

ANÁLISES ULTRAESTRUTURAIS DE PEDÚNCULOS E FRUTOS DE CAFÉ COM DIFERENTES FORÇAS DE DESPRENDIMENTO DO RAMO REVELAM A NÃO EXISTÊNCIA DE UMA DELIMITADA ZONA DE ABCISÃO

Isabel Rodrigues Brandão¹; Jose Donizeti Alves²; Dayane Meireles da Silva³; Kamila Rezende Dázio de Souza⁴; Lissa Vasconcellos Vilas Boas⁵; Fábio Moreira da Silva⁶

¹Bolsista Pós-Doutorado, EmbrapaCafé, Lavras – MG, isabel.brandao@posgrad.ufla.br

²Professor, DSc, Departamento de Biologia/Fisiologia Vegetal, UFLA, jdalves@dbi.ufla.br

³Doutoranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras – MG, dayanemeireles@yahoo.com

⁴Bolsista Pós-Doutorado PNP/CAPEL, UFLA, Lavras – MG, krdazio@hotmail.com

⁵Mestranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras – MG, lissa-92@hotmail.com

⁶Professor, DSc, Departamento de Engenharia, UFLA, famsilva@ufla.br

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi investigar a existência de uma zona de abscisão na região de ligação entre o pedúnculo e o fruto de *Coffea arabica* cv. Icatu Amarelo. Pedúnculos de frutos de café foram coletados com auxílio de um dinamômetro portátil em diferentes estádios de maturação e forças de desprendimento (10 – 13N e 8 – 9,9N, 6 – 6,9N e 5 – 5,9N, 4 – 4,9 e 2 – 3,9N). O material vegetal foi imediatamente fixado em Karnovsky para as análises de microscopia eletrônica de varredura ou em FAA para as análises anatômicas. Analisando-se as imagens obtidas pela microscopia eletrônica não foi observada a existência de uma clara zona de abscisão entre o pedúnculo e o fruto. Quando observados os pedúnculos destacados dos frutos de forma manual, encontrou-se diferenças entre os estádios de maturação, onde os frutos verdes apresentaram células desorganizadas e com parede celular rompida, o que não foi observado nos frutos cerejas. Da mesma maneira, os cortes anatômicos não evidenciaram a presença de uma clara zona de abscisão entre o pedúnculo e o fruto. Através desses resultados, pode-se concluir que os frutos da espécie *Coffea arabica* cv. Icatu amarelo não apresentam uma zona de abscisão entre o pedúnculo e o fruto.

PALAVRAS-CHAVE: *Coffea arabica*, Icatu amarelo, zona de abscisão.

ULTRASTRUCTURAL ANALYZES OF PEDUNCLES AND COFFEE FRUITS WITH DIFFERENT FORCES OF DETACHMENT FROM THE BRANCHES REVEAL THE NON-EXISTENCE OF A DELIMITED ABCISSION ZONE

ABSTRACT: The aim of this work was investigate the existence of an abscission zone in the linker region between peduncle and fruit of *Coffea arabica* L. cv. Icatu amarelo. Peduncles of coffee fruits were collected using a portable dynamometer at different maturation stages and forces of detachment (10 - 13 N and 8 – 9.9 N; 6 – 6.9N and 5 – 5.9 N; 4 - 4.9 and 2 – 3.9 N). The plant material was immediately fixed in Karnovsky for analysis of scanning electron microscopy or in FAA for anatomical analysis. Analyzing the images obtained by scanning electron microscopy, it was not observed the existence of a clear abscission zone between peduncle and fruit. When observed the peduncles that were forcibly removed from the fruits, there were differences between the stages of maturation, once green fruits showed disorganized cells and cell wall loosening, which were not observed in cherry fruits. Similarly, the anatomical analyzes did not show the presence of a clear abscission zone between the peduncle and the fruit. In this way, fruits of *Coffea arabica* cultivar Icatu amarelo do not show an abscission zone between the peduncle and the fruit.

KEYWORDS: *Coffea arabica*, Icatu amarelo, abscission zone.

INTRODUÇÃO

A facilidade de desprendimento dos frutos da planta é que determina a velocidade operacional e a vibração das varetas da colhedora durante a colheita mecanizada do café (SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2013). Quanto mais próximo da maturação, mais fácil o fruto se desprenderá da planta-mãe. Em outras palavras, a força de desprendimento de frutos (FDF) para remoção de frutos verdes de café é geralmente maior do que a força necessária para remoção de frutos cerejas (SILVA et al. 2013). Esses autores, ao estudarem o desempenho operacional da colheita mecanizada e seletiva do café, concluíram que a FDF pode ser um parâmetro objetivo para indicar o momento de início de colheita mecanizada e seletiva do café e também um parâmetro para o gerenciamento da colheita mecanizada.

Para colher o maior número de frutos cerejas é necessário ajustar a vibração das varetas da colhedora, deixando a maioria dos frutos verdes na planta (SILVA et al., 2004). Análises visuais no momento da colheita revelam que o fruto verde ao ser colhido desprende-se dos ramos com o pedúnculo a ele inserido. Já o fruto cereja, se desprende sem o pedúnculo, ficando esse, aderido ao ramo.

O fenômeno da abscisão de folhas, flores e frutos é altamente regulado e envolve mudanças estruturais, bioquímicas e moleculares, que resultam na separação desses órgãos dos ramos (LEWIS et al., 2006). Normalmente esse processo ocorre em uma camada delimitada de células anatomicamente distinta conhecida como zona de abscisão (PATTERSON, 2001). Esta zona apresenta camadas de células com paredes celulares enfraquecidas pela dissolução da lamela média seguida pela completa degradação enzimática da parede celular, mediada pelo etileno o que determina a perda da adesão intercelular e com isso a facilidade da colheita (WALDRON et al., 1997).

Ainda que para algumas espécies de frutos já tenha sido registrada a existência de uma zona de abscisão, para o fruto do café ela ainda não foi evidenciada, notadamente em estudos ultraestruturais associados a diferentes valores de FDF. A caracterização dessa região dos frutos ao longo do processo de maturação e sua relação com a força de desprendimento contribuirá para o aperfeiçoamento da colheita mecanizada seletiva, possibilitando maior conhecimento acerca de possíveis ajustes necessários para a FDF a ser empregada no momento da colheita.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar a existência de uma possível zona de abscisão na região de ligação entre o pedúnculo e o fruto de *Coffea arabica* cv. Icatu Amarelo.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi obtido de área cafeeira localizada no Setor de Cafeicultura da Universidade Federal de Lavras. Frutos e pedúnculos de *Coffea arabica* cv. Icatu Amarelo foram coletados, individualmente, em diferentes estádios de maturação e intervalos de força de desprendimento (Tabela 1). A FDF foi aferida pela utilização de um dinamômetro portátil modelo DD-200 (Instrutemp) adaptado para a coleta dos frutos de café. Os intervalos de forças de desprendimento para cada estágio de maturação dos frutos foram determinados e fixados por um pré-teste realizado no local das coletas, baseando-se nos resultados descritos por Silva et al. (2013).

Tabela 1. Estádio de maturação, mês de coleta e intervalos de força de desprendimento de frutos (FDF).

Estádio de maturação	Mês de coleta	Intervalo da FDF
Verde	Março – Abril	8 a 9,9 N e 10 a 13 N
Verde-cana	Maió – Junho	6 a 6,9 N e 7 a 7,9 N
Cereja	Junho – Julho	2 a 3,9 N e 4 a 5,9 N

A coleta foi realizada no terço médio das plantas, com quatro repetições, sendo que os frutos foram coletados individualmente. Quando desprendidos dentro de um dos intervalos de força pré-determinados tiveram a região de ligação entre o pedúnculo e o fruto excisadas com o auxílio de um bisturi (Figura 1A), e fixadas em Karnovsky (amostra “a”), ou fixadas em formaldeído, álcool e ácido acético – FAA (amostra “b”). Paralelamente os pedúnculos foram manualmente separados dos frutos e fixados em Karnovsky (Figura 1B).

Para investigar a possível existência de uma zona de abscisão em frutos verde, verde-cana e cereja, amostras fixadas em Karnovsky (amostra “a”) foram colocadas em glicerol 30% por 30 minutos e, na sequência, imersas em nitrogênio líquido. Em seguida, foi realizado, um corte longitudinal com o auxílio de um bisturi.

Os pedúnculos armazenados em Karnovsky (Figura 1B) foram excisados na região proximal do fruto e a amostra “e” foi utilizada. As amostras (“a” e “e”) foram lavadas três vezes, durante 10 minutos sem tampão de cacodilato 0,05 M e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% durante duas horas. Posteriormente, foram desidratadas em gradiente de acetona (25, 50, 75 e 90%) durante 10 minutos cada e duas vezes em acetona 100%, durante 10 minutos e em seguida levadas ao aparelho de ponto crítico (Balzers CPD 030) utilizando CO₂ líquido para completar a secagem. As amostras foram montadas em suportes de alumínio (stubs) com fita dupla de carbono e banhadas com ouro, utilizando um evaporador Balzers SCD 050 e mantidas em sílica gel até observação.

As amostras “a” foram dispostas com a região excisada para cima, enquanto que as amostras “e” foram montadas com a região que estava voltada para o fruto para cima. Análises de MEV foram realizadas utilizando um microscópio Leo EVO 40, com 5,5 a 9 mm de distância de trabalho e 20kv. A região de ligação entre pedúnculo e fruto que estava fixada em FAA (amostras “b”) foi emblocada em Polietilenoglicol (PEG) de forma gradual (40 a 100%). Cada bloco foi seccionado com auxílio de um micrótomo semiautomático de 8 em 8 µm de espessura. As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água, e, quando secas, o material foi corado com azul de toluidina (O’BRIEN et al., 1965). As lâminas foram fotografadas em câmera Zeiss AxioCamErc 5s acoplada ao microscópio modelo Zeiss Axio Lab.A1.

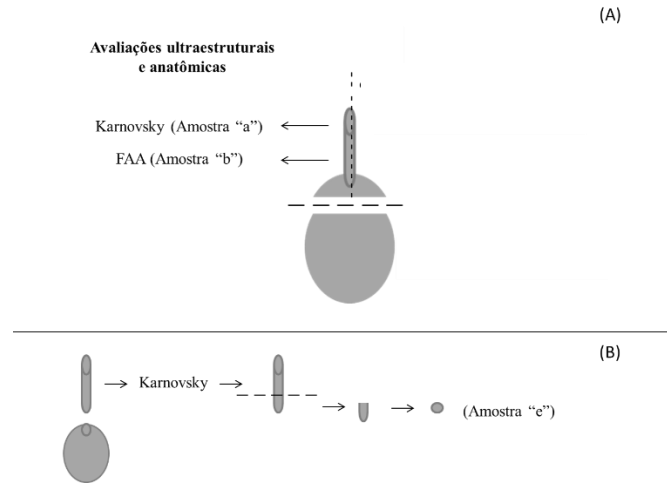


Figura 1. Ilustração da metodologia de coleta e armazenamento das amostras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das imagens obtidas por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) possibilitou comparar a morfologia das células da região que liga o pedúnculo ao fruto, entre os diferentes estádios de maturação, bem como entre as forças de desprendimento dos frutos (Figura 2 e 3). Observando-se os cortes longitudinais, de maneira geral, não foi possível detectar diferenças nas estruturas das células quando comparados aos frutos nos diferentes estádios ou nas forças utilizadas. Não foram observadas evidências de uma clara zona de abscisão (Figura 2).

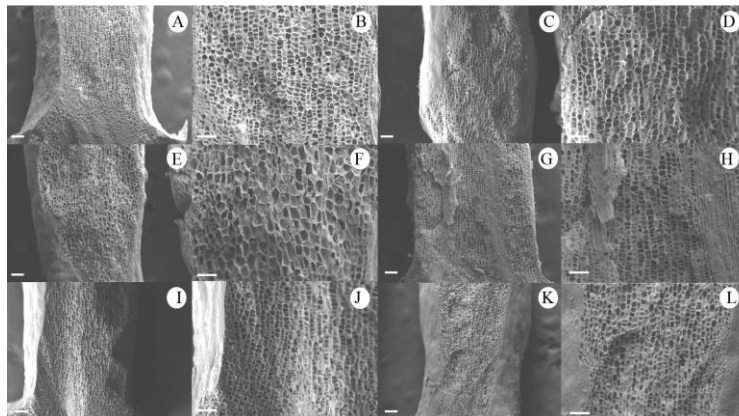


Figura 2. Eletromicrografias de varredura da região de ligação entre pedúnculos e frutos verde, com força de desprendimento de 10 – 13 N (A e B), verde com força de desprendimento de 8 – 9,9 N (C e D), verde-cana com força de desprendimento 7 – 7,9 N (E e F), verde-cana com força de desprendimento de 6 – 6,9 N (G e H), cereja com força de desprendimento de 4 – 5,9 N (I e J) e cereja com força de desprendimento de 2 – 3,9 N. Barra de escalas: 200 μ m em A-C-E-G-I-K e 100 μ m em B-D-F-H-J-L.

Analisando-se os pedúnculos que foram destacados manualmente dos frutos (Figura 3), pode-se observar que os pedúnculos no estágio verde, independente da força de desprendimento utilizada, apresentaram parede celular rompida e células desorganizadas, tanto na região central, como na periférica. Já nos estádios verde-cana e cereja, observou-se um rompimento mais organizado, tanto na parte mais central, como na periférica, na região de ligação entre os frutos e pedúnculos.

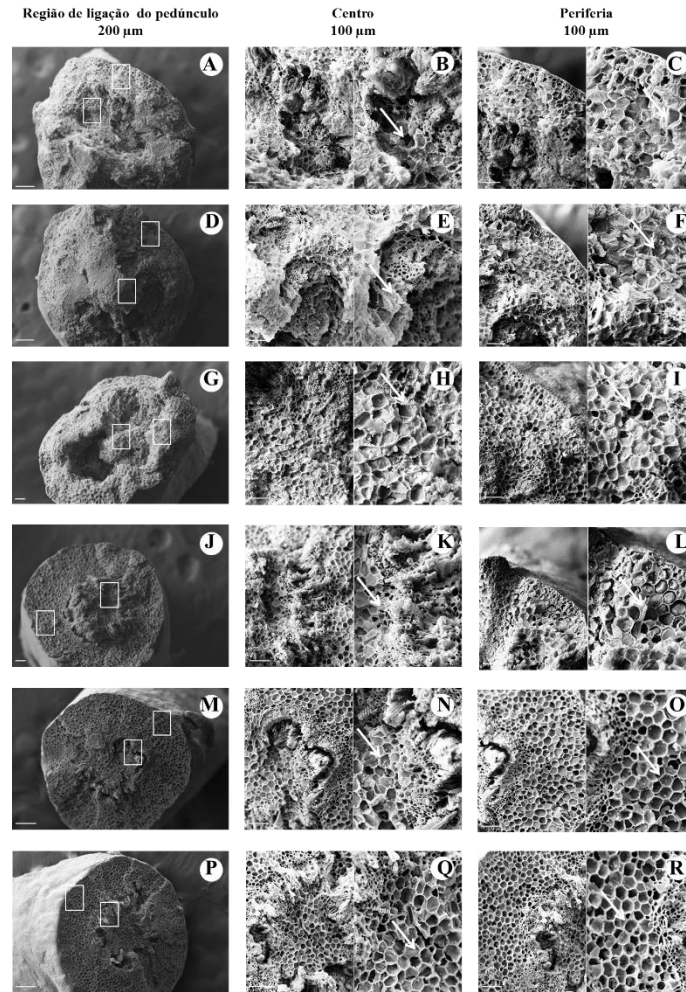


Figura 3. Eletromicrografias de varredura da ligação entre frutos e pedúnculos. A - verde com força de desprendimento de 10 – 13 N, células do centro (B) e da periferia (C). D - verde com força de desprendimento de 8 – 9,9 N, células do centro (E) e da periferia (F). G - verde-cana com força de desprendimento 7 – 7,9 N, células do centro (H) e da periferia (I). J - verde-cana com força de desprendimento de 6 – 6,9 N, células do centro (K) e da periferia (L). M - cereja com força de desprendimento de 4 – 5,9 N, células do centro (N) e da periferia (O). P - cereja com força de desprendimento de 2 – 3,9 N, células do centro (Q) e periferia (R). Barra de escalas: 200 µm em A-D-G-J-M-P e 100 µm em B-C-E-F-H-I-K-L-N-O-Q-R. (amostra “e”). Quadrado significa as áreas observadas no centro e na periferia, setas indicam as células.

No estágio de maturação verde (Figura 3A a 3F), normalmente o pedúnculo está mais fortemente aderido ao fruto, necessitando com isso uma maior força para o seu desprendimento (10-13 N e 8-9,9 N). Portanto o ato de desprendimento manual do pedúnculo induziu um maior rompimento celular e, com isso, as células se apresentaram mais desorganizadas. Em relação aos frutos verde-cana (Figura 3G a 3L), observou-se um rompimento com uma ligeira organização das células, sem uma quebra evidente da parede celular. Isso pode ser explicado pela diminuição da força de desprendimento do fruto (7-7,9 e 6-6,9 N) ou pelo começo das alterações fisiológicas associadas ao processo de amadurecimento. Por outro lado, no estágio cereja (Figura 3M a 3R) os frutos já se encontravam maduros e as células com maior grau de afrouxamento, o que explica a baixa força de desprendimento necessária para a colheita (4-5,9 N e 2-3,9 N). Neste caso, as células já se encontram naturalmente desorganizadas, não apresentando nenhum grau de rompimento forçado.

Esses resultados demonstram que embora, tenha ocorrido uma redução da FDF ao longo da maturação devido ao afrouxamento celular, não se observou claramente uma zona de abscisão nesta região, embora algumas células tenham apresentado rompimentos sem um padrão linear.

Avaliando-se a morfologia da zona de abscisão de frutos de *Olea europaea* L. (azeitona), que apresentavam uma diminuição da FDF ao longo do processo de maturação, Gomez-Jimenez et al. (2010) observaram um padrão semelhante ao observado nesse trabalho. Os frutos de azeitona no início do processo de maturação apresentaram células centrais mais rugosas e com rupturas após a remoção forçada. Já as células dos frutos de azeitona nos estádios finais de maturação apresentavam-se esféricas e alongadas, com separação espontânea. Em ambos os casos, os padrões de modificação da organização celular foram semelhantes aos encontrados nos frutos verdes e cerejas do cafeeiro no atual

tranhado. Possivelmente os padrões de modificação das células dos frutos de azeitona e de cafeeiro sejam semelhantes em virtude de ambos apresentarem um decréscimo de 75% na FDF ao longo do processo de maturação (Tabela 1). À semelhança do que ocorreu nas análises de MEV, de maneira geral, as análises anatômicas não evidenciaram uma desestruturação das células em uma zona específica do pedúnculo, em nenhum dos estádios de maturação e forças de desprendimento estudados (Figura 4). Ocorreu apenas uma separação de algumas células no estágio final de maturação (Figura 4 N e O – apontadas pelas setas), provavelmente pela atuação das enzimas de degradação de parede celular.

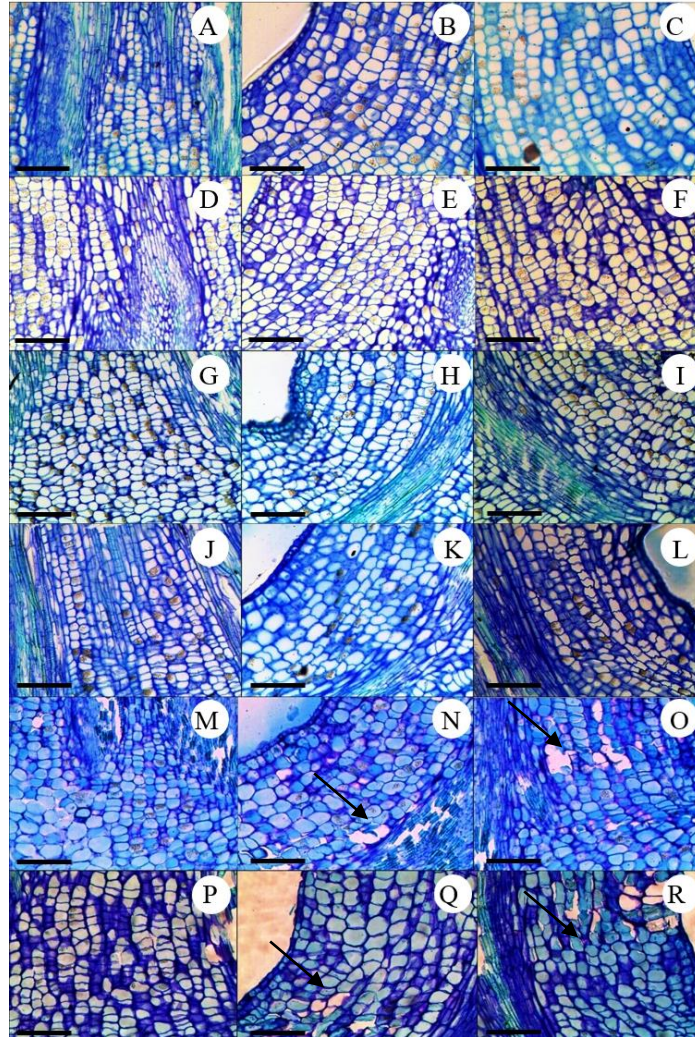


Figura 4. Fotomicrografias de cortes anatômicos da região proximal de ligação entre pedúnculos e frutos (amostra “b”). Verde, com força de desprendimento de 10 – 13 N (A - C), verde com força de desprendimento de 8 – 9,9 N (D - F), verde-cana com força de desprendimento 7 – 7,9 N (G - I), verde-cana com força de desprendimento de 6 – 6,9 N (J - L), cereja com força de desprendimento de 4 – 5,9 N (M - O) e cereja com força de desprendimento de 2 – 3,9 N (P – R). Barra de escalas 10 μ m. Setas indicam rompimento celular.

Esses resultados sugerem que os frutos de cafeeiro não se desprendem da planta-mãe pela existência de uma camada de abscisão, e sim pelo afrouxamento de algumas células. Este fato talvez explique a permanência da ligação dos frutos cereja à planta, uma vez que, se existisse essa zona de abscisão, os frutos cereja cairiam logo no início de sua formação. Desta maneira, o fruto amadurece no ramo, mudando sua coloração de forma característica, passando pelas fases de cereja, passa e seco, permanecendo ainda no mesmo local de origem. Este fato é normalmente observado nas lavouras de café, onde é comum a presença de frutos em diferentes fases de maturação no mesmo ramo. Acredita-se que a queda dos frutos secos ocorra fundamentalmente em decorrência do rompimento mecânico dos tecidos dos pedúnculos, em função da desidratação. Dessa forma, a queda natural dos frutos secos, bem como dos frutos cerejas, pode ser decorrente de fatores externos, tais como vento e chuva (CHAVES FILHO, 2007).

CONCLUSÕES

Mediante análises ultraestruturais e anatômicas de pedúnculos de café, pode-se inferir que não existe uma zona de abscisão específica na região de ligação entre o pedúnculo e o fruto de *Coffea arabica* cv Icatu amarelo, e sim células que se romperam sem um padrão linear.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHAVES FILHO, J. T. Novos paradigmas na fisiologia do cafeeiro. **Documentos- IAC**, v. 80, p. 67-74, 2007.
- GOMEZ-JIMENEZ, M.C. et al. Mature fruit abscission is associated with up regulation of polyamine metabolism in the olive abscission zone. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 167, p. 1432–1441, Nov. 2010.
- LEWIS, M. W.; et al. Plant separation: 50 ways to leave your mother. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 9, p. 59–65, Feb. 2006.
- O' BRIEN, T. P. et al. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. O. **Protoplasma**, New York, v.59, n.2, p.368-373, 1964.
- PATTERSON, S.E. Cutting loose, abscission and dehiscence in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 126, p. 494–500, Jun. 2001.
- SILVA, C. F. et al. Comportamento da força de desprendimento dos frutos de cafeeiros ao longo do período de colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 468-474, Mar./Apr. 2010.
- SILVA, C. S. et al. Desempenho operacional da colheita mecanizada e seletiva do café em função da força de desprendimento dos frutos. **Coffee Science**, v. 8, p. 53-60, 2013.
- SILVA, F. M. Colheita mecanizada e seletiva do café. **Cafeicultura Empresarial: produtividade e qualidade**, p. 1-75, 2004.
- WALDRON, K. W. et al. New approaches to understanding and controlling cell separation in relation to fruit and vegetable texture. **Trends in Food Science and Technology**, v. 8, p. 213 – 221, Jul. 1997.