (46 e 109A) ou tolerantes (14 e 120) ao déficit hídrico foram submetidos à suspensão da rega em casa de vegetação até que o valor de Ψ antes do amanhecer fosse igual a -3,0 MPa, quando g_s diminuiu de 0,09 para 0,03 mol m⁻² s⁻¹ no genótipo tolerante e de 0,10 para 0,05 mol m⁻² s⁻¹ no sensível (Pinheiro *et al.* 2005). No presente estudo, g_s diminuiu permanentemente, 15 vezes (de 0,15 para 0,01 mol m⁻² s⁻¹) já no segundo CR. Os valores de g_s foram mantidos em cerca de 0,01 mol m⁻² s⁻¹ mesmo após as regas subsequentes. Portanto, cerca após 2 CR (10 dias) foram suficientes para promover uma alteração consistente e permanente do padrão do comportamento estomático, o que indica rustificação potencial de AC, MN e OB.

O aumento temporário de g_s ocorreu logo após a rega em cada CR. O aumento de g_s permitiu a recuperação de P_N entre 1-3 CR. Entretanto, entre 4-6 CR, P_N não foi recuperado como g_s após a rega. O aumento momentâneo de g_s sem incremento correspondente de P_N promoveu acúmulo de CO₂ na câmara substomática indicando danos na maquinaria fotossintética após o terceiro CR. Além disso, aumento da disponibilidade de CO₂ em função de maiores valores de g_s e menor seqüestro de CO₂ na câmara sustomática resultaram em aumento e/ou maior amplitude de variação de C_i em todos os cultivares após o terceiro CR.

MN e AC apresentaram valores médios de Ψ maiores que -1.5 MPa durante os CR, enquanto Ψ em OB alcançou -2.0 MPa ao final do experimento. Isto pode estar ligado às distintas tolerâncias ao estresse hídrico de cada cultivar mesmo antes de terem sido submetidos a ciclos de suspensão de rega. AC e MN foram reconhecidos tolerantes à reduzida disponibilidade hídrica e OB sensível (Fundação Procafé 2006). Em AC, maiores valores de P_N durante os CR proporcionaram o maior IP_N entre os cultivares (6,0 mol m⁻²). A manutenção de valores positivos de P_N e a diminuição de E promoveram o aumento da EUA e da EIT mesmo após 3 CR em AC. A diminuição de g_s e de E , a manutenção de P_N e de C_i e o aumento de EUA e EIT entre 1-6 CR demonstraram que AC pode ser submetido a 6 CR (35 dias) com menor prejuízo no balanço de carbono e hídrico. Em MN, g_s próximo a 0,01 mol m⁻² s⁻¹, valores positivos de P_N , EUA e EIT até 15 dias de experimento indicaram que 3 CR reduziram a abertura estomática sem danos aparentes no aparato fotossintético. A correlação significativa ($0,57 > r_s > 0,42$) entre g_s - P_N e entre g_s - C_i em AC e em MN

indicaram que g_s influenciou significativamente a disponibilidade de CO_2 nos três cultivares durante os 6 CR.

Após 6 CR, os valores de Ψ foram próximos à -2.0 MPa em OB, indicando estresse hídrico severo (Da Matta *et al.* 2003, Pinheiro *et al.* 2004, Praxedes *et al.* 2006, Ronquim *et al.* 2006). A contínua redução de Ψ em OB pode ter imposto condições fisiológicas nas folhas para reduzir gradativamente P_N , EUA e EIT até valores negativos durante os 6 CR. A ausência de correlação significativa entre P_N - g_s e entre C_i - g_s em OB indica que reduções de P_N e o aumento de C_i não devem ser explicadas pelo comportamento estomático de OB entre 1-6 CR, mas por danos diretos na maquinaria fotossintética como mesmo no primeiro CR. Em OB, valores de P_N negativos mesmo no primeiro CR e recuperação mais lenta de P_N como em 3 CR resultaram no menor valor de IP_N (2,0 mol m⁻²). Deste modo, OB deveria ser submetido a 2 CR, quando já havia alteração permanente do padrão de g_s . Aumento de C_i logo após a rega entre 2-6 CR indicam diminuição na condutância de CO_2 no mesófilo em OB.

Os valores de IP_N podem representar uma capacidade de aclimação ao estresse hídrico. O gradiente de diminuição de IP_N (6,0, 3,1 e 2,0 mol m⁻²) entre os cultivares está ligado ao número de CR (6, 3 e 2 para AC, MN e OB, respectivamente) sem dano aparente ao aparato fotossintético. Como ocorreram mortes durante os ciclos de suspensão de rega, é necessário realizar o menor número de ciclos possível. Após 3 CR, a rustificação potencial foi demonstrada pela alteração permanente do padrão de comportamento estomático e a sobrevivência foi igual ou maior que 80% em todos os cultivares. Portanto, 3 CR (cerca de duas semanas) são recomendados como protocolo prático para a rustificação potencial dos três cultivares estudados. A maioria das mortes ocorreu na borda das bandejas de suporte. A porcentagem de sobrevivência e a localização das mortes nas bandejas de suporte podem ser usadas como referências visuais durante a rustificação potencial por CR. Maior porcentagem de sobrevivência durante os CR deve ocorrer quando as mudas crescerem em bancadas com centenas de bandejas lado a lado, situação comum em casas de vegetação, diminuindo relativamente o efeito de borda. A maioria das plantações de café em todo o mundo pertence a pequenos produtores em áreas onde a disponibilidade hídrica nem sempre é adequada e os custos de irrigação são elevados (Da Matta e Ramalho 2006). Rustificação por CR em *Coffea* é uma prática bastante eficiente para minimizar as perdas

de mudas após o transplante em condições de campo. A rustificação por CR é simples, rápida e de custo reduzido.

Resumindo, os ciclos de suspensão de rega (CR) modificaram consistentemente o comportamento estomático dos cultivares de *C. arabica*. O principal parâmetro alterado foi g_s , o qual modificou permanentemente o padrão de trocas gasosas foliares nos CR subsequentes em todos os cultivares e pode indicar rustificação potencial. Ao final de cada ciclo de suspensão de rega, a redução de g_s resultou em diminuição gradual de E e os maiores valores de EUA e EIT. Os CR de Acauã condicionaram aumento de EUA e EIT após 3 CR (20 dias). Em Mundo-Novo, a redução de P_N , a estabilidade de g_s , e a forte oscilação de C_i , EUA e EIT após 15 dias indicaram que 2 semanas é um período adequado os CR. Em Obatã, a redução de Ψ até próximo de -2,0 MPa e valores negativos de P_N , EUA e EIT especialmente após 2 CR demonstraram que a rustificação deve ser realizada com o mínimo de tempo possível. De maneira prática, cerca de 3 CR (2 semanas) antes de crescerem em campo são suficientes para alterar consistentemente e permanentemente o padrão de trocas gasosas foliares de plantas jovens de *C. arabica*, mantendo maiores taxas de sobrevivência (80%).

Referências

- Ackerson, R.C., Hebert R.R.: Osmoregulation in cotton in response to water stress. I. Alterations in photosynthesis, leaf conductance, translocation, and ultrastructure. - *Plant Physiol*, **67**: 484-488, 1981
- Bãnon, S., Ochoa, J., Franco, J.A., Alarcon, J. J., Sanchez-Blanco, M. J.: Hardening of oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. - *Environ Exp Bot*, **56**: 36-43, 2006
- Browning, G. e Fisher, M.N. Shoot growth in *Coffea arabica* L., II Growth flushing stimulated by irrigation. - *J Hort. Sci.* **50**: 207-218, 1975.
- Cai, Z.Q., Chen, Y.J., Guo, Y.H. e Cao, K.F.: Responses of two field-grown coffee species to drought and re-hydration. - *Photosynthetica*, **43**: 187-193, 2005.
- Carelli, M.L.C., Fahl, J.I., Trivelin, P.C.O., Queiroz-voltan R.B.: Carbon isotope discrimination and gas exchange in *Coffea* species grown under different irradiance regimes. - *Rev Bras Fisiol Veg*, **11**: 63-68, 1999.

- Da Matta, F. M., Maestri, M., Mosquin, P.R., Barros, R.S.: Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*) as affected by winter and summer conditions. - Plant Sci, **128**: 43-50, 1997.
- Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Pinheiro, H.A., Ducatti, C., Loureiro, M.E.: Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. - Plant Sci, **164**: 111-117, 2003.
- Da Matta, FM, Ramalho, JDC. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. Braz. J. Plant Physiol., **18**: 55-81, 2006.
- Fahl, J.I., Carelli, M.L.C., Gallo, P.B., Da Costa, W.M., Novo, M.C.S.S.: Enxertia de *Coffea arabica* sobre progênies de *C. canephora* e de *C. congensis* no crescimento, nutrição mineral e produção. - Bragantia, **57**: 297-12, 1998.
- Fahl, J.I., Carelli, M.L.C., Menezes, H.C., Gallo, P.B., Trevelin, P.C.O.: Gas exchange, growth, yield and beverage quality of *Coffea arabica* cultivars grafted on to *C. canephora* and *congensis*. - Expl Agric, **37**: 241-252, 2001.
- Fundação Pro Café. <http://www.fundacaoprocafe.com.br/html/variedades.html> acessado em 13 Dez 2006.
- Gutiérrez, M.V., Meinzer, F.C.: Carbon isotope discrimination and photosynthetic gas exchange in coffee hedgerows during canopy development. - Aust J Plant Physiol, **21**: 1305-1313, 1994.
- Jones, H. G. 1992. Plants and microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology. Second edition. Cambridge University Press, 85p.
- Nogueira, A., Huaman, C. A. M. Y., Ferreira, L. L., Prado, C. H. B. A.: Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing successional status in a Brazilian reforestation. - Photosynthetica, **42**: 351-356, 2004.
- Praxedes, S.C., Da Matta, F.M., Loureiro, M.E., Ferrão, M.A.G., Cordeiro, A.: Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. Konillou) leaves. - Environ Exp Bot, **56**: 263-273, 2006.
- Pinheiro, H.A., Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B., Loureiro, M.E. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. - Plant Sci. **167**: 1307-1314, 2004.

- Pinheiro, H.A., DaMatta, F.M., Chaves, A.R., Loureiro, M.E., Ducatti, C.: Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea arabica*. - Ann Bot, **96**: 101-108, 2005.
- Ronquim, J.C., Prado, C.H.B.A., Novaes, P., Fahl, J.I., Ronquim, C.C.: Carbon gain in *Coffea arabica* L. during clear and cloudy days in wet season - Expl Agric, **42**: 147-164, 2006.
- Ruiz-Sánchez, M.C., Domigo, R., Torrecillas, A., Pérez-Pastor, A.: Water stress preconditioning to improve drought resistance in young apricot plants. - Plant Sci, **156**: 245-251, 2000.
- Sánchez-Blanco, M., Ferrández T., Navarro, A., Bañón. S., Alarcón, J.J.: Effects of irrigation and air humidity preconditioning on water relations, growth and survival of *Rosmarinus officinalis* plant during and after transplanting. - J Plant Physiol, **161**: 1133-1142, 2004.
- Schulte, P.J., Hinckley, T.M., Steller, R.F.: Stomatal responses of *Papulus* to leaf water potential. - Plant Cell Environ, **10**: 313-318, 1987
- Villar Salvador, P., Ocaña, L., Peñuelas, J., Carrasco, I.: Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill., (Aleppo pine) seedlings. - Ann Sci, **56**: 459-465, 1999.

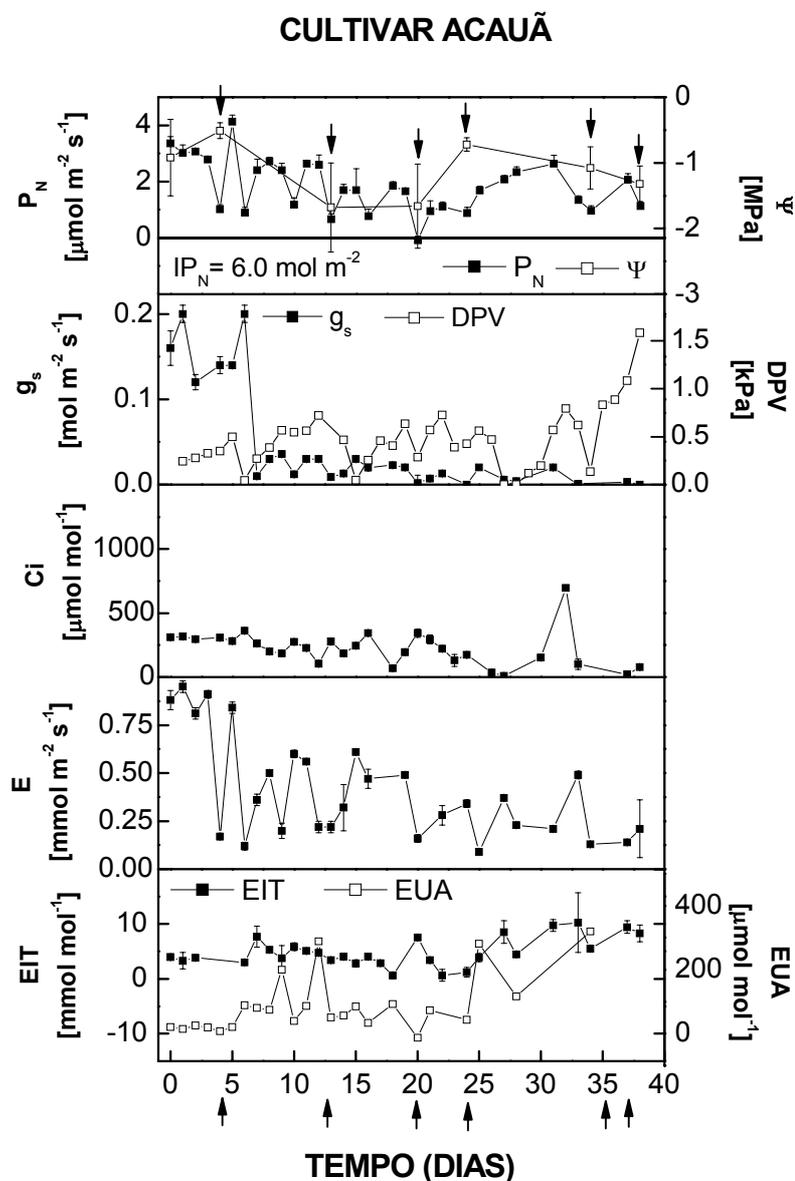


Figura 1. Valores médios (símbolos) e erro padrão da média (barras) da fotossíntese líquida (P_N), potencial hídrico foliar (Ψ), condutância estomática (g_s), concentração substomática de CO_2 (C_i), transpiração (E), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência no uso da água (EUA) durante 6 ciclos de suspensão de rega no cultivar Acauã de *Coffea arabica* enxertado sobre *Coffea canephora* com 6 meses de idade e crescendo em recipientes plásticos de 125 ml. IP_N = valor integrado de P_N durante 6 ciclos de suspensão de rega. As setas indicam os dias de rega.

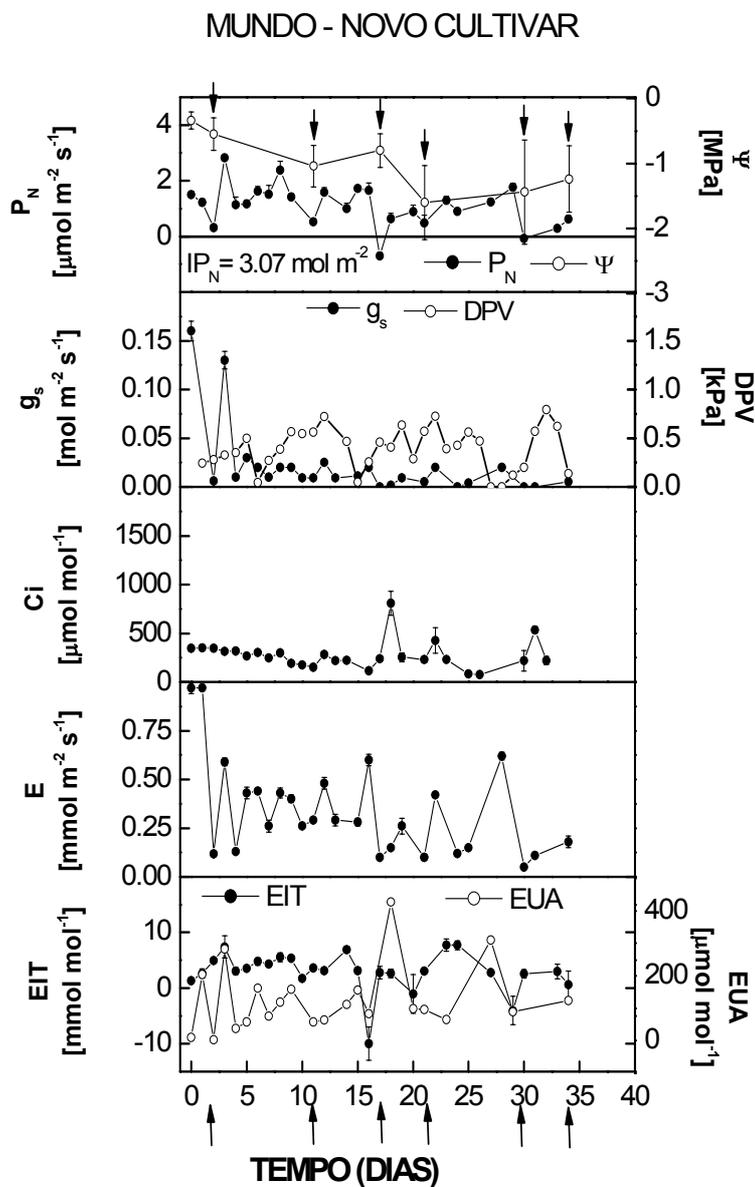


Figura 2. Valores médios (símbolos) e erro padrão da média (barras) da fotossíntese líquida (P_N), potencial hídrico foliar (Ψ), condutância estomática (g_s), concentração substomática de CO_2 (C_i), transpiração (E), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência no uso da água (EUA) durante 6 ciclos de suspensão de rega no cultivar Mundo-Novo de *Coffea arabica* enxertado sobre *Coffea canephora* com 4 meses de idade, crescendo em recipientes plásticos de 125 ml. IP_N = valor integrado de P_N durante 6 ciclos de suspensão de rega. As setas indicam os dias de rega.

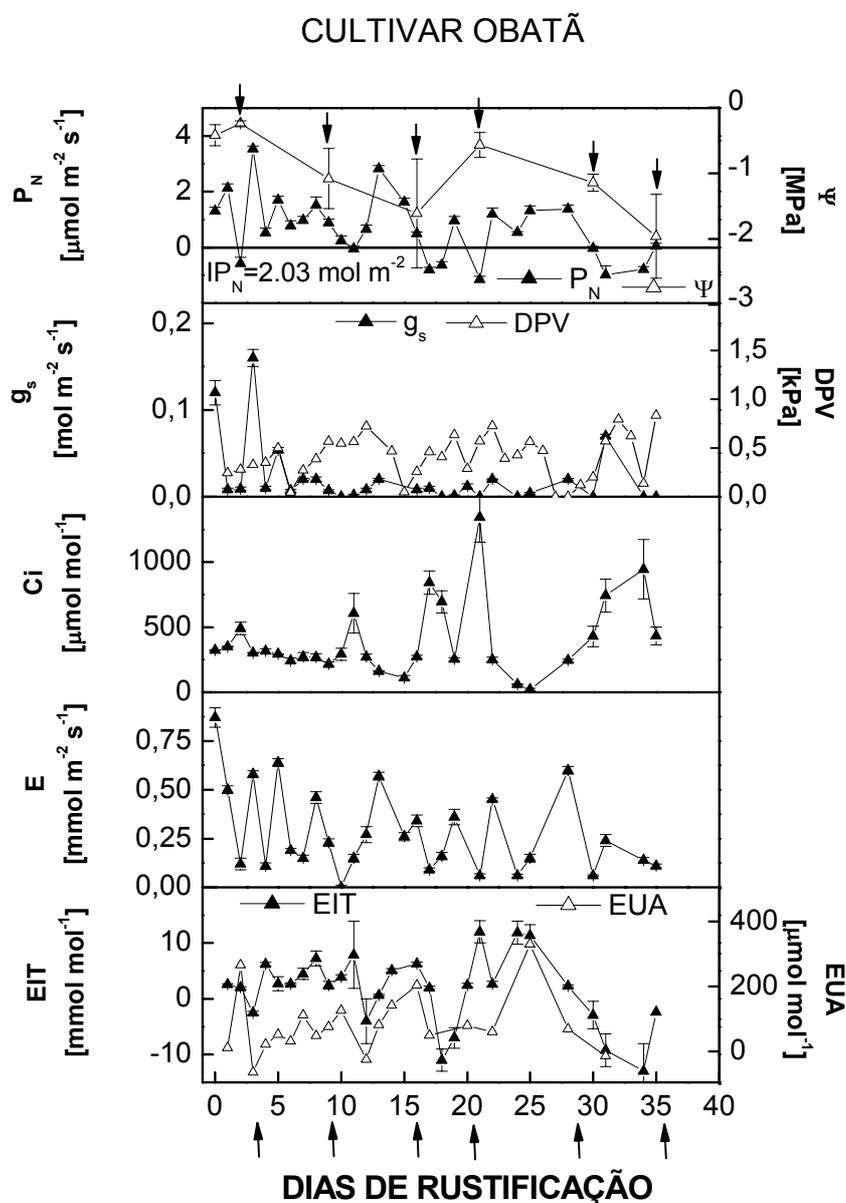


Figura 3. Valores médios (símbolos) e erro padrão da média (barras) da fotossíntese líquida (P_N), potencial hídrico foliar (Ψ), condutância estomática (g_s), concentração substomática de CO_2 (C_i), transpiração (E), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência no uso da água (EUA) durante 6 ciclos de suspensão de rega no cultivar Obatã de *Coffea arabica* enxertado sobre *Coffea canephora* com 4 meses de idade, crescendo em recipientes plásticos de 125 ml. $IP_N =$ valor integrado de P_N durante 6 ciclos de suspensão de rega. As setas indicam os dias de rega.

Tabela 1. Correlações de Spearman entre a concentração substomática de CO₂ (Ci), fotossíntese líquida (P_N), transpiração (E), and condutância estomática (g_s) nos cultivares Acauã, Mundo-Novo e Obatã e na união dos dados de todos os cultivares de *Coffea arabica* enxertado sobre *Coffea canephora* de 1-3, 4-6 e 1-6 ciclos de suspensão de rega. rs= Coeficiente de correlação de Spearman. p= Probabilidade associada com nível de decisão em $\alpha < 0.05$. Valores de rs em correlações não significativas foram omitidos e simbolizados por traços.

	Acauã		Mundo-Novo		Obatã		Todos	
	p	rs	p	rs	p	rs	p	rs
1-6 CR								
Ci x P _N	0.03	-0.39	0.02	-0.46	0.03	-0.38	<0.01	-0.29
E x g _s	<0.01	0.83	<0.01	0.90	<0.01	0.88	0.01	0.85
P _N x E	<0.01	-0.49	0.86	--	0.26	--	<0.01	0.59
P _N x g _s	0.01	0.44	<0.01	0.57	0.06	--	<0.01	0.52
g _s x Ci	<0.01	0.57	0.01	0.42	0.22	--	0.96	--
1-3 CR								
Ci x P _N	0.09	--	0.02	-0.55	0.22	--	0.40	--
E x g _s	<0.01	0.74	<0.01	0.87	<0.01	0.67	<0.01	0.77
P _N x E	<0.01	0.69	0.93	--	<0.01	0.76	<0.01	0.54
P _N x g _s	<0.01	0.67	0.49	--	0.01	0.58	<0.01	0.56
g _s x Ci	0.20	--	0.91	--	0.82	--	0.91	--
3-6 CR								
Ci x P _N	0.88	--	0.04	-0.64	<0.01	-0.90	<0.01	-0.65
E x g _s	<0.01	0.98	<0.01	0.81	<0.01	0.88	<0.01	0.89
P _N x E	0.53	--	<0.01	0.81	0.08	--	<0.01	0.50
P _N x g _s	0.39	--	0.04	0.63	0.19	--	0.06	--
g _s x Ci	0.76	--	0.89	--	0.24	--	0.43	--

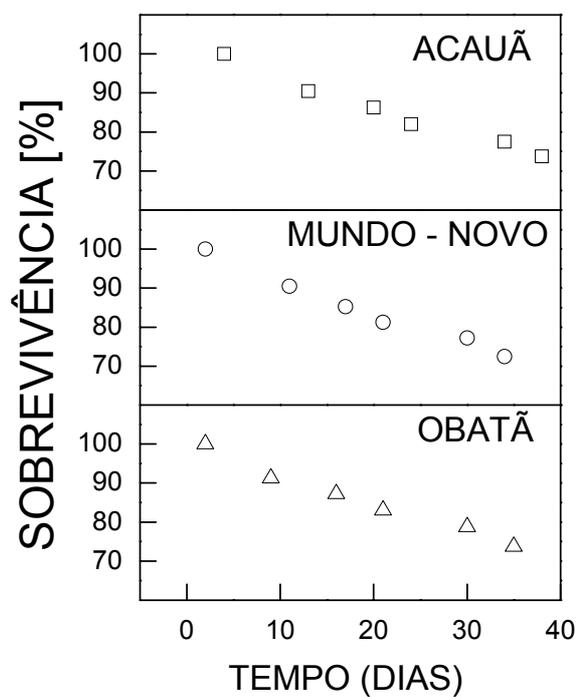


Figura 4. Sobrevivência de *Coffea arabica* enxertado sobre *Coffea canephora* (cultivares Acauã, Mundo-Novo e Obatã) após o início dos ciclos de suspensão de rega, com 120 dias de idade.

DESENVOLVIMENTO INICIAL EM CAMPO DE *Coffea arabica* PREVIAMENTE
SUBMETIDO A CICLOS DE SUSPENSÃO DE REGA

Paula Novaes¹ e Carlos Henrique Britto Assis Prado^{1*}

Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Botânica, Laboratório de Fisiologia Vegetal. Via Washington Luis, Km 235, 13565-905, São Carlos-SP, Brazil. *autor para correspondência, fone +55 16 33518385, Fax +55 16 33518308, e-mail: prado_chba@yahoo.com.br

Resumo

Foi verificado se a prévia rustificação potencial por ciclos de suspensão de rega resultou em diferenças significantes na estrutura da copa e na acumulação de biomassa durante o desenvolvimento inicial em campo de *Coffea arabica* enxertado sobre *C. canephora*. A rustificação condicionou acúmulo de biomassa de folha, caule e de raiz significativamente maiores ($p < 0,05$) em relação às plantas controle (não submetidas a ciclos de suspensão de rega) dos cultivares Mundo-Novo e Obatã. O diâmetro do caule, a altura, o número de folhas e o número de ramos também foram significativamente maiores nos indivíduos previamente rustificados. As maiores diferenças na estrutura da copa e no acúmulo de biomassa entre as plantas controle e rustificadas foram encontradas principalmente após o período de reduzida disponibilidade hídrica (210 dias em condições de campo). A maior área foliar e o maior número de folhas e de ramos nas copas dos indivíduos rustificados podem proporcionar maior assimilação de carbono e produção de grãos em campo. Portanto, a rustificação prévia proporcionou um maior e menos interrompido desenvolvimento vegetativo após o transplante em campo de ambos cultivares estudados.

Palavras chave: Área foliar, Biomassa, *Coffea arabica*, Crescimento, Desenvolvimento inicial, Estrutura da copa, Rustificação

Abreviações: BA/BS – biomassa aérea pela subterrânea; g_s – condutância estomática; Ψ – potencial hídrico foliar; DCC - Dias em condições de campo

Introdução

Coffea arabica é originário da Etiópia, onde cresce sombreado por árvores mais altas. Elevados valores de déficit de pressão de vapor e temperatura do ar limitam fortemente a assimilação de carbono em *C. arabica* (Ronquim *et al.* 2006). Além disso, o estresse hídrico também limita a fotossíntese líquida de *C. arabica* por meio da redução da área foliar na copa (Carr 2001). Temperatura do ar acima de 30 °C ou abaixo que 15 °C

provocam a diminuição do crescimento, a perda de clorofila nas folhas e a queda das flores (Franco 1958, Camargo 1985). Alta radiação solar promove elevadas temperaturas do ar e da folha nas áreas de cultivo do cafeeiro na América do sul. Condições desfavoráveis no solo e na atmosfera podem ser ainda mais prejudiciais sobre o balanço hídrico e de carbono em plantas no estágio inicial de desenvolvimento (Larcher 2003), quando há pouco volume de reservas.

Quando submetidas à reduzida disponibilidade hídrica, *Coffea arabica* e de *C. canephora* apresentam aumento do tamanho das raízes e redução da abertura estomática, da área foliar e do número de ramos (Carr 2001). Genótipos 14 e 120 de *C. canephora* tolerantes ao estresse hídrico apresentaram sistema radicular mais profundo e com maior biomassa após serem submetidos ao estresse hídrico até potencial hídrico foliar de -3,0 MPa (Pinheiro *et al.* 2004, 2005). Da Matta *et al.* (2003) observaram maior área foliar, valores de potencial hídrico foliar e produtividade, mas menores valores de condutância estomática no genótipo 120 de *Coffea canephora* tolerante ao estresse hídrico em relação ao genótipo sensível (46). O cultivar Mundo-Novo de *C. arabica* é considerado tolerante ao estresse hídrico e Obatã, bom produtor, mas intolerante ao estresse hídrico (Fundação Procafé 2006). A enxertia dos cultivares Mundo-Novo e Obatã de *C. arabica* sobre *C. canephora* é uma prática que minimiza os impactos do estresse hídrico sobre o desenvolvimento de *C. arabica*, aumentando a capacidade de exploração do solo em condições de campo (Fahl *et al.* 1998, 2001).

As reações estomáticas ao potencial hídrico foliar (Ψ) podem ser alteradas definitivamente quando plantas jovens são submetidas a ciclos de estresse hídrico (Brown *et al.* 1976, Jones e Turner 1978, Ackerson, 1980). Ciclos repetidos de estresse hídrico modificam a relação turgescência- Ψ (Brown *et al.* 1976) e a concentração de ABA nas folhas (Ackerson 1980). Se cafeeiros rustificados apresentam um padrão de trocas gasosas significativamente e permanentemente alterado, a rustificação poderia alterar também o padrão de crescimento. Nossa hipótese é que a rustificação sob ciclos de suspensão de rega deve conferir balanços hídrico e de carbono mais positivos. Portanto, o condicionamento pode promover o crescimento e o acúmulo de biomassa desde o desenvolvimento inicial sob condições adversas. O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência da prévia rustificação por ciclos de suspensão de rega sobre o desenvolvimento de *Coffea arabica*

(cultivares Mundo-Novo e Obatã) enxertado sobre *C. canephora* em condições de campo. Para tanto foram acompanhados o acúmulo de biomassa e a estrutura da copa em indivíduos previamente rustificados e em indivíduos controle (não submetidos a ciclos de suspensão de rega) durante estações úmida e seca ao longo do ano.

Materiais e métodos

Material vegetal, rustificação prévia, e condições de crescimento em campo

Os cultivares Mundo-Novo e Obatã de *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) enxertados sobre *Coffea canephora* L. (Rubiaceae) apresentavam 180 dias de idade quando foram plantados em condições de campo. O cultivar Acauã foi utilizado no primeiro manuscrito desta série, mas não neste segundo, devido à contaminação por fungos nas raízes de todos os indivíduos logo após o transplante para o campo. Os cafeeiros apresentavam 120 dias de idade e cresciam em tubetes de 125 cm³ quando foram previamente rustificados potencialmente sob ciclos de suspensão de rega (Novaes e Prado, primeiro manuscrito desta série).

Cinquenta exemplares rustificados e 50 exemplares controle (não submetidos aos ciclos de suspensão de rega) de cada cultivar foram transplantados para condições de campo com espaçamento de 20 x 20 cm. O total de 200 indivíduos cresceu distribuído em quatro canteiros. Cada canteiro (1,5 x 1,5 m) recebeu um tratamento por cultivar, totalizando 50 exemplares por canteiro. Os canteiros estavam distribuídos lado a lado no jardim experimental do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos (21°58'59 S, 47°52'46 O; 843 m a.s.l.), cidade de São Carlos, Estado de São Paulo, sudeste do Brasil. O substrato para o plantio foi preparado com um mês de antecedência com latossolo estercoado na proporção de 4:1 (solo:esterco de origem animal, v/v). A calagem prévia foi realizada com calcáreo dolomítico na proporção de 0,5 kg por kg de solo aumento do pH ao redor de 6,0. A aplicação de calcáreo foi realizada em 150, 240 e 420 dias em condições de campo (DCC). A adubação química (N 4%, P 14%, K8%) foi realizada aos 165, 255 e 435 DCC. Regas diárias foram realizadas durante o primeiro mês (agosto de 2005) após o transplante para campo.

Os cultivares cresceram sob clima subtropical com inverno seco e verão quente e úmido (tipo Cwa segundo a classificação de Köppen). O período seco ocorre nos meses de maio a setembro e o período chuvoso entre setembro e fevereiro (Monteiro e Prado 2006, Damascos *et al.* 2005). O histórico de temperatura anual média é de 21° C e a precipitação anual média é de 1520 mm (Tolentino, 1967). As informações meteorológicas decenais (precipitação, temperaturas máxima, média e mínima) foram obtidas na estação 83726 do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizada na área norte da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), distante 1 km do jardim experimental onde ambos os cultivares cresceram.

O cálculo do balanço hídrico entre o solo e a planta foi realizado através de planilhas de ambiente EXCEL TM (Rolim *et al.* 1998), a qual funcionou utilizando os valores de temperatura do ar (°C) e precipitação (mm) decenais, a latitude da área de estudo e a capacidade de água disponível para *Coffea arabica* segundo Pereira *et al.* (2002). Alta disponibilidade hídrica ocorreu entre 0-210 dias em condições de campo (DCC) e entre 420-540 DCC. O período de estiagem ocorreu entre 210-420 DCC (Figura 1).

Características da copa, da folha e determinação da biomassa nos compartimentos da planta

Determinações da estrutura da copa foram realizadas em cinco plantas rustificadas e 5 plantas controle de cada cultivar em cada período de medição ao longo do ano. O número de folhas, ramos, altura e diâmetro da base do caule próxima ao solo foram realizados em intervalos de 30 dias sob alta (120 e 540 dias em condições de campo, DCC) e reduzida (270 e 420 DCC) disponibilidade hídrica. Ramos foram contados como aqueles originados sobre o caule ou sobre um ramo formado anteriormente. Para as medidas de diâmetro da base do caule, foi utilizado um paquímetro. Para as medidas de altura das plantas (do solo até a inserção da gema apical), foi utilizada uma régua de 1,0 m. As determinações da área foliar foram realizadas sob alta (150 e 540 DCC) e reduzida (300 DCC) disponibilidade hídrica. Todas as folhas de 5 plantas de cada cultivar foram destacadas e escaneadas para a determinação da área foliar total por planta nos tratamentos rustificado e controle. A área foliar total foi estimada pelo programa Image-Pro (Media Cybernetics version 4.0, EUA).

A razão de área foliar foi calculada pela divisão da biomassa total (g) por área foliar total (m²).

A biomassa seca foi determinada (média \pm EP) por meio de 10 plantas controle e 10 rustificadas de cada cultivar em cada período durante o ano. A determinação da biomassa ocorreu aos 150, 210, 300, 420 e 540 DCC. As plantas foram divididas em folhas, caule e raízes. Cada compartimento foi seco separadamente em estufa sob 60 °C até massa constante. A soma dos valores de biomassa de folhas e caule representou a biomassa aérea. A soma dos valores de biomassa de folhas, caule e raízes representou a biomassa total. Foi calculada a razão da biomassa aérea pela subterrânea (raízes) em cada planta.

Análise estatística e sobrevivência

Devido à anormalidade dos dados, os valores médios de biomassa e estrutura da copa foram testados por análise de variâncias não-paramétricas (Mann-Whitney), considerando diferenças significantes aquelas com nível de decisão (α) quando $p < 0,05$. Os valores da razão de área foliar foram normais e, portanto, foram analisados por Anova com $p < 0,05$. A sobrevivência em cada tratamento dos cultivares foi determinada como a porcentagem de plantas vivas ao final do experimento (540 DCC) em relação às 50 plantadas no início do experimento em cada canteiro.

Resultados

Não houve diferenças na altura ou número de folhas entre os tratamentos em ambos cultivares em até 200 DCC (Figura 2). Maiores valores ($p < 0,05$) de altura e número de folhas ocorreu nas plantas rustificadas de Mundo-Novo e Obatã entre 210-540 DCC. O número de ramos foi significativamente maior nas plantas rustificadas de ambos os tratamentos entre 270-540 DCC (Figura 2).

Maiores valores ($p < 0,05$) de biomassa total e de caule ocorreram em 150 e 300 DCC nas plantas rustificadas de Mundo-Novo e Obatã, respectivamente (Figura 3). O tratamento rustificado de ambos os cultivares apresentou significativamente maiores biomassa de folhas, biomassa aérea e subterrânea após 200 DCC (Figura 3). O diâmetro da base do caule foi significativamente maior nas plantas rustificadas após 360 DCC (Figura 3). A área

foliar foi maior nas plantas rustificadas em ambos cultivares ao final do experimento (540 DCC). Somente no cultivar Obatã houve maiores valores significativos da razão BA/BS ao longo do ano em relação ao tratamento controle. A razão de área foliar foi significativamente maior no tratamento rustificado de Obatã em 300 DCC e no tratamento controle de Mundo-Novo em 540 DCC. As taxas de sobrevivência foram de 94% em ambos os tratamentos do cultivar Mundo-Novo, e de 88 e 78%, respectivamente, em Obatã controle e rustificado após 540 DCC.

Resumindo, diferenças menores na estrutura da copa e no acúmulo de biomassa nos compartimentos da planta ocorreram entre os tratamentos de ambos os cultivares sob período alta disponibilidade hídrica (entre 0-210 DCC). Após 270 DCC as plantas foram naturalmente submetidas ao estresse hídrico devido à estiagem de inverno. Assim, diferenças na estrutura de copa e no acúmulo de biomassa foram mais evidentes em estresse hídrico (entre 210-420 DCC). As diferenças entre os tratamentos foram maiores no segundo período de elevada disponibilidade hídrica, quando os valores médios foram sempre maiores nas plantas rustificadas de ambos os cultivares em até 540 DCC.

Discussão

Como observado por Novaes e Prado no primeiro manuscrito desta série, a rustificação condicionou uma alteração permanente do padrão de trocas gasosas foliares dos cultivares de *Coffea arabica* após 3 ciclos de suspensão de rega (15 dias). Em plantas pré-condicionadas, a diminuição da condutância estomática (g_s) provavelmente ocorreu permitindo maior eficiência do uso da água em campo mas sem diminuição substancial da fotossíntese líquida. Este comportamento estomático aconteceu entre os 1-3 ciclos de suspensão de rega em ambos cultivares (primeiro manuscrito). A manutenção de valores reduzidos de g_s , evitando a perda de água por transpiração é particularmente importante em plantas com maior área foliar como as previamente rustificadas (Figura 3). A partir de um comportamento diferenciado de trocas gasosas foliares, as plantas rustificadas foram capazes de aumentar os componentes positivos do balanço hídrico e de carbono, acumulando maior biomassa e área foliar. Isso ocorreu principalmente durante e após o período seco de inverno, até 540 DFC.

Balanços de carbono e hídrico mais positivos foram acompanhados por um aumento proporcional dos compartimentos da planta (folhas, caule e raízes) no tratamento rustificado. Isso assegurou as menores diferenças da razão BA/BS e da razão de área foliar entre os tratamentos em até 540 DCC, mantendo um crescimento equilibrado entre as partes autotróficas e heterotróficas. Por outro lado, o aumento da demanda transpiracional foi acompanhado por aumento da biomassa e do diâmetro do caule que proporcionaram aumento da capacidade de condução para atender a demanda de água na copa. Além disso, maior biomassa e diâmetro de caule devem ter ocorrido para suportar o aumento do fluxo de fotossintatos para o sistema radicular mais desenvolvido nas plantas rustificadas. Uma maior área foliar permite em curto prazo maior assimilação de carbono em plantas rustificadas. Aumento das taxas de assimilação de carbono em copas mais ramificadas estabelece as condições necessárias para aumentar a produção de grãos em plantas de *Coffea arabica*.

Maiores valores de biomassa e estrutura da copa comprovaram a rustificação das plantas. A prática de rustificação por ciclos de suspensão de rega antes do plantio foi eficiente em melhorar o desenvolvimento inicial das plantas frente às limitações climáticas ao longo do ano. Maior área foliar em copas mais ramificadas nas plantas rustificadas podem ainda proporcionar maior produção de grãos. A prática de rustificação deve ser adotada nos cultivares de *Coffea*, pois este processo é simples e rápido (primeiro manuscrito desta série) e o desenvolvimento vegetativo inicial sob condições de campo é fortemente favorecido.

Referências bibliográficas:

- Ackerson, R.C.: Stomatal response of cotton to water stress and abscisic acid as affected by water stress history. - *Plant Physiol.* **65**: 455-459, 1980.
- Brown, K.W., Jordan, W.R., Thomas, J.C.: Water stress induced alterations of stomatal response to decreases in leaf water potential. - *Physiol Plant.* **37**: 1-5, 1976
- Camargo, AP.: Cima e a cafeicultura no Brasil. - *Inf. Agropec.* 11: 13-26, 1985.
- Carr, M.K.V.: The water relations and irrigation requirements of Coffee. - *Expl. Agric.* **37**: 1-36, 2001.

- Damascos, M.A., Prado, C., Ronquim, C.C.: Bud composition, branching patterns and leaf phenology in Cerrado woody species – *Ann Bot.* **96**: 1075-1084, 2005.
- Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Pinheiro, H.A., Ducatti, C., Loureiro, M.E.: Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. - *Plant Sci.* **164**: 111-117, 2003.
- Franco, V.M.: Influence of temperature on growth of coffee plants. Bulletin n °16. IBEC Research Institute, New York 1958.
- Fundação Pro Café.: <http://www.fundacaoprocafe.com.br/html/variedades.html> accessed in 13 Dez 2006.
- Jones, M.M., Turner, N.C.: Osmotic adjustments in leaves of sorghum in response to water deficits. - *Plant Physiol.* **61**: 122-126, 1978.
- Larcher, W.: *Physiological Plant Ecology*. - Springer-Verlag, New York 2003.
- Monteiro, J.A.F., Prado, C.H.B.A.: Apparent carboxylation efficiency and relative stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in an evergreen cerrado species during water stress. – *Photosynthetica.* **44**: 39-45, 2006.
- Pereira, A. R., Angelocci L. R., Sentelhas, P. C.: *Agrometeorologia: fundamentos e aplicações práticas*. - Guaíba: Agropecuária 2002.
- Pinheiro, H.A., Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B., Loureiro, M.E.: Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. - *Plant Sci.* **167**: 1307-1314, 2004.
- Pinheiro, H.A., DaMatta, F.M., Chaves, A.R., Loureiro, M.E., Ducatti, C.: Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea arabica*. - *Annals Bot.* **96**: 101-108, 2005.
- Rolim, G.S., Sentelhas, P.C., Barbieri, V.: Planilhas no ambiente EXCEL TM para cálculos de balanços hídricos: normal, seqüencial, de cultura e de produtividade real e potencial. - *Revista Brasileira de Agrometeorologia.* **6**: 133-137, 1998.
- Ronquim, J.C., Prado, C.H.B.A., Novaes, P., Fahl, J.I., Ronquim, C.C.: Carbon gain in *Coffea arabica* L. during clear and cloudy days in wet season. - *Expl Agric.* **42**: 147-164, 2006.

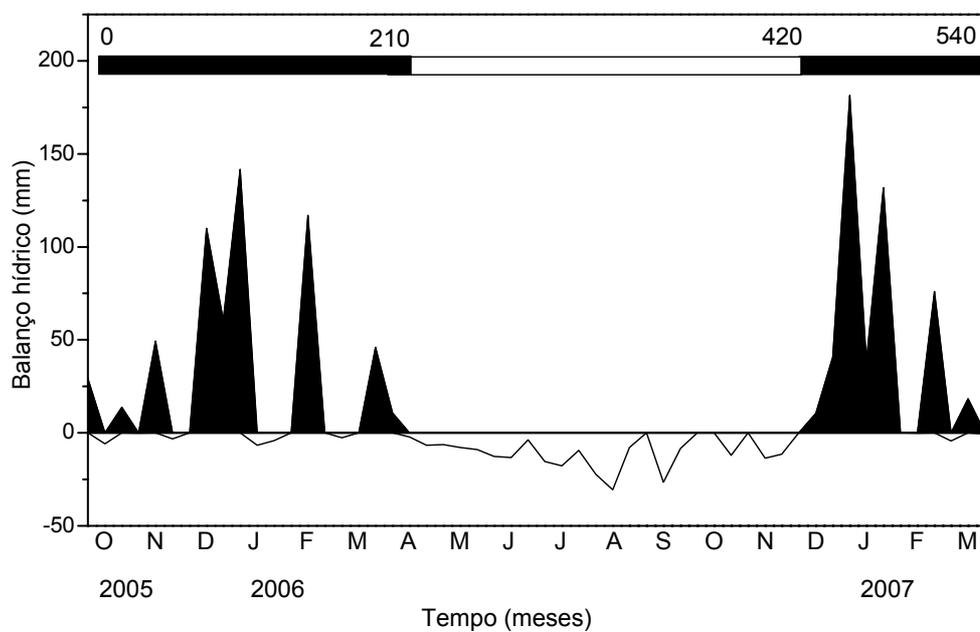


Figura 1. Balanço hídrico durante o desenvolvimento inicial de *Coffea arabica* em condições de campo. As áreas negras e brancas no gráfico representam o balanço hídrico positivo (excedente hídrico) e negativo (déficit hídrico), respectivamente. A barra horizontal acima da figura representa os períodos de alta (negra) e reduzida (branca) disponibilidade hídrica ao longo dos anos. Os números acima da barra representam os dias de crescimento em condições de campo.

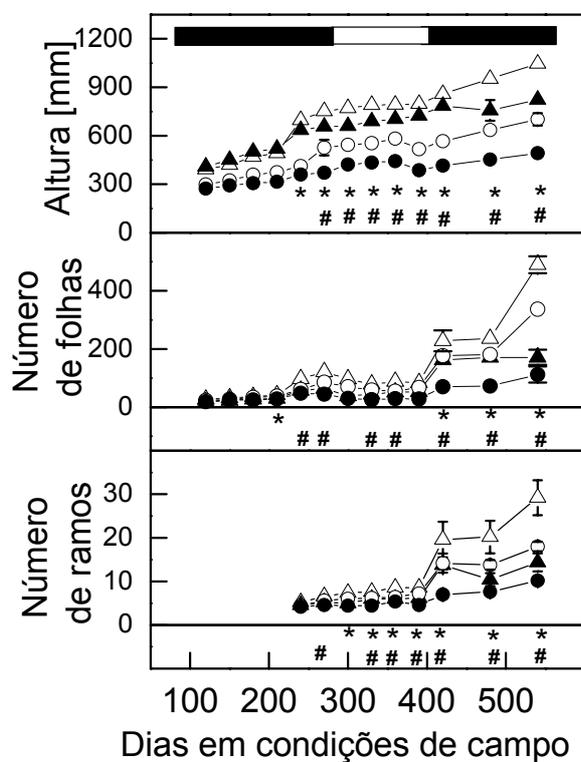


Figura 2. Valores médios (símbolos, $n = 5$) e erro padrão da média (barras conectadas aos símbolos) da altura, do número de folhas e ramos e dos cultivares Mundo-Novo (triângulos) e Obatã (círculos) de *Coffea arabica* L. enxertado sobre *Coffea canephora*. Símbolos vazios (Δ , \circ) e sólidos (\blacktriangle , \bullet) indicam, respectivamente, os valores médios de plantas rustificadas e controle. Os símbolos abaixo dos painéis indicam quando diferenças significativas ($p < 0,05$) ocorreram entre os valores médios das plantas **rustificadas** e controle de Mundo-Novo (#) e Obatã (*). As barras horizontais acima da figura representam os períodos de alta (negra) e reduzida (branca) disponibilidade hídrica.

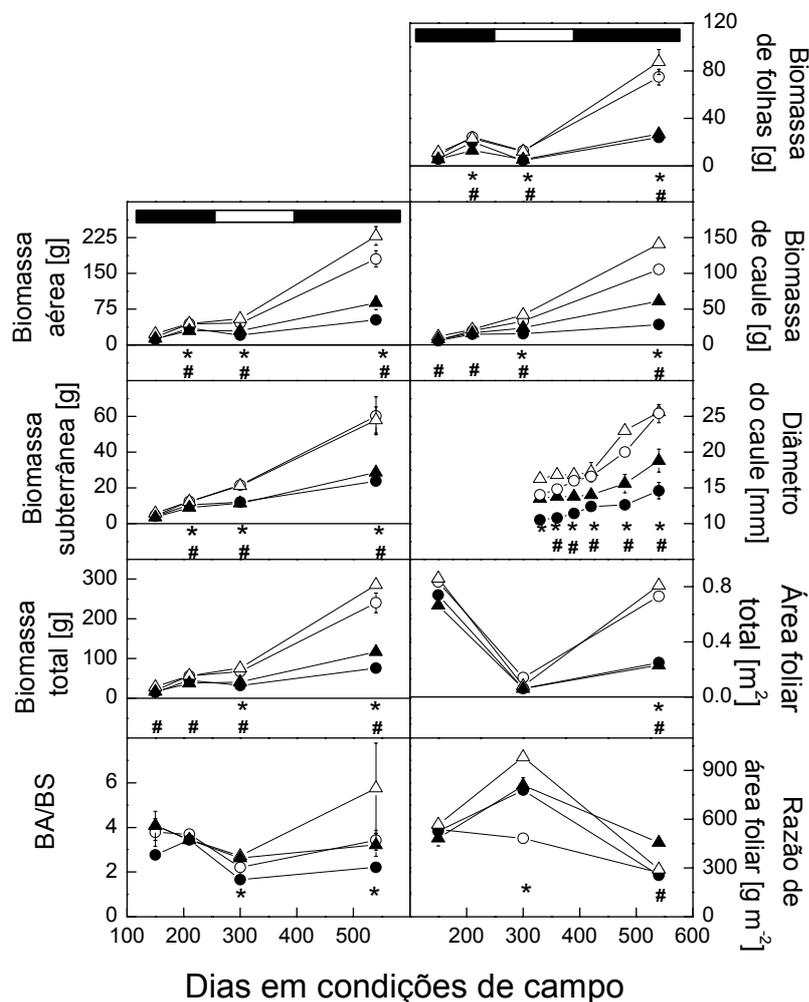


Figura 3. Biomassa e características da copa e das folhas em plantas *Coffea arabica* enxertada sobre *Coffea canephora*, cultivares Mundo-Novo (triângulos) e Obatã (círculos) crescendo em condições de campo. Símbolos vazios (Δ , \circ) e sólidos (\blacktriangle , \bullet) indicam, respectivamente, os valores médios ($n=10$) de plantas rustificadas e controle. Os símbolos abaixo dos painéis indicam quando diferenças significativas ($p<0,05$) ocorreram entre os valores médios das plantas rustificadas e controle de Mundo-Novo (#) e Obatã (*). As barras horizontais acima da figura representam os períodos de alta (negra) e reduzida (branca) disponibilidade hídrica. BA/BS = razão de biomassa aérea (BA) por subterrânea (BS).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os ciclos de suspensão de rega (CR) modificaram consistentemente o comportamento das trocas gasosas dos cultivares de *C. arabica*.
- O principal parâmetro alterado foi a condutância estomática (g_s), o qual modificou permanentemente o padrão de trocas gasosas foliares nos CR subseqüentes em todos os cultivares.
- Ao final de cada ciclo de suspensão de rega, a redução de g_s condicionou a diminuição da transpiração e os maiores valores da eficiência no uso da água (EUA) e eficiência instantânea da transpiração (EIT).
- Os ciclos de rega em Acauã condicionaram aumento de EUA e EIT após 20 dias (3 CR).
- Em Mundo-Novo, a redução da fotossíntese líquida (P_N), a estabilidade de g_s , EUA e EIT e a forte oscilação da concentração interna de CO_2 (C_i) após 16 dias indicaram que 2 semanas são adequadas para a potencial rustificação.
- Em Obatã, a redução do potencial hídrico foliar (Ψ) até próximos a -2,0 MPa e valores negativos de P_N , EUA e EIT mesmo nos primeiros ciclo de suspensão de rega demonstrou que a potencial rustificação deve ser realizada com o mínimo de tempo possível.
- De maneira prática, cerca de 2 semanas de rustificação (3 CR) são suficientes para alterar consistentemente o padrão de trocas gasosas foliares de plantas jovens de *C. arabica*, mantendo maiores taxas de sobrevivência (80%).
- Após o plantio em campo as plantas rustificadas de Mundo-Novo e Obatã apresentaram melhor desenvolvimento inicial das plantas frente às diversas limitações impostas pelo clima em campo durante dois anos, comprovando a rustificação das plantas. Isto foi demonstrado por valores relacionados à estrutura da copa e ao acúmulo de biomassa nos vários compartimentos das plantas de Mundo-Novo e Obatã.
- Maior número de folhas e de área foliar no tratamento rustificado podem ainda proporcionar um balanço de carbono mais favorável, e um desenvolvimento menos impedido nas plantas rustificadas.

- A prática de rustificação deve ser adotada nos cultivares de *Coffea arabica* estudados, pois este processo é simples e rápido e o desenvolvimento vegetativo inicial sob condições de campo é fortemente favorecido.

HARDENING *coffea arabica* BY WATERING CYCLES

1. GAS EXCHANGE AND LEAF WATER POTENTIAL BEFORE GROWING UNDER FIELD CONDITIONS

Paula Novaes¹ and Carlos Henrique Britto Assis Prado^{1*}

Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Botânica, Laboratório de Fisiologia Vegetal.

Via Washington Luis, km 235, 13565-905, São Carlos-SP, Brazil. *Corresponding author, phone +55 16 33518385, Fax +55 16 33518308, e-mail: prado_chba@yahoo.com.br

Abstract

Young plants of *Coffea arabica* grafted over *C. canephora* were submitted to six watering cycles (WC) during 35 days of hardening. Each WC was accomplished when net photosynthesis (P_N) was close to zero or leaf water potential (Ψ) close to -2.0 MPa in Acauã (AC), Mundo-Novo (MN), and Obatã (OB) cultivars. After 2 WC (about 10 days of hardening) g_s dropped from 0.15 to 0.01 mol m⁻² s⁻¹ changing the pattern of leaf gas exchange in subsequent WC in all cultivars. From 3 to 6 WC high oscillations of water use efficiency or substomatal CO₂ concentration took place besides negative P_N at the end of each WC. After 3 WC g_s and C_i increased more than P_N indicating some damage in photosynthetic machinery after watering. It happened strongly in OB, which showed progressive reduction of P_N after 3 WC and the lowest values of Ψ (-2.0 MPa) at the end of 6 WC. The survivorships during hardening were 80% till 3 WC and 70% at 6 WC. For practical proposes, 3 WC before growing under field conditions are sufficient for changing permanently the leaf gas exchange pattern in 3 cultivars studied, keeping photosynthetic machinery free of damage and higher survivorship.

Additional key words: net photosynthesis, stomata conductance, survivorship, water use efficiency.

Abbreviations: AC – Acauã cultivar; C_i – substomatal CO₂ concentration; E – transpiration; g_s – stomatal conductance; IP_N – integrated value of net photosynthesis during hardening; ITE – instantaneous transpiration efficiency, MN – Mundo-Novo cultivar; OB – Obatã cultivar; P_N – net photosynthesis; PFD – photosynthetic photon flux density; Ψ – leaf water potential; VPD – vapor pressure deficit; WC – watering cycles; WUE – water use efficiency.

Introduction

Hardening under watering cycles resulted in decreasing of leaf osmotic potential, stomatal conductance and aerial growth (Ackerson and Hebert 1981 a b, Franco *et al.* 2002). It improves tolerance to lower values of leaf water potential (Ψ) and increases water use efficiency (Villar Salvador *et al.* 1999, Sánchez-Blanco *et al.* 2004, Bănon *et al.* 2006). The maintenance of

autotrophy and tolerance to low Ψ were attributed mainly to osmotic adjustments preventing severe dehydration and leaf abscission in *Prunus armeniaca* grafted over *P. domestica* during watering cycles (Ruiz-Sánchez *et al.* 2000).

Young *Coffea arabica* plants are often cultivated in greenhouse under permanent watering and protected environment. These individuals usually do not have attributes to postpone stomatal closure under water stress or great tolerance to reduced values of Ψ (Pinheiro *et al.* 2005). When transferred to field they are submitted to strong photoinhibition, especially under water stress (Carelli *et al.* 1999). Spells and dry season are usually associated to high irradiance and high leaf temperature in Brazilian areas of *C. arabica* plantation (Da Matta *et al.* 1997). The latent heat dissipation is strongly reduced due to stomatal pore narrowing of *Coffea* under drought (Gutiérrez and Meinzer 1994). It increases leaf temperature, contributing even more to reduction of net carbon assimilation in *C. arabica* (Ronquim *et al.* 2006). Reduction of stomatal conductance (g_s), transpiration (E) and net photosynthesis (P_N) were observed under water stress in *C. arabica*, *C. liberica* (Cai *et al.* 2005) and in *C. canephora* (Da Matta *et al.* 2003, Pinheiro *et al.* 2004) under field condition, or in *C. canephora* cultivated inside the greenhouse (Praxedes *et al.* 2006). However, the consequences on behavior of *Coffea* leaf gas exchange after watering cycles was not yet studied.

Different responses of leaf gas exchange and Ψ to water deficit could occur in grafted or non-grafted *C. arabica* cultivars. Mundo-Novo and Acauã cultivars are considered tolerant to water stress, contrasting to a good producer Obatã (Fundação Procafé 2006). On the other hand, *Coffea arabica* grafted over *C. canephora* confers higher capacity to explore soil resources, which could be already a vantage for acquiring water (Fahl *et al.* 1998, 2001). We postulated that watering cycles are an appropriated practice on young *Coffea arabica* in order to attain higher tolerance to lower Ψ , postponing stomatal closure. It could improve water and carbon balances during growth under field conditions, resulting in a less interrupted development. Sheltered nursery is an appropriated ambient to test the hardening effects of watering cycles on leaf gas exchange and Ψ before to carry out transplanting to field conditions. The aim of this work was to verify if leaf gas exchange and Ψ behavior showed consistent and permanent alterations during the hardening of *C. arabica* grafted over *C. canephora*. It was intended to elaborate a preconditioning protocol for cultivars under nursery conditions by controlling the water stress at initial *C. arabica* development. On the other hand, we supposed that hardening by watering cycles could be useful to minimize mortality or increase inapt development of *C. arabica*, avoiding samplings replacement after transplanting on field.

Materials and methods

Cultivars and growth conditions

Three hundred individuals of Mundo-Novo, Obatã or Acauã cultivars of *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) grafted over *Coffea canephora* L. (Rubiaceae) were used in this study (total of 900 individuals). Each plant grew in a 125 cm³ tube-shape recipient supported by a squared plastic tray commonly used in plant nursery. Seedlings grew on substrate composed by coconut fiber and vermiculite (4:1, v/v). It was utilized 1.2 kg of Basocote fertilizer (GMBH & Co., Germany) with N (16 %), P (8 %), K (12 %), Zn (0.2 %) and B (0.2 %) for each 200 dm³ of coconut fiber. Plants were acclimated between 13-23 June 2005 under 75% of solar irradiance in greenhouse with mean night and day temperatures 18±3.2 and 25.0±3.0 °C, respectively. From June 23 to July 04, 2005 all individuals were acclimated under full solar irradiance in the experimental garden of Universidade Federal de São Carlos (21°58'59 1''S, 47°52'46 4''W; 843 m a.s.l.), São Carlos county, São Paulo state, Southeast of Brazil. The watering cycles started in the middle of dry season under full solar irradiance in July 04, 2005, when individuals were 4 (Mundo-Novo and Obatã) or 6 (Acauã) months-old. These ages are suitable for transplanting in field.

Leaf gas exchange, water use efficiencies, vapor pressure deficit and integrated P_N values

The leaf gas exchange determinations were carried out using an Infra Red Gas Analyzer (IRGA), model LCA-4 (ADC, Hoddeston, UK) under saturated (1300 μmol m⁻² s⁻¹) photosynthetic photon flux density (PPFD, Ronquim *et al.* 2006). A diroic light cannon (PLU-002, ADC, UK) mounted on the head of a Parkinson leaf chamber (PLCB-4, ADC) provided the PPFD. During the leaf gas exchange measurements the LCA-4 worked as an open system, with a tower collecting the reference air far from CO₂ sources (Ronquim *et al.* 2006). The leaf temperature (23 ± 0.5 °C) was maintained by Peltier system (ADC) and measured by a termopar connected to PLCB-4. The relative air humidity (RH) inside the PLCB-4 was maintained by LCA-4 at 65 % using a gas column containing wetted FeSO₄•7H₂O.

Each cultivar (300 individuals) was divided in three groups. On group 1 the net photosynthesis (P_N), stomatal conductance (g_s), substomatal CO₂ concentration (C_i) and leaf transpiration (E) were daily determined at the morning (7:00-9:00 h). Instantaneous transpiration efficiency (ITE) was calculated as the ratio P_N/E, and water use efficiency (WUE) as the ratio P_N/g_s (Nogueira *et al.* 2004). The mean values (±SE) of leaf gas exchange were obtained on four different sunlit leaves. These leaves were expanded, totally green, free of damage, and each one was attached on a distinct individual in same group of plants growing at the center of tray.

The values of air vapor pressure deficit (VPD_{air} , kPa) during leaf gas exchange measurements were calculated using the equation I and II (Jones, 1992):

$$VPD_{air} = 0,611375e^t \left[1 - (RH10^{-2}) \right] \quad (I)$$

$$t = \frac{17,502T_{air}}{240,97 + T_{air}} \quad (II)$$

e = natural logarithmic bases; RH = relative air humidity expressed as percentage (%); and T_{air} = air temperature ($^{\circ}C$).

P_N during watering cycles (the hardening period, 35 days) were integrated using the equation III (Ronquim *et al.* 2006), which generated the corresponding total P_N along 35 days ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$):

$$IP_N = \int f(x) d(x) \quad (III)$$

IP_N = integrated P_N value; x = time interval in seconds along hardening, 35 days (independent variable); $f(x)$ = the dependent variable (P_N).

Watering cycles, leaf water potential and the edge effect on tray

One watering cycle consisted in watering till field capacity in the first day and hold watering in subsequent days until mean P_N was close to zero (when Ψ was obtained) or when Ψ was close to -2.0 MPa. The watering cycle (WC) was repeated until the Ψ values did not decrease anymore at the end of WC, resulting in a total of 6 WC in study cultivars. An alternative benchmark (-2.0 MPa) was chosen because leaf osmotic potential between -2.0 and -3.0 MPa was observed in *C. arabica* in field (Da Matta *et al.* 2003). In addition, Ψ between -2.0 and -3.0 MPa indicated low water available in *C. canephora* 12 months-old in field (Pinheiro *et al.* 2004, Praxedes *et al.* 2006). Ψ between -2.0 and -3.0 MPa were also observed in stressful condition in adult plants of *C. arabica* during midday depression in rainy seasons in field (Ronquim *et al.* 2006).

Groups 2 and 3 (300 individuals in each group of each cultivar) were maintained in the same WC of group 1. When the mean P_N value of group 1 reached zero it was determined the mean value of leaf water potential (Ψ) in plants of groups 2 and 3. Five expanded leaves of 5 different plants of each cultivar were used to obtain the mean value of Ψ through a pressure chamber (model 3005, Santa Barbara Soil Moisture, Santa Barbara, USA). Plants growing at the edge of the support tray were not considered for gas exchange or Ψ determinations, avoiding the extra influence of wind, temperature and vapor pressure deficit on leaves near the boundary of tray.

Data analyses and survivorship

Because of abnormality, the correlations between $E-g_s$, g_s-Ci , $Ci-P_N$, P_N-g_s and P_N-E between 1-3, 4-6 and 1-6 watering cycles were tested by Spearman correlation, being considered significant those with decision level (α) at $p < 0.05$. Survivorship during WC was determined as the percentage of plants alive in relation to those 300 plants of each cultivar in the beginning of experiment.

Results

After 2 WC (about 10 days of hardening) the mean values of g_s reduced consistently (from 0.15 to 0.01 mol m⁻² s⁻¹) in all cultivars (Figures 1, 2 and 3). This g_s reduction was maintained even in subsequent watering. Maximum and minimum mean values of E and P_N decreased at each WC along hardening. E were influenced by g_s , since these variables were significant correlated between 1-6 WC in all studied cultivars ($p < 0.01$ and $r_s \geq 0.83$, Table 1). VPD was usually lower than 1.0 kPa during 6 WC.

Increasing of g_s occurred just after watering in each WC. For example, the average values of g_s among cultivars increased from 6±4 to 19±12 μmol m⁻² s⁻¹ after the second watering (about 10 days of hardening) and from 0±0 to 14±7 μmol m⁻² s⁻¹ after the fourth watering (about 20 days of hardening). In the first 3 WC, P_N recovered simultaneously with g_s after watering. For instance, the average P_N among cultivars increased from 0.25±0.65 to 3.49±0.53 μmol m⁻² s⁻¹ after second watering. On the other hand, after 3 WC, the corresponding average P_N recovering was lower, for example, from -0.09±0.86 to 1.18±0.72 μmol m⁻² s⁻¹ after fourth watering. Lower P_N recovered after 3 WC was synchronic with increase of mean Ci in all studied cultivars (*e.g.* from 204±53 to 648±504 ppm just after the fourth watering). In addition, P_N and g_s were correlated only between 1-3 WC when data of all cultivars were united ($p < 0.01$, $r_s = 0.56$, Table 1).

During 3 WC, Ψ decreased slowly in AC (Figure 1) and in MN (Figure 2). AC and MN showed Ψ values higher than -1.5 MPa during 6 WC. In OB, Ψ was even more negative at each WC, achieving -2.0 MPa on 35 days of hardening (at 6 WC, Figure 3). Only in AC there was significant correlation between P_N and E ($p < 0.01$; $r_s = -0.49$, Table 1) in 6 WC. In AC and in MN there was significant correlation of P_N-g_s ($p < 0.01$; $r_s \geq 0.44$) and g_s-Ci ($p < 0.01$; $r_s \geq 0.42$) between 1-6 WC. On the other hand, Ci was significant correlated to P_N between 1-6 WC in all cultivars ($p \leq 0.03$; $r_s \geq -0.38$, Table 1). AC showed positive mean P_N during 6 WC and its integrated net photosynthesis (IP_N) during hardening was the highest among cultivars (6.0 mol m⁻²). The IP_N values for each cultivar are on Figures 1, 2 and 3 (top panels).

Maximum and minimum WUE and ITE showed an increase tendency after 3 WC (Figures 1) only in AC. C_i was more stable in AC than in other cultivars during WC (Figure 1). In MN P_N , WUE and ITE were positive between 1-3 WC. Between 4-6 WC (after 16 days of hardening), P_N decreased in MN until zero at the end of each WC, when WUE, ITE and C_i showed higher amplitude of variation (Figure 2). P_N reduction in MN after 3 WC dropped IP_N to 3.07 mol m^{-2} (Figure 2). In OB, P_N , WUE and ITE reduced gradually during WC until negative values (Figure 3). There was negative P_N since the end of the first WC, and greater oscillation of WUE, ITE and C_i after 2 WC in OB (Figure 3). IP_N in OB (2.0 mol m^{-2}) was the lowest among cultivars.

After 3 WC, the survivorship was reduced by about 5% at each cycle (Figure 4). There were not large differences among cultivars survivorship along the experiment. Higher mortality, about 10%, occurred between 1-2 WC (during the first 5 days of hardening). At 3 WC the survivorship was about 80%, and after 6 WC it was around 70% (35 days of hardening). Greater mortality occurred in plants growing at the edge of each support tray.

Discussion

It was observed a permanent alteration of leaf gas exchange behavior during the hardening by watering cycles (WC). The main alteration was about g_s , which reduced from 0.15 to $0.01 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ after 2 WC in all cultivars despite subsequent watering. Transpiration was also strongly reduced after 2 WC since it was significantly correlated with g_s . Browning and Fisher (1975) observed that stomata pore reduced by a half when adult *Coffea arabica* were subjected to four months of water stress in field. *C. canephora* genotypes sensitive (46 e 109A) or tolerant (14 e 120) to water deficit were submitted to suspension of watering in greenhouse until Ψ predawn was close to -3.0 MPa , when g_s decreased from 0.09 to $0.03 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in tolerant and from 0.10 to $0.05 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in sensitive genotypes (Pinheiro *et al.* 2005). Here, g_s dropped permanently, 15 times (from 0.15 to $0.01 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) just after the second WC. Hence, about 10 days of hardening (after 2 WC) were sufficient to promote a consistent and permanent alteration of stomatal behavior in AC, MN and OB.

Transient increase of g_s occurred just after watering in each WC. Increase in g_s allowed P_N recovering between 1-3 WC. However, between 4-6 WC, P_N did not recover as g_s after watering. Momentary increase of g_s without corresponding increasing in P_N caused accumulation of CO_2 in substomatic chamber indicating some damage in photosynthetic machinery after 3 WC. Besides, increment in CO_2 availability by higher g_s and low CO_2 sequestration after 3 WC increased the amplitude of variation of C_i in all cultivars.

MN and AC showed mean values of Ψ higher than -1.5 MPa during WC, while in OB Ψ reached -2.0 MPa at the end of hardening. It could be connected to inherent tolerances to water stress. AC and MN are putative tolerant to low water availability and OB sensible (Fundação Procafé 2006). In AC, higher P_N during WC resulted in highest IP_N (6.0 mol m^{-2}). The maintenance of positive P_N and E reduction improved WUE and ITE even after 3 WC in AC. g_s and E reduction, P_N and C_i maintenance and WUE and ITE increasing between 1-6 WC demonstrated that AC can be submitted to 35 days of hardening (6 WC) with small prejudice in water and carbon balances. In MN, g_s close to $0.01 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, positive values of P_N , WUE and ITE till 15 days of hardening indicated that 3 WC resulted in hardening without apparent damages in photosynthetic machinery. Significant correlation ($0.57 > r_s > 0.42$) between g_s - P_N and g_s - C_i in AC and in MN indicated that g_s influenced significantly the atmospheric CO_2 access in these cultivars during 6 WC.

After 35 days of hardening Ψ were near to -2.0 MPa in OB, indicating severe water stress (Da Matta *et al.* 2003, Pinheiro *et al.* 2004, Praxedes *et al.* 2006, Ronquim *et al.* 2006). Continuous Ψ reduction in OB imposed physiological leaf conditions for dropping P_N , WUE and ITE gradually until negative values during WC along the hardening. The absence of significant correlation between g_s - P_N , and g_s - C_i in OB indicated that P_N reduction or C_i increase can not be explained by stomatal behavior between 1-6 WC, but by damages in photosynthetic machinery as of the first WC. Negative P_N since the first WC and slow P_N recovered as of 3 WC resulted in the lowest IP_N (2.0 mol m^{-2}) in OB. Therefore, OB hardening should be finished at the end of 2 WC, when there were already permanent alterations in g_s pattern. Peak of C_i just after watering between 2-6 WC clearly indicate drop in CO_2 mesophyll conductance in OB.

The IP_N could represent an acclimation capacity in relation to water stress. The decreasing gradient of IP_N ($6.0, 3.1$ and 2.0 mol m^{-2}) among cultivars is linked to the number of WC (6, 3 and 2 WC in AC, MN and OB, respectively) without apparent damage in photosynthetic apparatus. Because death took place during hardening, it is necessary to carry out as low WC as possible. After 3 WC, the gas exchange pattern was permanently altered and the survivorship was higher than 80% in all cultivars. Therefore, hardening with 3 WC (around 2 weeks) is recommended as a protocol for practical proposes in the three studied cultivars. The majority of death occurred at the board of support tray. The percentage of survivorship and the localization of death in the support tray can be used as visual references during hardening by WC. Higher percentage of survivorship during the WC could take place when seedlings are growing in benches with hundreds of trays side by side, which is common under nursery conditions, reducing relatively the board effect. The majority of coffee plantations around the world belong to small producers in areas where the water available often is not adequate and the irrigation costs are high (Da Matta and Ramalho 2006). Hardening by

WC in *Coffea arabica* is an efficient practice to minimize sampling death on field after transplanting under field conditions. Hardening by WC is simple, quick and with low cost.

Summarizing, the watering cycles (WC) modified consistently the leaf gas exchange pattern of *C. arabica* cultivars. The main parameter altered was g_s , changing permanently the pattern of leaf gas exchange in subsequent WC in all cultivars. At the end of each WC, the declining of g_s resulted in gradual reduction of E and higher values of WUE and ITE. The hardening in Acauã individuals has led to increase of WUE and ITE after 20 days of hardening (3 WC). In Mundo-Novo, P_N reduction, g_s stabilization and WUE, ITE and C_i strong oscillation after 15 days of hardening indicated that 2 weeks is an adequate period for hardening. In Obatã, the reduction of Ψ till -2.0 MPa and negative values of P_N , WUE and ITE specially as of 2 WC showed that WC should be carry out within minimal time as possible. For practical proposes, 2 weeks of hardening (3 WC) before growing under field conditions are sufficient for changing consistently and permanently the leaf gas exchange pattern of young grafted *C. arabica*, maintaining high survivorship.

Acknowledgments

This work was supported by FAPESP (scholarship to PN, n°04/12771-2). We are grateful to Cooperativa de Agricultores de Marília and Cooperativa de Cafeicultores de Garça for supplying plant materials, and to Carlos A. Casali for assisting in gas exchange measurements.

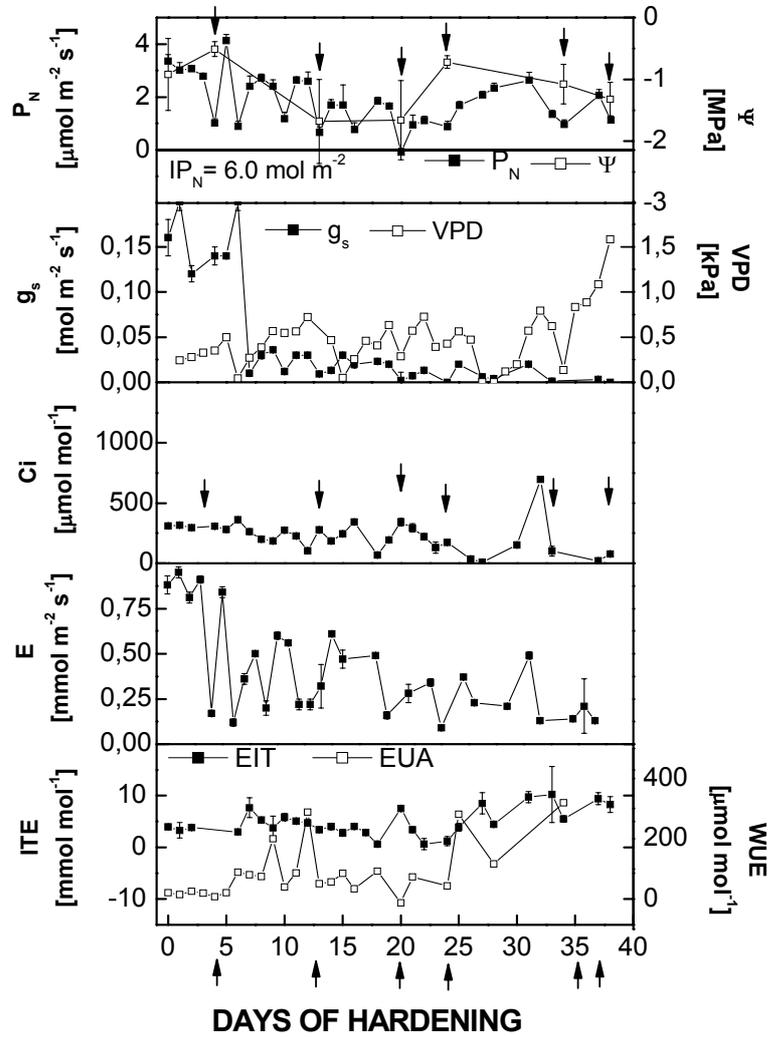
References

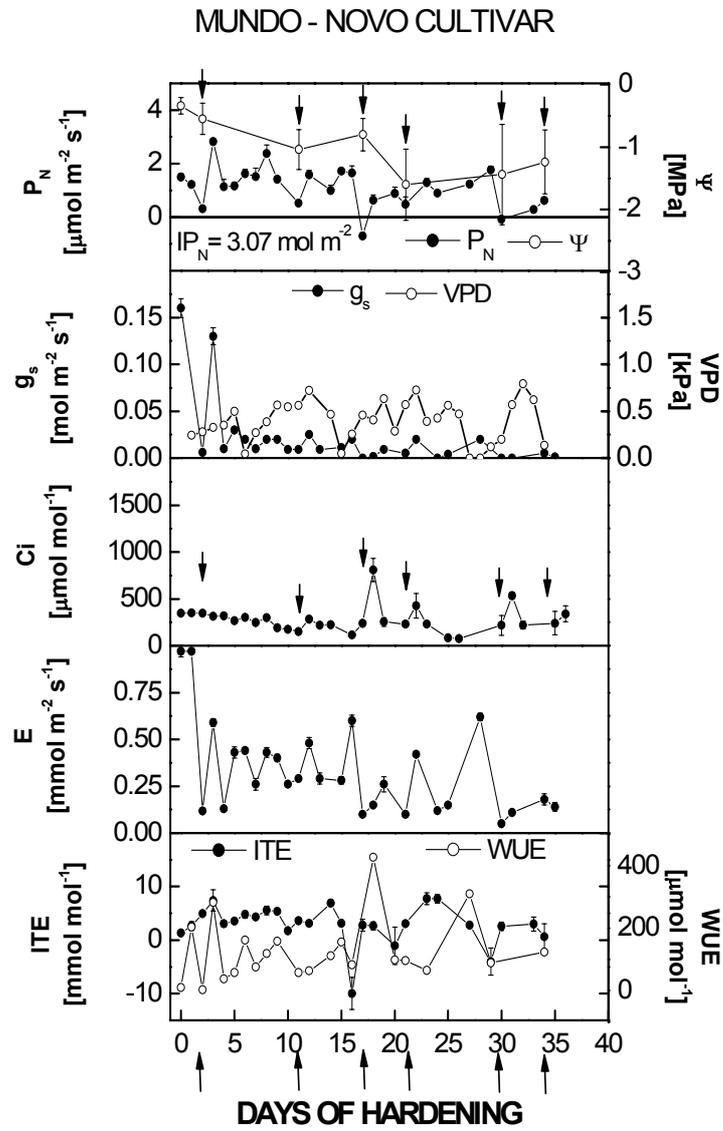
- Ackerson, R.C., Hebert R.R.: Osmoregulation in cotton in response to water stress. I. Alterations in photosynthesis, leaf conductance, translocation, and ultrastructure. - *Plant Physiol.* 67: 484-488, 1981 a.
- Ackerson, R.C., Hebert R.R.: Osmoregulation in cotton in response to water stress. II. Leaf carbohydrate status in relation to osmotic adjustment. - *Plant Physio.* 67: 489-493, 1981 b.
- Bãnon, S., Ochoa, J., Franco, J.A., Alarcon, J. J., Sanchez-Blanco, M. J.: Hardening of oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. - *Environ Exp Bot.* 56: 36-43, 2006
- Browning, G. and Fisher, M.N.: Shoot growth in *Coffea arabica* L., II Growth flushing stimulated by irrigation. - *J Hort. Sci.* 50: 207-218, 1975.
- Cai, Z.Q., Chen, Y.J., Guo, Y.H. and Cao, K.F.: Responses of two field-grown to drought and re-hydration. – *Photosynthetica.* 43: 187-193, 2005.

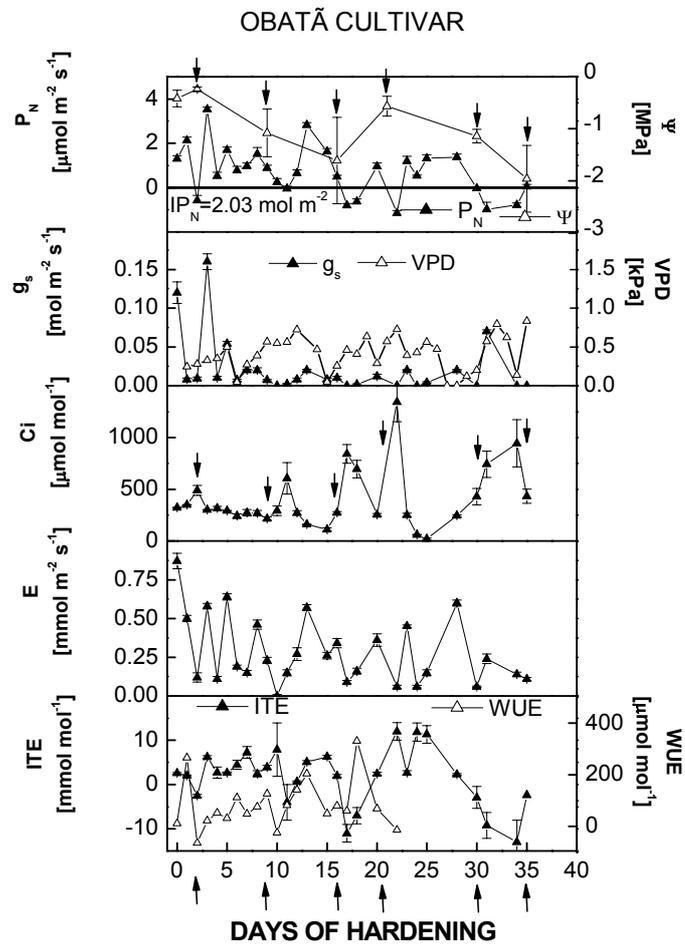
- Carelli, M.L.C., Fahl, J.I., Trivelin, P.C.O., Queiroz-voltan R.B.: Carbon isotope discrimination and gas exchange in *Coffea* species growing under different irradiance regimes. - Rev Bras Fisiol Veg. 11: 63-68, 1999.
- Da Matta, F.M., Maestri, M., Mosquin, P.R., Barros, R.S.: Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*) as affected by winter and summer conditions. - Plant Sci. 128: 43-50, 1997.
- Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Pinheiro, H.A., Ducatti, C., Loureiro, M.E.: Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. - Plant Sci. 164: 111-117, 2003.
- Da Matta, F.M., Ramalho, J.D.C.: Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. - Braz. J. Plant Physiol. 18: 55-81, 2006.
- Fahl, J.I., Carelli, M.L.C., Gallo, P.B., Da Costa, W.M., Novo, M.C.S.S.: [*Coffea arabica* grafted over *C. canephora* and *C. congensis* progenies on growth, mineral nutrition and production] – Bragantia. 57: 297-12, 1998. [In Portuguese.]
- Franco, J.A., Cros, V., Bañón, S., González, A., Abrisqueta, J.M.: Effects of nursery irrigation on postplanting root dynamics of *Lotus creticus* in semiarid field conditions. - HortScience. 37: 525-528, 2002.
- Fahl, J.I., Carelli, M.L.C., Menezes, H.C., Gallo, P.B., Trevelin, P.C.O.: Gas exchange, growth, yield and beverage quality of *Coffea arabica* cultivars grafted on to *C. canephora* and *congensis*. - Expl Agric. 37: 241-252, 2001.
- Fundação Pro Café. <http://www.fundacaoprocafe.com.br/html/variedades.html> accessed in 13 Dec 2006 [In Portuguese]
- Gutiérrez, M.V., Meinzer, F.C.: Carbon isotope discrimination and photosynthetic gas exchange in coffee hedgerows during canopy development. - Aust J Plant Physiol. 21: 1305-1313, 1994.
- Jones, H.G. Plants and microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology. Second edition. Cambridge University Press, 1992.
- Nogueira, A., Huaman, C. A. M. Y., Ferreira, L. L., Prado, C. H. B. A.: Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing successional status in a Brazilian reforestation. – Photosynthetica. 42: 351-356, 2004.
- Praxedes, S.C., Da Matta, F.M., Loureiro, M.E., Ferrão, M.A.G., Cordeiro, A.: Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. Konillou) leaves. - Environ and Exp Bot. 56: 263-273, 2006.
- Pinheiro, H.A., Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B., Loureiro, M.E.: Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. - Plant Sci. 167: 1307-1314, 2004.

- Pinheiro, H.A., DaMatta, F.M., Chaves, A.R., Loureiro, M.E., Ducatti, C.: Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea arabica*. - *Annals Bot.* 96: 101-108, 2005.
- Ronquim, J.C., Prado, C.H.B.A., Novaes, P., Fahl, J.I., Ronquim, C.C.: Carbon gain in *Coffea arabica* L. during clear and cloudy days in wet season - *Expl Agric.* 42: 147-164, 2006.
- Ruiz-Sánchez, M.C., Domingo, R., Torrecillas, A., Pérez-Pastor, A.: Water stress preconditioning to improve drought resistance in young apricot plants. - *Plant Sci.* 156: 245-251, 2000.
- Sánchez-Blanco, M., Ferrández T., Navarro, A., Bañon, S., Alarcón, J.J.: Effects of irrigation and air humidity preconditioning on water relations, growth and survival of *Rosmarinus officinalis* plant during and after transplanting. - *J Plant Physiol.* 161: 1133-1142, 2004.
- Schulte, P.J., Hinckley, T.M., Steller, R.F.: Stomatal responses of *Papulus* to leaf water potential. - *Plant, Cell and Environ.* 10: 313-318, 1987
- Villar Salvador, P., Ocaña, L., Peñuelas, J., Carrasco, I.: Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill., (Aleppo pine) seedlings. - *Ann for Sci.* 56: 459-465, 1999.

ACAUÃ CULTIVAR







	Acauã		Mundo-Novo		Obatã		All	
	p	rs	p	rs	p	rs	p	rs
1-6 CR								
Ci-P _N	0.03	-0.39	0.02	-0.46	0.03	-0.38	<0.01	-0.29
E-g _s	<0.01	0.83	<0.01	0.90	<0.01	0.88	0.01	0.85
P _N -E	<0.01	-0.49	0.86 n.s.	--	0.26 n.s.	--	<0.01	0.59
P _N -g _s	0.01	0.44	<0.01	0.57	0.06 n.s.	--	<0.01	0.52
g _s -Ci	<0.01	0.57	0.01	0.42	0.22 n.s.	--	0.96 n.s.	--
1-3 CR								
Ci-P _N	0.09 n.s.	--	0.02	-0.55	0.22 n.s.	--	0.40 n.s.	--
E-g _s	<0.01	0.74	<0.01	0.87	<0.01	0.67	<0.01	0.77
P _N -E	<0.01	0.69	0.93 n.s.	--	<0.01	0.76	<0.01	0.54
P _N -g _s	<0.01	0.67	0.49 n.s.	--	0.01	0.58	<0.01	0.56
g _s -Ci	0.20 n.s.	--	0.91 n.s.	--	0.82 n.s.	--	0.91 n.s.	--
4-6 CR								
Ci-P _N	0.88 n.s.	--	0.04	-0.64	<0.01	-0.90	<0.01	-0.65
E-g _s	<0.01	0.98	<0.01	0.81	<0.01	0.88	<0.01	0.89
P _N -E	0.53 n.s.	--	<0.01	0.81	0.08 n.s.	--	<0.01	0.50
P _N -g _s	0.39 n.s.	--	0.04	0.63	0.19 n.s.	--	0.06 n.s.	--
g _s -Ci	0.76 n.s.	--	0.89 n.s.	--	0.24 n.s.	--	0.43 n.s.	--

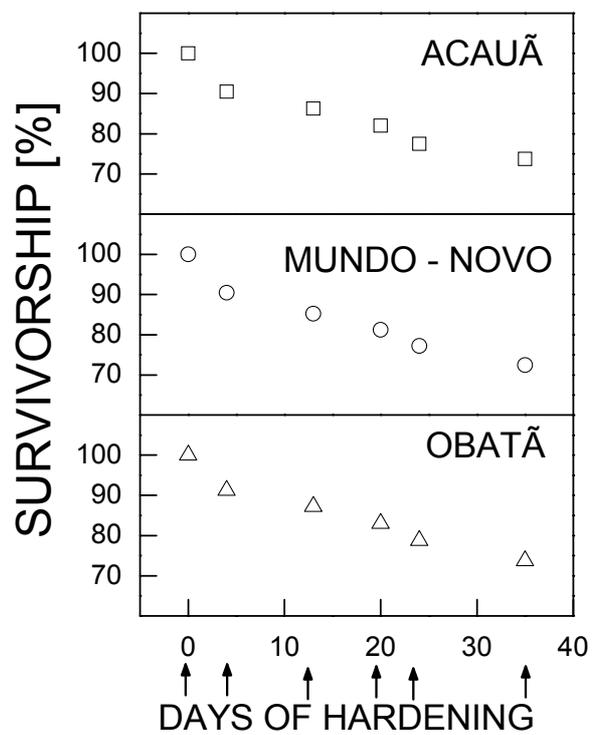


Figure 1. Average values (symbols) and standard error (bars) of net photosynthesis (P_N), leaf water potential (Ψ), stomatal conductance (g_s), substomatal CO_2 concentration (C_i), transpiration (E), instantaneous transpiration efficiency (ITE) and water use efficiency (WUE) in 6-months-old of *Coffea arabica* (Acauã cultivar) grafted over *Coffea canephora* growing in 125 ml plastic recipients during watering cycles. $IP_N = P_N$ integrated value during 6 watering cycles. Arrows indicate the days of watering.

Figure 2. Average values (symbols) of net photosynthesis (P_N), leaf water potential (Ψ), stomatal conductance (g_s), substomatal CO_2 concentration (C_i), transpiration (E), instantaneous transpiration efficiency (ITE) and water use efficiency (WUE) and standard error (bars) in 4-months-old of *Coffea arabica* (Mundo-Novo cultivar) grafted over *Coffea canephora* growing in 125 ml plastic recipients during watering cycles. $IP_N = P_N$ integrated value during 6 watering cycles. Arrows indicate the days of watering.

Figure 3. Average values (symbols) of net photosynthesis (P_N), leaf water potential (Ψ), stomatal conductance (g_s), substomatal CO_2 concentration (C_i), transpiration (E), instantaneous transpiration efficiency (ITE) and water use efficiency (WUE) and standard error (bars) in 4-months-old of *Coffea arabica* (Obatã cultivar) grafted over *Coffea canephora* growing in 125 ml plastic recipients during watering cycles. $IP_N = P_N$ integrated value during 6 watering cycles. Arrows indicate the days of watering.

Table 1. Substomatal CO_2 concentration (C_i), net photosynthesis (P_N), transpiration (E) and stomatal conductance (g_s) Spearman correlations in Acauã, Mundo-Novo and Obatã and in the data collection of all studied cultivars of *Coffea arabica* grafted over *Coffea canephora* between 1-3 (n=15), 4-6 (n=15) and 1-6 (n=30) watering cycles. r_s = Spearman correlation coefficient. p = associated probability with decision level at $\alpha < 0.05$. n.s. = non significant. Values of r_s in non significant correlation where omitted and symbolized by traces.

Figure 4. Percentage of survivorship of *Coffea arabica* grafted over *Coffea canephora* (Acauã, Mundo-Novo and Obatã cultivars) after the beginning of the watering cycles. Arrows at the bottom indicate the days of watering.

HARDENING *Coffea arabica* BY WATERING CYCLES2. INITIAL DEVELOPMENT IN FIELD OF *Coffea arabica* PREVIOUSLY HARDENED.Paula Novaes¹ and Carlos Henrique Britto Assis Prado^{1*}

Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Botânica, Laboratório de Fisiologia Vegetal.

Via Washington Luis, Km 235, 13565-905, São Carlos-SP, Brazil. * corresponding author, fone +55

16 33518385, Fax +55 16 33518308, e-mail: prado_chba@yahoo.com.br

Abstract

It was tested if previous hardening by watering cycles resulted in significant differences about crown structure and biomass accumulation during initial development in field of *Coffea arabica* grafted over *C. canephora*. Previous hardening allowed higher biomass accumulation of leaf, stem and root than in control plants (free of hardening) in Mundo-Novo and Obatã cultivars. Stem diameter, height and the number of leaves and branches were also higher in hardened individuals. Significant differences ($p < 0.05$) in crown structure and biomass were observed between control and hardened plants mainly after 270 days under field conditions. Higher leaf area and greater number of leaves and branches on crown of hardening plants enable them to increase carbon assimilation and grain production in field. Therefore, previous hardening resulted in less interrupted vegetative development after transplantation in field in both study cultivars.

Additional Key words: biomass, *Coffea arabica*, crown structure, growth, hardening, initial development, leaf area.

Abbreviations: AB/SB – aerial biomass per subterranean biomass; DFC – Days under field condition; g_s – stomatal conductance; Ψ – leaf water potential.

Introduction

Coffea arabica came from Ethiopia where grows in shade under taller trees. Elevated vapor pressure deficit and air temperature under full solar irradiance strongly limit carbon assimilation of *C. arabica* even in growing season (Ronquim *et al.* 2006). In addition, water stress limits net photosynthesis of *C. arabica* by decreasing the available leaf area on crown (Carr 2001). Air temperature over 30 °C or lower than 15 °C provoke grown reduction, chlorophyll loss and abortion of flowers (Franco 1958, Camargo 1985). High irradiance usually occurs simultaneously to high air and leaf temperatures in areas of *C. arabica* plantation in South America. Unfavorable conditions in soil or in atmosphere are more harmful on carbon and water balance during the initial development of plants (Larcher, 2003), when the size of reserve is small.

When submitted to low water availability, *Coffea arabica* and *C. canephora* usually increase the root size, and reduce stomatal pore, leaf area and branch number (Carr, 2001). Genotypes 14 and 120 of *C. canephora* tolerant to water deficit showed deep root and higher subterranean biomass when submitted to water stress till leaf water potential -3.0 MPa (Pinheiro *et al.* 2004, 2005). Da Matta *et al.* (2003) observed higher leaf area, leaf water potential and productivity, but reduced stomata conductance, in genotype 120 of *Coffea canephora* tolerant to water stress in relation to sensible genotype 46. Cultivar Mundo-Novo of *C. arabica* is considered tolerant to water stress, and Obatã a good producer but intolerant to water stress (Fundação Procafé 2006). Grafting both Mundo-Novo and Obatã cultivars over *C. canephora* is a practice that tries to minimize the impact of water stress on *C. arabica* development, increasing soil exploration under field conditions (Fahl *et al.* 1998, 2001).

Stomata reactions to leaf water potential (Ψ) can be definitely altered when young plants are subjected to watering cycles (Brown *et al.* 1976, Jones and Turner 1978, Ackerson 1980). Repeated cycles modify turgescence- Ψ relationship (Brown *et al.* 1976) and ABA concentration (Ackerson 1980). If hardened coffee tree showed significant and permanent alteration in leaf gas exchange pattern (first serial manuscript), hardening could also modify the following growth of *C. arabica*. Our hypothesis is that previous hardening by watering cycles should confer more positive water and carbon balances. Therefore, preconditioning could promote growth and biomass gain since the initial development under adverse conditions. The aim of this work was to verify the efficiency of previous hardening by watering cycles on the initial development of *Coffea arabica* grafted over *C. canephora* (Mundo-Novo and Obatã cultivares) under field conditions. It was accompanied the biomass accumulation and the crown structure in hardened and control (without hardening), as of transplanting to field during rainy and dry seasons along the year.

Material and methods

Plant material, previous hardening and field growing conditions

Cultivars Mundo-Novo and Obatã of *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) grafted over *Coffea canephora* L. (Rubiaceae) were 180-days-old when transplanted for growing under field conditions. Acauã cultivar was utilized in the first serial manuscript, but not in this second, by reason of fungus contamination on root of all individuals just after transplanting to field. Coffee plants with 120-days-old were growing on tube-shape containers of 125 cm³ when they were previous hardening by watering cycles (Novaes and Prado, first serial manuscript).

Fifty hardened and 50 control individuals of each cultivar were transplanted to field conditions with spacing of 50 x 50 cm. The total of 200 individuals grew distributed on 4 flowerbeds. Each flowerbed (1.5 x 1.5 m) received one treatment of each cultivar, totalizing 50 plants per flowerbed. Flowerbeds were placed side by side on the experimental garden of Universidade Federal de São Carlos (21°58'59 1''S, 47°52'46 4''W; 843 m a.s.l.), São Carlos city, São Paulo State, Southeast of Brazil. The substrate for planting was prepared previously with oxisol soil and animal dung in proportion of 4:1 (soil:animal dung, v/v). Lime was added previously as domilitic calcareous mineral at proportion of 0.5 g per kg of soil in order to increase pH around 6.0. Calcareous application was done at 150, 240 and 420 days during the growth under field conditions (DFC). Chemical fertilization (N 4%, P 14%, K 8%) was carried out on 165, 255 and 435 DFC. Daily watering was done during the first month (August 2005) after transplantation to field.

Cultivars grew under subtropical climate with dry winter and warm-rainy summer (Cwa type following Köppen classification). Dry period occurs from May to September and the rainy period takes place from September to February (Prado and Monteiro 2006, Damascos *et al.* 2005). The historical mean annual temperature is 21 °C and the annual precipitation 1520 mm (Tolentino, 1967). The meteorological monthly information (precipitation, maximum, medium and minimum air temperature) were obtained in station number 83726 of Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) located in north area of Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), 1 km far from the experimental garden where both cultivars grew along the year.

Crown characteristics, leaf area and biomass determination in plant compartments

Determinations of crown structure were carried out in 5 hardened and in 5 control plants in each period of measurements along the year on each cultivar. Leaf and branch number, height and the stem diameter adjacent to soil were determined with intervals of 30 days under high (between 120-540 days under field condition, DFC) and low (between 270-420 DFC) water availability along the year. Branches were count as those on the stem or on previous branch formed. Stem diameter was measured using a pachymeter and height (from soil to apical meristem) with a 1.0 m ruler. Leaf area were carried out under high (150 and 540 DFC) and low (300 DFC) water availability. All leaves of 5 plants on each cultivar were detached and scanned for determining the total leaf area per plant in hardened and control plants. Total leaf area was estimated by Image-Pro software (Media Cybernetics version 4.0, USA). The leaf area ratio was calculated by dividing total biomass (g) per total leaf area (m²).

Dry biomass was determined (mean±SE) using 10 control and 10 hardened plants of each cultivar in every period along the year. Determination of biomass took place at 150, 210, 300, 420

and 540 DFC. Plants were separated in leaves, stem and roots. Each plant compartment was dried in stove under 60 °C till constant mass. Leaves, stem and branches represented the aerial biomass. The ratio of aerial (AB) per subterraneous biomass (SB, roots) was calculated in each plant individually.

Statistical analyses and survivorship

By reason of abnormality, mean values of biomass and crown structure were tested by non-parametric analyze (Mann-Whitney), being considered significant those at $p < 0.05$. The values of leaf area ratio were normal and, therefore, it was analyzed by Anova at $p < 0.05$. Survivorship was determined as the percentage of plants alive at the end of the experiment (540 DFC) in relation to those 50 plants transplanted in each flowerbed in the beginning of the experiment.

Results

Periods of high water availability were monthly characterized by minimum air temperature higher than 15 °C, maximum air temperature between 26-30 °C, and precipitation between 100-470 mm (Figure 1). Period of low water availability showed monthly minimum and maximum air temperatures lower than 15 and 30°C, respectively, and mean monthly precipitation lower than 100 mm (Figure 1). High water availability happened between 100-270 and 390-540 days under field conditions (DFC). Low water availability took place between 270-390 DFC.

There were not differences between treatments of both cultivars concerning height or leaf number till 200 DFC (Figure 2). Significant ($p < 0.05$) higher values of height and leaf number occurred in hardened plants of Mundo-Novo and Obatã between 210-540 DFC. The number of branches was significant higher in hardened treatment of both cultivars between 270-540 DFC (Figure 2).

Significant ($p < 0.05$) higher stem biomass and total biomass occurred after 150 and 300 DFC in hardened plants of Mundo-Novo and Obatã, respectively (Figure 3). Hardened plants of both cultivars showed higher aboveground, subterraneous and leaf biomass after 200 DFC (Figure 3). Stem diameter was higher in hardened plants after 360 DFC (Figure 3). The leaf area was higher in hardened plants of both cultivars at the end of the experiment (540 DFC). Only hardened plants of Obatã showed significant higher values of AB/SB ratio along the year. The leaf area ratio was higher in hardened Obatã at 300 DFC or in control Mundo-Novo at 540 DFC (Figure 3). Survivorship was 94% in both Mundo-Novo treatments, and 88 and 78%, respectively, in control and hardened Obatã after 540 DFC.

Summarizing, small differences in crown structure and biomass accumulation in plant compartments occurred between treatments of both cultivars in first period under high water availability (between 150-240 DFC). After 270 DFC all plants were naturally submitted to water stress because of low rainfall in winter. Differences in crown structure and biomass accumulation were more evident under water stress (between 270-390 DFC). Differences between treatments were greater in the second period under high water availability, when mean values were always higher in hardened plants of both cultivars till 540 DFC.

Discussion

As observed by Novaes and Prado in first manuscript, hardening imposed a permanent alteration of leaf gas exchange in *Coffea arabica* cultivars after 3 watering cycles. In preconditioned plants, reduced stomatal conductance (g_s) probably took place allowing higher water use efficiency in field without substantial decrease in net photosynthesis. This stomatal behavior was brought about between 1-3 WC in both cultivars (first manuscript). The maintenance of reduced g_s avoiding water loss is opportune in plants with higher leaf area as in those previously hardened. With different leaf gas exchange behavior, hardened plants were able to increase the positive components of carbon and water balances accumulating greater leaf area and biomass. It was brought about especially during and after winter dry season till 540 DFC.

Favorable carbon and water balances were accompanied by proportional increasing of plant compartments (leaves stem and roots) in hardened plants. It held small differences of AB/SB ratio and leaf area ratio between treatments till 540 DFC, keeping in pace autotrophic/heterotrophic portions. On the other hand, the increase in transpirational demand was accompanied by increasing of biomass and stem diameter what improved the lift capacity in order to attend higher water demand of crown. Besides, higher biomass and stem diameter should support increasing flux of photosynthetic products to a more developed root system in hardened plants.

Higher leaf area permits in short term greater carbon assimilation in hardened plants. Elevate carbon net assimilation on branchy crown establishes the favorable conditions to increase grain production in *Coffea arabica* plants. Differences in leaf gas exchange and biomass allocation could be followed by biochemical alteration. Stomatal conductance and leaf transpiration decreasing took place simultaneously with drop of chlorophyll content by 25% and an increasing of activity of antioxidant enzymes (18 and 44%, in superoxide dismutase and ascorbate peroxidase, respectively) on leaves of *C. arabica* submitted to water stress under field conditions (Cai *et al.* 2005).

Hardening by watering cycles before plantation in field was efficient to improve initial development of plants facing climatic limitations along the year. It was demonstrated by crown structure and biomass accumulation in both *C. arabica* cultivars. Higher leaf area on branchy crown in hardened plants could also promote grain productivity. Hardening should be adopted in *C. arabica* cultivars study because it is simple and quick (first serial manuscript) ameliorating the initial vegetative development under field conditions.

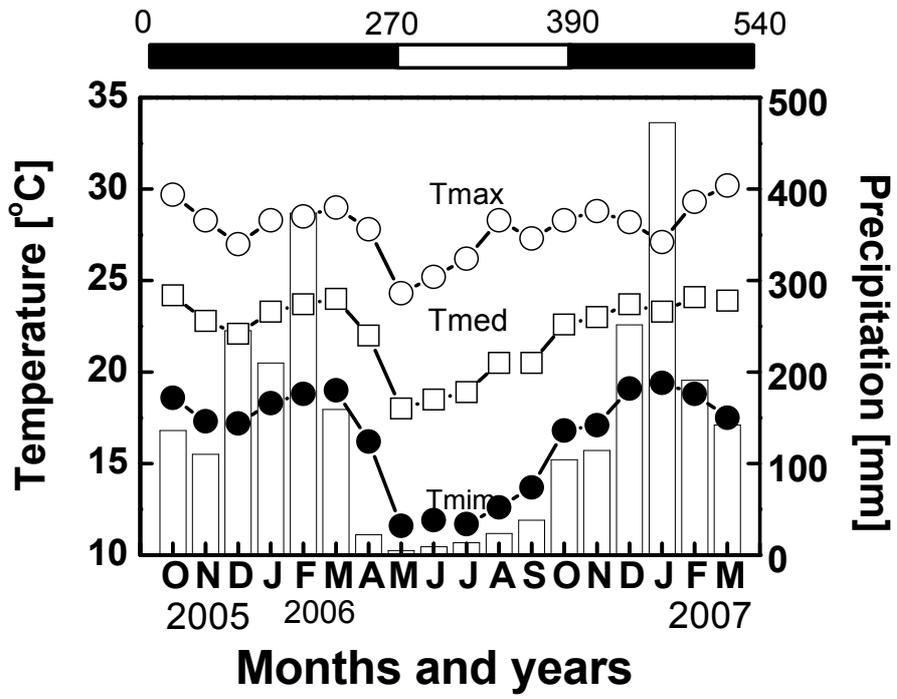
Acknowledgments

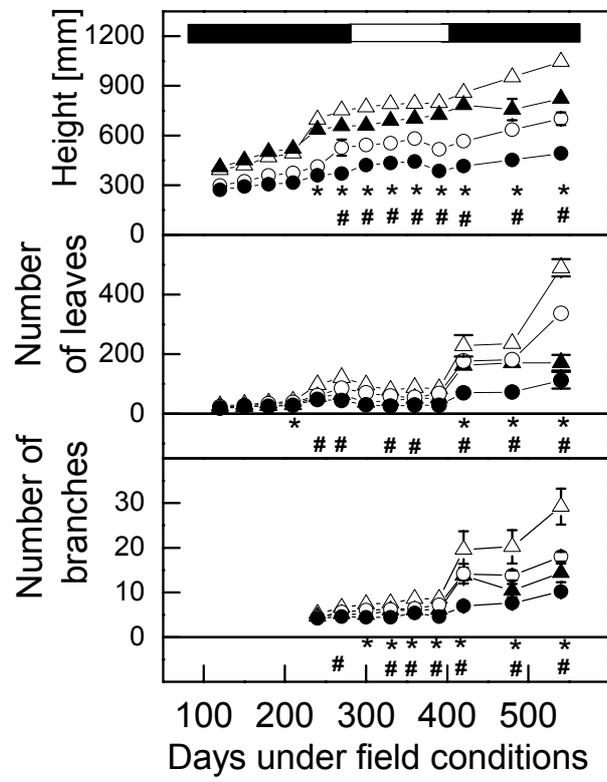
This work was supported by FAPESP (scholarship conceded to PN, n°04/12771-2). We are grateful to Cooperativa de Agricultores de Marília (Coopemar, Marília- SP-Brazil) and Cooperativa de Cafeicultores de Garça (Garcafé, Garça- SP-Brazil) for supplying plant materials and to Carlos A. Casali for field assistance.

References:

- Ackerson, R.C.: Stomatal response of cotton to water stress and abscisic acid as affected by water stress history. - *Plant Physiol.* 65: 455-459, 1980.
- Brown, K.W., Jordan, W.R., Thomas, J.C.: Water stress induced alterations of stomatal response to decreases in leaf water potential. - *Physiol Plant.* 37: 1-5, 1976
- Camargo, AP.: [the climate and coffee culture in Brazil]. - *Inf. Agropec.* 11: 13-26, 1985. [In Portuguese.]
- Carelli, M.L.C., Fahl, J.I., Trivelin, P.C.O., Queiroz-Voltan, R.B.: Carbon isotope discrimination and gas exchange in *Coffea* species grown under different irradiance regimes. - *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal.* 11: 63-68, 1999.
- Carr, M.K.V.: The water relations and irrigation requirements of Coffee. - *Expl. Agric.* 37: 1-36, 2001.
- DAMASCOS, M.A., PRADO, C., RONQUIM, C.C.: Bud composition, branching patterns and leaf phenology in Cerrado woody species – *Annals Bot.* 96: 1075-1084, 2005.
- Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Pinheiro, H.A., Ducatti, C., Loureiro, M.E.: Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. - *Plant Sci.* 164: 111-117, 2003.
- Fahl, J.I., Carelli, M.L.C., Gallo, P.B., Da Costa, W.M., Novo, M.C.S.S.: [*Coffea arabica* grafted over *C. canephora* and *C. congensis* progenies on growth, mineral nutrition and production]. – *Bragantia.* 57: 297-12, 1998. [In Portuguese.]

- Fahl, J.I., Carelli, M.L.C., Menezes, H.C., Gallo, P.B., Trevelin, P.C.O.: Gas exchange, growth, yield and beverage quality of *Coffea arabica* cultivars grafted on to *C. canephora* and *congensis*. - Expl Agric. 37: 241-252, 2001.
- Franco, V.M.: Influence of temperature on growth of coffee plants. Bulletin n °16. IBEC Research Institute, New York 1958.
- Fundação Pro Café.: <http://www.fundacaoprocafe.com.br/html/variedades.html> accessed in 13 Dec 2006.
- Jones, M.M., Turner, N.C.: Osmotic adjustments in leaves of sorghum in response to water deficits. - Plant Physiol. 61: 122-126, 1978.
- Larcher, W.: Physiological Plant Ecology. - Springer-Verlag, New York 2003.
- Monteiro, J.A.F., Prado, C.H.B.A.: Apparent carboxylation efficiency and relative stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in an evergreen cerrado species during water stress. - Photosynthetica. 44: 39-45, 2006.
- Pinheiro, H.A., Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B., Loureiro, M.E.: Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. - Plant Sci. 167: 1307-1314, 2004.
- Pinheiro, H.A., DaMatta, F.M., Chaves, A.R., Loureiro, M.E., Ducatti, C.: Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea arabica*. - Annals Bot. 96: 101-108, 2005.
- Ronquim, J.C., Prado, C.H.B.A., Novaes, P., Fahl, J.I., Ronquim, C.C.: Carbon gain in *Coffea arabica* L. during clear and cloudy days in wet season. - Expl Agric. 42: 147-164, 2006.





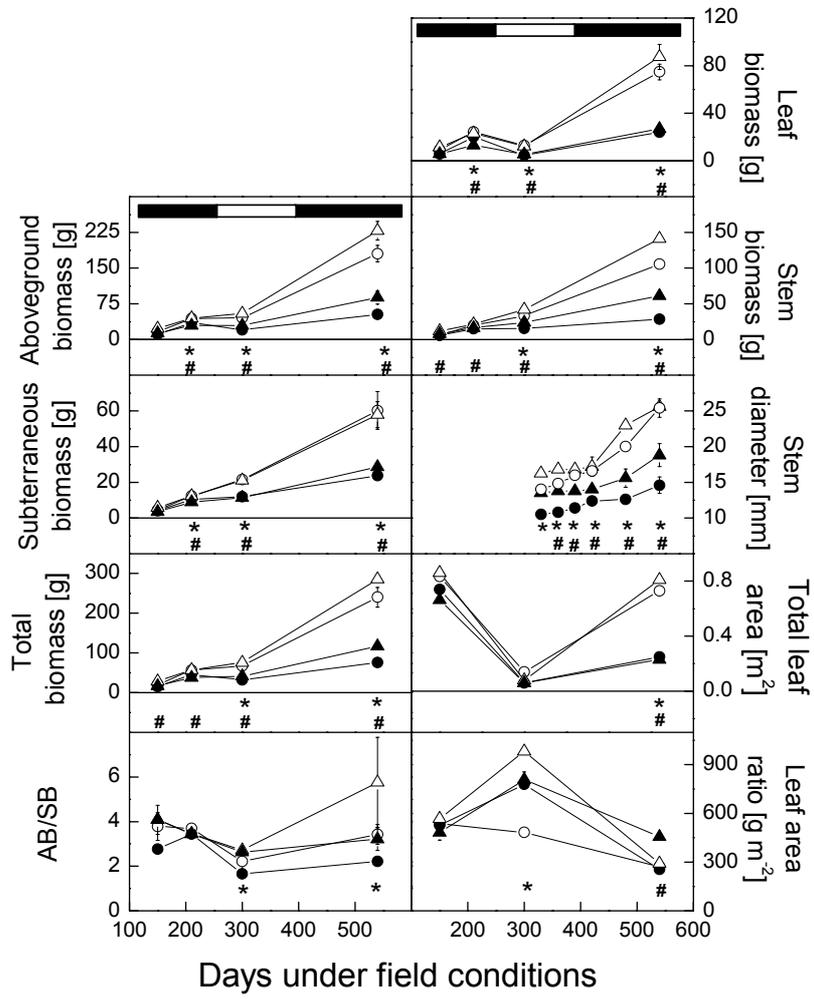


Figure 1. Monthly average values (symbols) of maximum (Tmax), medium (Tmed), and minimum (Tmin) temperatures and the total rainfall (columns) during the initial development of *Coffea arabica* in field conditions. The bar above panel shows the periods of high (black) and low (white) water availability along the years. The numbers above bar represent the days of growing under field conditions.

Figure 2. Average values (symbols, n = 5) and standard error (bars connected to symbols) of number of ramifications, leaves, branches, and the plant height of Mundo-Novo (triangles) and Obatã (circles) cultivars of *Coffea arabica* grafted over *Coffea canephora* growing under field conditions. Open (Δ , \circ) and solid (\blacktriangle , \bullet) symbols indicate hardened and control individuals, respectively. The symbols at the bottom of each panel indicate when significant differences ($p < 0.05$) happened between the mean values of hardened and control individuals of Mundo-Novo (#) and Obatã (*) cultivars. The horizontal bar at the top of panels indicates high (black) and low (white) periods of water availability.

Figure 3. Plant biomass and traits of crown and leaves of *Coffea arabica* grafted over *Coffea canephora*, cultivars Mundo-Novo (triangles) and Obatã (circles) growing under field conditions. Open (Δ , \circ) and solid (\blacktriangle , \bullet) symbols (n=10) indicate, respectively, the average value of hardened and control individuals. The symbols at the bottom of each panel indicate when significant differences ($p < 0.05$) happened between the mean values of hardened and control individuals of Mundo-Novo (#) and Obatã (*) cultivars. The horizontal bar at the top represents the high (black) and low (white) periods of water availability. AB/SB = aerial (AB) per subterraneous (SB) biomass.