

RAFAEL MAURI

**INTERAÇÃO ENTRE PARÂMETROS HIDRÁULICOS E FOTOSSINTÉTICOS EM  
COFFEA SPP.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

M454i  
2015 Mauri, Rafael, 1990-  
Interação entre parâmetros hidráulicos e fotossintéticos em  
*Coffea* spp / Rafael Mauri. – Viçosa, MG, 2015.  
vi, 34f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Fábio Murilo da Matta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.30-34.

1. Café - Fisiologia. 2. Café - Necessidade hídricas.  
3. Trocas gasosas. 4. Plantas - Relações hídricas. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa  
de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal. II. Título.

CDD 22. ed. 633.73

RAFAEL MAURI

**INTERAÇÃO ENTRE PARÂMETROS HIDRÁULICOS E FOTOSSINTÉTICOS EM  
COFFEA SPP.**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Fisiologia Vegetal, para obtenção do  
título de Magister Scientiae.

---

Leandro Elias Morais

---

Flávio Barcellos Cardoso

---

Fábio Murilo DaMatta  
Orientador

## Sumário

RESUMO.....	iv
ABSTRACT .....	vi
1. Introdução .....	1
2. Material & Métodos.....	6
2.1. Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental .....	6
2.2. Relações hídricas, trocas gasosas e medições de fluorescência.....	6
2.3. Curvas de vulnerabilidade e condutividade hidráulica foliar.....	8
2.4. Características morfológicas e anatômicas .....	10
3. Resultados.....	11
4. Discussão .....	24
5. Conclusão .....	29
6. Referências Bibliográficas.....	30

## RESUMO

MAURI, Rafael, Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **Interação entre parâmetros hidráulicos e fotossintéticos em Coffea spp.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

Existem lacunas consideráveis sobre a eficiência hidráulica em café (*Coffea spp.*), como também pouco se sabe sobre as inter-relações entre características hidráulicas foliares e características morfoanatômicas, e como tais características são associadas, com vistas à maximização das trocas gasosas em café. Neste estudo, explorou-se a variabilidade morfológica, hidráulica e fisiológica de oito genótipos de café a fim de se compreender como interagem entre si os principais fatores hidráulicos limitantes da fotossíntese no cafeeiro, bem como investigar as dicotomias entre eficiência e segurança hidráulica. Para tal, compararam-se diferentes genótipos de café, incluindo-se aí genótipos/espécies evoluídos em ambientes distintos no que respeita à disponibilidade hídrica, bem como cultivares antigas e modernas de café. O estudo foi conduzido em condições de campo e as medições fisiológicas e amostragens foram feitas entre outubro de 2014 e abril de 2015. Apesar da grande variabilidade morfológica em nível foliar em *Coffea spp.*, demonstrou-se que os genótipos estudados apresentaram valores relativamente baixos de condutividade hidráulica foliar em paralelo a uma baixa capacidade transpiratória. Essas características estiveram associadas a fortes limitações difusionais à fotossíntese, fato adicionalmente ilustrado pela alta correlação entre taxa de fotossíntese líquida e condutância estomática. Registre-se, contudo, que, em condições de baixo déficit de pressão de vapor, as taxas fotossintéticas por unidade de área foliar parecem razoavelmente conservadas em *Coffea spp.* De modo geral, não se observaram correlações consistentes entre condutividade hidráulica foliar e densidade de venação (e vários outros parâmetros hidráulicos), sugerindo a existência de altas resistências extra-vasculares em café. Em todo o caso, os resultados evidenciaram uma moderada a alta resistência à disfunção hidráulica (com margens positivas de segurança hidráulica). Nesse sentido, o diâmetro de condutos do xilema parece estar diretamente envolvido na determinação da segurança hidráulica em *Coffea spp.*, com uma maior proporção de condutos de menor diâmetro levando a uma maior segurança hidráulica. Observou-se uma alta correlação ( $r^2=0,84$ ) entre área foliar unitária e  $P_{50}$  (o valor de potencial hídrico associado à redução da condutividade hidráulica

foliar em 50%), sugerindo que genótipos com folhas menores são mais tolerantes à cavitação. Em termos de coordenação entre parâmetros hidráulicos e de relações hídricas não houve relação entre valores de  $P_{50}$  e o potencial hídrico no ponto de perda de turgescência, mas houve correlações positivas entre  $P_{50}$  e o módulo de elasticidade ( $r^2= 0,73$ ) e o potencial osmótico em turgescência plena ( $r^2= 0,57$ ). Concernentes às características anatômicas relacionadas ao mecanismo de reforço em nível de vasos, não se observou relação entre o  $P_{50}$  e os valores de  $(t/b)^3$  (razão entre espessura da parede celular e diâmetro do lúmen dos vasos) tanto da nervura central como de nervuras minoritárias. Por outro lado, observaram-se correlações significativas entre  $P_{50}$  e parâmetros como diâmetro dos condutos do xilema ( $r^2=0,60$ ) e condutividade teórica do xilema ( $r^2=0,41$ ). Em suma, os resultados indicam que genótipos de *Coffea* spp. exibem características que lhes conferem uma média a alta tolerância à seca, e que a eficiência hidráulica relativamente baixa concorre, em última análise, para limitar o potencial fotossintético do cafeeiro.

## ABSTRACT

MAURI, Rafael, Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **Interaction between hydraulic and photosynthetic parameters in Coffea spp.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta.

There are considerable gaps on the hydraulic efficiency in coffee (*Coffea* spp.), as well as little is known about the interrelations between leaf hydraulic characteristics and morpho-anatomic characteristics and how these characteristics are associated with a view to maximizing gas exchange in coffee. This study explored the morphological, hydraulic and physiological variability in eight coffee genotypes in order to understand how they interact between each other the main limiting hydraulic factors of the photosynthesis in coffee as well as investigate the trade-off between efficiency and hydraulic safety. To this end, we compared different coffee genotypes, including genotypes/species evolved in different environments with respect to water availability, as well as old and new varieties of coffee. The study was conducted under field conditions and physiological measurements and samples were collected between October 2014 and April 2015. Despite the large morphological variability at leaf level in *Coffea* spp, it was demonstrated that the studied genotypes showed relatively low values of leaf hydraulic conductivity in parallel with a low transpiration capacity. These characteristics were associated with strong diffusion limitations to photosynthesis, a fact further illustrated by the high correlation between net photosynthesis rate and stomatal conductance. Register, however, that in low vapor pressure deficit conditions, photosynthetic rates per unit leaf area seem reasonably preserved in *Coffea* spp. Overall, there were no consistent correlations between leaf hydraulic conductivity and venation density (and various other hydraulic parameters), suggesting the existence of high extra-vascular resistance in coffee. In any case, the results showed a moderate to high resistance to hydraulic dysfunction (with positive hydraulic margins). Accordingly, the diameter of xylem conduits appears to be directly involved in the determination of the hydraulic safety in *Coffea* spp., with a larger proportion of smaller diameter conduits leading to greater hydraulic safety. There was a high correlation ( $r^2 = 0,84$ ) between unitary leaf area and  $P_{50}$  (the leaf water potential inducing 50% loss of  $K_f$  compared with conductance values measured in well hydrated, near-full turgor leaves), suggesting that genotypes with lower leaves are more tolerant to cavitation. In terms of coordination between hydraulic parameters and water relations there was no relationship between  $P_{50}$  values and the

water potential in the turgor loss point, but there was a positive correlation between  $P_{50}$  and the elastic modulus ( $r^2 = 0,73$ ) and the osmotic potential in full turgor ( $r^2 = 0,57$ ). Concerning the anatomical characteristics related to strengthening mechanism at the level of vessels, there was no relationship between  $P_{50}$  and the values of  $(t/b)^3$  (ratio between cell wall thickness and vessel lumen diameter). On the other hand, there were significant correlations between  $P_{50}$  and parameters such as diameter of xylem conduits ( $r^2 = 0,6$ ) and the theoretical conductivity of xylem ( $r^2 = 0,41$ ). In sum, the results indicate that genotypes of *Coffea* spp. exhibit characteristics that give them a medium to high drought tolerance, and that the relatively low hydraulic efficiency competes, ultimately, to limit the photosynthetic potential of the coffee.

## 1. Introdução

A fotossíntese é o processo central de fornecimento de fotoassimilados e energia para as plantas, sendo um dos maiores fatores limitantes da produtividade líquida das espécies cultivadas (Lloyd et al., 1992). Por figurar-se como uma ferramenta valiosa para fins agrônômicos, a compreensão das causas da variabilidade na capacidade fotossintética é de suma importância para o avanço em conhecimentos visando ao aumento do rendimento das plantas, sobretudo no âmbito das espécies perenes.

As plantas perenes sempre-verdes normalmente apresentam baixas taxas de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) em relação à das herbáceas e decíduas, apresentando valores de A frequentemente inferior a 20 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Lloyd et al., 1992). A capacidade fotossintética de qualquer planta é dada pela oferta e demanda por CO<sub>2</sub>, bem como pela capacidade intrínseca de fixação do CO<sub>2</sub>. Os fatores limitantes à fotossíntese podem ser de ordem bioquímica ou difusiva; a limitação bioquímica refere-se aos aspectos inerentes à fixação cloroplastídica de CO<sub>2</sub>, enquanto a difusiva está relacionada às resistências estomática e mesofílica que o CO<sub>2</sub> encontra à sua difusão, desde a atmosfera, passando pelos espaços intercelulares, até atingir os sítios de carboxilação no estroma cloroplastídico (Flexas et al., 2008).

Estudos mais recentes têm demonstrado o papel da eficiência hidráulica e da densidade de venação (D<sub>v</sub>) como determinantes do potencial fotossintético (Brodribb et al., 2007; 2010). Essas características são responsáveis pela capacidade da planta em reidratar os tecidos foliares durante o processo de trocas gasosas, quando ocorre a entrada de CO<sub>2</sub>, às custas da saída de vapor d'água, através dos poros estomáticos. Quanto maior for a capacidade de reidratação, maior será o potencial para manutenção de elevada condutância estomática (g<sub>s</sub>) e, conseqüentemente, maior influxo de CO<sub>2</sub> para o processo fotossintético (Brodribb, 2009). Nesse sentido, o principal fator apontado como responsável pela limitação à capacidade fotossintética seria a alta resistência hidráulica que a folha apresenta (Sack & Holbrook, 2006), o que impõe significantes restrições à maximização de g<sub>s</sub> (Brodribb et al., 2005). Tal evento pode ser explicado pelo fato de a água e o CO<sub>2</sub> compartilharem uma importante porção de seus respectivos caminhos de difusão através do mesófilo (Ferrio et al., 2012). Em todo o caso, em nível foliar, o fluxo de água ocorre através de nervuras, e destas, para a bainha do feixe, através de rotas apoplásticas ou simplásticas, e daí para os espaços intercelulares, quando, enfim, a água é transpirada através dos estômatos. Saliente-se que, em condições de seca, o fluxo de

água obviamente diminui, com queda de condutividade hidráulica foliar ( $K_f$ ), que pode ser concomitante com a do potencial hídrico, devido às perdas de condutividade resultantes da cavitação e/ou colapso de condutos do xilema; essa resposta leva ao fechamento estomático para evitar dessecação da folha (Brodribb et al., 2010; Scoffoni et al., 2011), o que culmina na consequente queda de  $A$ .

Características como  $K_f$  e  $D_v$ , que atuam, juntamente com outros fatores, na determinação da capacidade hidráulica foliar, têm sido cada vez mais estudadas e vêm apresentando resultados importantes para a compreensão dos eventos determinantes do potencial fotossintético, tanto em gimnospermas como em angiospermas (Brodribb et al., 2007, 2010; Blackman et al., 2010). Brodribb et al. (2007) investigaram como o transporte de água e as taxas fotossintéticas em folhas estão relacionados com o arranjo espacial de vasos no mesofilo foliar. Para isso, tomaram uma grande diversidade de espécies, desde musgos até angiospermas de porte alto, a fim de compreender esse princípio hidráulico entre distintos grupos evolutivos e filogenéticos de plantas. Aqueles autores observaram que as adaptações que foram surgindo em determinados grupos de plantas permitiram uma maior capacidade fotossintética associada diretamente a uma maior capacidade hidráulica. As angiospermas, por exemplo, encontram-se num patamar em que  $K_f$  e  $A$  já estão próximos de seus limites máximos, logo aumentos em  $K_f$ , por exemplo, não irão levar a grandes aumentos em  $A$ , diferentemente do que ocorre em coníferas e samambaias.

Além de sua importância enquanto fator determinante na produtividade das plantas, a arquitetura hidráulica foliar também desempenha papel relevante na resposta a estresses ambientais (Brodribb et al., 2010). Assim, em condições de seca, as folhas apresentam vulnerabilidade à embolia e à cavitação, o que compromete sua capacidade de transporte de água. A vulnerabilidade hidráulica foliar é quantificada em termos de  $P_{50}$ , o qual é expresso como o valor de potencial hídrico associado à redução de  $K_f$  em 50%, quando comparado a valores de condutividade medidos em folhas sob turgescência plena (Nardini et al., 2012). Em estudo realizado por Scoffoni et al. (2011), compararam-se resultados teóricos de uma simulação com resultados experimentais de vulnerabilidade hidráulica foliar, tamanho foliar,  $D_v$  e outros aspectos de tolerância à seca, entre espécies com diversidades múltiplas em relação à forma/tamanho foliar e sensibilidade à seca; entre as 10 espécies de angiospermas estudadas, os autores demonstraram que folhas menores exibem maior  $D_v$ . Isso permite inferir que

espécies com folhas menores apresentariam maior eficiência e menor vulnerabilidade hidráulica, uma vez que a maior rede de nervação permitiria uma reidratação mais efetiva dos tecidos que perdem água durante o processo de trocas gasosas, concorrendo para menor risco de embolia ou cavitação. Além disso, as folhas menores também apresentaram os valores mais baixos de  $P_{50}$ , o que lhes conferiria maior resistência hidráulica.

O cafeeiro é uma espécie tropical que evoluiu em ambientes sombreados de florestas africanas e vem sendo cultivada em cerca de 80 países, figurando-se como um dos produtos agrícolas mais negociados do mundo. A venda de café gera mais de US \$90 bilhões a cada ano e é a base econômica de muitos países tropicais em desenvolvimento. O gênero *Coffea* compreende mais de 100 espécies, dentre as quais *C. arabica* L. e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner são responsáveis por, aproximadamente, 99% da produção mundial em grão (DaMatta & Ramalho, 2006) enquanto *C. liberica* Hiern responde por cerca de 1% da produção. Em vários estudos, têm-se explorado características morfoanatômicas (Pinheiro et al., 2005; Dias et al., 2007; Cavatte et al., 2012), fisiológicas (DaMatta 2004; Martins et al., 2014) e bioquímicas de diferentes genótipos de *C. arabica* e *C. canephora*, com o objetivo de identificarem-se caracteres-chave na resistência à seca, com potencial uso no melhoramento e na seleção de cultivares, face ao progressivo aumento de temperatura e mudanças no padrão de precipitação em regiões produtoras de café (DaMatta et al., 2003; Nardini et al., 2014). Entretanto, pouco ainda se sabe, em termos de características hidráulicas entre diferentes espécies ou genótipos de café, e suas relações com as trocas gasosas, apesar de sua incontestável importância daquelas características na adaptação das plantas ao ambiente e na manutenção da produtividade.

Outro aspecto importante em café, a exemplo do que ocorre com a maioria das espécies lenhosas (Lloyd et al., 1992), concerne aos seus baixos valores de  $A$  (DaMatta, 2003), mesmo sob condições ótimas de cultivo. Nesse sentido, as limitações difusivas têm sido preponderantes na explicação dessa baixa eficiência fotossintética (Araújo et al., 2008). No entanto, estudos recentes têm apontado  $K_f$  e  $D_v$  como grandes determinantes para a limitação do potencial fotossintético em café (Martins et al., 2014, Nardini et al., 2014). Especificamente para *C. arabica* L. cv Catuaí Vermelho IAC 44, Martins et al. (2014) mediram uma variedade de características anatômicas/hidráulicas e fotossintéticas. Os valores de  $K_f$  encontrados (6,9 e 10,9  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$  em folhas de plantas à sombra e ao sol, respectivamente) são

consideravelmente inferiores àqueles usualmente registrados em outras perenes tropicais por Brodribb et al. (2005) (entre 17 e 36  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ). Os valores de  $D_v$  também foram baixos, consistentes com os de  $K_f$ . Tais resultados sugerem que a arquitetura hidráulica das folhas de café impõe forte resistência ao fluxo de água que, por sua vez, deve limitar a difusão de  $\text{CO}_2$  na folha (Brodribb, 2009) e, conseqüentemente, limitar a maximização das taxas fotossintéticas. Resta demonstrar o quão geral são essas observações para diferentes genótipos de cafeeiros.

Apesar de a maioria dos estudos tratarem de relações interespecíficas, resultados da literatura mostram que a variação da vulnerabilidade hidráulica do xilema à cavitação existe também em nível intraespecífico (Neufeld et al., 1992). Genótipos comerciais de café apresentam uma ampla variabilidade morfológica, como diferenças em tamanho foliar (Tausend et al., 2000) e  $D_v$  (Nardini et al., 2014), sugerindo, portanto, que diferenças significativas podem existir entre variedades em termos de capacidade e vulnerabilidade hidráulica. Ao investigarem diferentes cultivares de café, Nardini et al. (2014) avaliaram parâmetros como  $D_v$ ,  $K_f$  e  $P_{50}$ . Dentre os quatro genótipos avaliados, os que apresentaram folhas menores exibiram também maior  $D_v$  e  $K_f$  e, como consequência, menor vulnerabilidade à cavitação (menor  $P_{50}$ ) em condições de seca. No entanto, ao se compararem os valores de  $P_{50}$  (-0,61 a -1,21 MPa) com os respectivos valores de potencial hídrico no ponto de perda de turgescência ( $\Psi_{\text{PPT}}$ ) (-0,77 a -1,71 MPa), observam-se valores mais negativos de  $\Psi_{\text{PPT}}$  que de  $P_{50}$ . Tal fato leva ao questionamento de como seria possível uma planta perder a capacidade de condutividade hidráulica e, mesmo assim, manter suas células com relativa turgidez? Nesse sentido, um fator ainda a ser esclarecido reside na relação entre o  $\Psi_{\text{PPT}}$  obtido mediante curvas pressão-volume (PV) e o  $P_{50}$  obtido por meio das curvas de vulnerabilidade, dado que esses valores aparentam ser coordenados em diferentes espécies de angiospermas (Blackman et al., 2010). Logo, resta confirmar os intrigantes resultados obtidos por Nardini et al. (2014) ou se estes podem ter sido função de artefatos presentes no método para construção de curvas de vulnerabilidade, como discutido em Blackman & Brodribb (2011). Além disso, os valores de  $K_f$  encontrados por Nardini et al. (2014) (3,2 a 4,9  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ) diferem significativamente daqueles de Martins et al. (2014) (6,9 e 10,9  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ). Ambos os autores usaram o método de cinética de reidratação, o qual emprega a capacitância ( $C_{\text{folha}}$ ) oriunda de curvas PV. De acordo com Blackman & Brodribb (2011), o uso de  $C_{\text{folha}}$  pode

superestimar os valores de  $K_f$  porque não representaria a capacitância dos tecidos que estão em contato direto com o fluxo transpiratório. Assim, no presente estudo, a técnica empregada (fluxo medido diretamente, e não estimado) não é influenciada por medidas de  $C_{folha}$  e, portanto, resultados mais consistentes são esperados. Em todo o caso, a comparação entre os valores de  $C_{folha}$  obtidos das curvas PV com os valores de  $C_{folha}$  obtidos com o medidor de fluxo permitem inferências sobre arquitetura e compartimentalização hidráulica nas variedades de *Coffea*, conforme a serem estudadas.

Há uma ampla gama de variabilidade morfológica foliar entre genótipos de café, em que a área foliar pode variar de 27 a 236 cm<sup>2</sup> em *C. racemosa* e *C. liberica*, respectivamente (dados não publicados). Além da morfologia externa, esperam-se que outros fatores também apresentem grande diversidade, como  $D_v$ , diâmetro e frequência de condutos do xilema e valores de  $P_{50}$  (Nardini et al., 2014, Martins et al., 2014). Saliente-se que lacunas consideráveis ainda existem sobre eficiência hidráulica em café, bem como pouco se sabe sobre as inter-relações entre características hidráulicas foliares e características morfoanatômicas, e como tais características são associadas, com vistas à maximização das trocas gasosas em café. Diante disso, pretendeu-se, neste estudo, explorar a variabilidade morfológica, hidráulica e fisiológica de oito genótipos de café, distintos entre si em várias características, como área foliar específica, área foliar unitária,  $D_v$ , porte das plantas, dentre outras, a fim de se compreender como interagem entre si os principais fatores hidráulicos limitantes da fotossíntese no cafeeiro. Para tal, compararam-se diferentes genótipos de café, incluindo-se aí genótipos/espécies de *Coffea* spp. evoluídos em ambientes distintos no que respeita à disponibilidade hídrica, bem como cultivares antigas e modernas de café. Especificamente, procurou-se:

- determinar se há correlação positiva entre  $K_f$ ,  $g_s$  e  $A$ ;
- identificar características morfológicas e anatômicas associadas a uma maior eficiência hidráulica;
- acessar a extensão da vulnerabilidade à cavitação em *Coffea* e estimar margens de segurança hidráulicas;
- investigar a coordenação entre parâmetros hidráulicos e de relações hídricas, especialmente a relação entre  $P_{50}$  e  $\Psi_{PPT}$ .

## **2. Material & Métodos**

### **2.1. Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental**

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°54'W, 650 m altitude), Minas Gerais, em um banco de germoplasma mantido pela Universidade Federal de Viçosa. Foram utilizados oito materiais genéticos pertencentes a quatro espécies, incluindo híbridos: *Coffea arabica* (cv 'Catuaí Vermelho IAC 44', atualmente uma das cultivares de *C. arabica* mais plantadas no Brasil, e cv 'Maragogipe', uma cultivar não melhorada e sem importância econômica, derivada da var. 'Typica' introduzida no Brasil no século XVIII); *C. canephora* (cv 'Apoatã' e cv Conilon; essas cultivares se diferem entre si pelo tamanho da folha (significativamente maior em Apoatã) e pela tolerância à seca (maior em Conilon), dentre outros fatores); *C. liberica* (cultivada em algumas regiões da Ásia, trata-se de uma espécie com porte arbóreo (atingindo até 18 m de altura) e folhas relativamente muito grandes, originária de ambientes mais úmidos); *C. racemosa* Lour. (espécie sem interesse comercial, originária de ambientes mais secos, de porte baixo e copa fechada, com folhas muito pequenas.); Híbrido de Timor (híbrido natural de *C. arabica* e *C. canephora*) e Catimor (híbrido resultante do cruzamento entre *C. arabica* cv 'Caturra Vermelho' e Híbrido de Timor). As plantas vêm sendo cultivadas em lavoura sem irrigação e submetidas a tratamentos culturais (capinas, adubação, controle de pragas e doenças etc.) segundo recomendações agronômicas usuais para a cultura. As medições fisiológicas e amostragens foram feitas entre outubro de 2014 e abril de 2015, período que corresponde à estação chuvosa e quente (estação de crescimento). Cada unidade experimental foi constituída por uma planta, selecionando-se seis indivíduos para cada espécie/cultivar, quanto à uniformidade e vigor. Todas as medições e amostragens foram feitas em folhas jovens completamente expandidas, do terceiro ou quarto par, a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, localizados no terço mediano das plantas.

### **2.2. Relações hídricas, trocas gasosas e medições de fluorescência**

Potencial hídrico foliar ( $\Psi_{\text{folha}}$ ) e xilemático ( $\Psi_{\text{xilema}}$ ) e parâmetros de trocas gasosas foram simultaneamente medidos utilizando-se de folhas completamente expandidas do terceiro ou quarto par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, às 8:00 h, 12:00 h e 16:00 h, em dias claros, sem nuvens. Para a execução *in situ* dessas medições, duas folhas adjacentes foram utilizadas, uma para estimar-se  $\Psi_{\text{xilema}}$ , e a outra, para medidas de trocas gasosas (abaixo

descritas) e  $\Psi_{\text{folha}}$ . As folhas usadas para a estimativa do  $\Psi_{\text{xilema}}$  foram encerradas em um saco plástico transparente de fecho hermético (ziplock) contendo papel toalha umedecido em seu interior e, posteriormente, envolvida com papel alumínio, para garantir o equilíbrio entre o  $\Psi_{\text{folha}}$  e o  $\Psi_{\text{xilema}}$ . Enquanto procedeu-se com a medição de trocas gasosas, a folha coberta foi coletada e armazenada numa caixa de isopor hermética para posterior medição do potencial hídrico no laboratório, presumivelmente correspondente ao  $\Psi_{\text{xilema}}$ . Imediatamente após a coleta de dados das trocas gasosas, a folha descoberta foi coletada, envolta em papel umedecido e também armazenada na caixa hermética para posterior determinação do  $\Psi_{\text{folha}}$ , utilizando-se de uma bomba de pressão tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA).

Para a construção das curvas pressão-volume (curvas PV), folhas foram coletadas no período da manhã e se seus respectivos pecíolos imersos em água destilada por, no mínimo, 1 h. Após esse período para reidratação, procedeu-se com a medida do potencial hídrico inicial ( $\Psi_0$ ). Folhas com  $\Psi_0 < -0,1$  MPa foram descartadas. As folhas com  $\Psi_0 > -0,1$  MPa foram então imediatamente pesadas numa balança digital e perdiam água na bancada antes de terem o  $\Psi_{\text{folha}}$  e peso medidos novamente. Medições foram repetidas até que a relação entre o inverso do potencial hídrico e o teor relativo de água se tornasse estritamente linear, o que indica que a turgescência tenha sido perdida e, assim, as variações no  $\Psi_{\text{folha}}$  passam a ser governadas tão somente por mudanças no potencial osmótico, ou seja, sem contribuições do potencial de pressão. No final das medições, as folhas foram secas a 70°C, até massa constante, a fim de obterem-se suas massas secas. A partir dessas curvas, o potencial osmótico em turgescência plena ( $\Psi_{\pi(100)}$ ), o  $\Psi$  no ponto de perda de turgescência ( $\Psi_{\text{PPT}}$ ), o teor relativo de água no ponto de perda de turgescência ( $\text{TRA}_{\text{PPT}}$ ), o conteúdo saturado de água (CSA), a capacitância foliar ( $C_{\text{folha}}$ ) e o módulo global de elasticidade ( $\epsilon$ ) foram estimados. O CSA aqui apresentado foi obtido por meio da razão entre o conteúdo saturado de água (estimado a partir da extrapolação entre ‘massa de água’ (g) e potencial hídrico (MPa)) e a massa seca foliar (g). Os valores  $C_{\text{folha}}$  foram calculados a partir do início da curvatura da relação entre potencial hídrico (MPa) e TRA (%), expressos em termos absolutos e normalizados pela área foliar. Para isso, a seguinte equação foi utilizada:

$$C_{\text{folha}} = \Delta \text{TRA} / \Delta \Psi_{\text{folha}} (\text{MS}/\text{Af}) (\text{MA}/\text{MS}) / M$$

em que MS é a massa seca foliar (g), Af é a área foliar unitária, MA é a massa de água na folha a 100% do TRA (g) e M é a massa molar da água ( $\text{g mol}^{-1}$ ). Foram obtidos os valores de capacitância foliar em turgescência plena ( $C_{\text{TP-PV}}$ ) e após o ponto de perda de turgescência ( $C_{\text{PPT-PV}}$ ).

Parâmetros de trocas gasosas foram determinados simultaneamente com as medições de fluorescência da clorofila (Chl) a, sob condições de campo, utilizando-se do sistema de trocas gasosas (LI-6400XT) equipado com uma câmara integrada de fluorescência (LI-6400-40, LICOR Inc.). A taxa líquida de assimilação de  $\text{CO}_2$  (A), a condutância estomática ao vapor de água ( $g_s$ ) e a concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) foram medidas em folhas anexas, sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) artificial, isto é,  $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  em nível das folhas, e  $400 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ . Todas as medições foram realizadas em condições ambientes de temperatura e déficit de pressão de vapor.

Depois de registrarem-se os parâmetros de trocas gasosas, o estado estacionário de rendimento de fluorescência ( $F_s$ ) foi medido após aplicar-se um pulso de luz branca saturante ( $8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 0,8 s) para obter-se a fluorescência máxima do tecido foliar adaptado à luz ( $F_m'$ ). A luz actínica foi então desligada e uma iluminação vermelho-distante foi aplicada ( $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para medir a fluorescência inicial do tecido foliar adaptado à luz ( $F_0'$ ). A eficiência fotoquímica real do fotossistema (FS) II ( $\phi_{\text{FSII}}$ ) foi determinada seguindo os procedimentos de Genty et al. (1989). A taxa de transporte de elétrons (TTE) foi então calculada a partir da equação  $\text{TTE} = \phi_{\text{FSII}} \beta \alpha \text{PPFD}$ , em que  $\alpha$  é a absortância foliar e  $\beta$  reflete o particionamento de elétrons absorvido entre os FS II e I. O produto  $\beta \alpha$  foi determinado para café por Martins et al. (2014).

### **2.3. Curvas de vulnerabilidade e condutividade hidráulica foliar**

As curvas de vulnerabilidade (CV) à cavitação foram realizadas conforme o protocolo padrão descrito em Brodribb & Cochard (2009). Resumidamente, ramos plagiotrópicos foram destacados de seis plantas e colocados para secar em bancada, determinando-se a condutividade hidráulica foliar ( $K_f$ ) a intervalos de 0,25 MPa, por meio da medição do fluxo de água em folhas reidratadas. Para tal, uma das folhas do ramo foi excisada com o seu pecíolo imerso em água e imediatamente conectada a um medidor de fluxo com a taxa de absorção gravada a cada 5 s, ao longo de 120 s. Após esse período, a folha foi desconectada e imediatamente coberta com um papel úmido, sendo então transferida para uma bomba de

pressão tipo Scholander, medindo-se, pois, o potencial hídrico ( $\Psi_{\text{folha}}$ ). O  $K_f$  foi determinado em dois pontos correspondentes aos  $\Psi_{\text{folha}}$  inicial e final usando-se da seguinte equação:

$$K_f = - I / A_f \Psi_{\text{folha}}$$

em que  $I$  = taxa de fluxo instantâneo de água dentro da folha ( $\text{mmol s}^{-1}$ ),  $A_f$  = área foliar ( $\text{m}^2$ ).

A relação entre o  $\Psi_{\text{folha}}$  e  $K_f$  foi utilizada para determinar o  $P_{50}$  ( $\Psi_{\text{folha}}$  no qual ocorre 50% de redução em  $K_f$ ) a partir de uma curva sigmoideal ajustada aos dados combinados. A margem de segurança hidráulica (MSH) foi determinada pela diferença entre o valor mais negativo do  $\Psi_{\text{folha}}$  medido ao longo do dia (8:00 h, 12:00 h e 16:00 h), denominado  $\Psi_{\text{mín}}$ , e o  $P_{50}$ .

$$\text{MSH}_{50} = \Psi_{\text{mín}} - P_{50}$$

Para determinação do  $K_f$  por meio do método de fluxo evaporativo (Sack et al., 2002; Brodribb & Holbrook 2006), as folhas foram medidas entre 8:00 h e 16:00 h. Os ramos foram coletados em campo e levados ao laboratório, onde as folhas foram destacadas e logo em seguida voltaram a ser cortadas debaixo d'água. Folhas inteiras foram então encerradas em uma câmara de coníferas opaca e iluminada (Li 6400-22L), conectada a um sistema aberto portátil de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE, EUA). As medições foram realizadas sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de  $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , em nível de folha, e  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{ar}$ . Todas as medidas foram realizadas a  $25^\circ\text{C}$  e o déficit de pressão de vapor foi mantido em 1,0 kPa. As folhas permaneceram na câmara até atingirem um estado estacionário de transpiração (variação inferior a 10% ao longo de 180 s) e o fluxo de transpiração resultante foi gravado. O potencial hídrico foliar foi medido com uma bomba de pressão tipo Scholander e  $K_f$  foi então calculada usando-se da seguinte equação:

$$K_f = -E / \Psi_1$$

em que  $E$  é o fluxo de transpiração e  $\Psi_1$  é o potencial hídrico da folha em condições estáveis. A área da folha foi medida utilizando um digitalizador de mesa, em combinação com o software ImageProPlus (Image Pro-Plus, version 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, USA). Durante o processamento do método de fluxo evaporativo, os dados de trocas gasosas foram registrados e usados para avaliação do desempenho dos materiais sob condições presumivelmente ótimas.

A  $C_{\text{folha}}$  foi calculada como o volume de água absorvido por uma folha conectada ao medidor de fluxo durante uma transição de um  $\Psi_o$  a um  $\Psi_f$ , de acordo com a equação seguinte:

$$C_{\text{folha}} = \sum F / (\Psi_o - \Psi_f)$$

em que  $\sum F$  é a soma de fluxo de água para a folha durante a reidratação, ajustado para área foliar e temperatura;  $\Psi_o$  é o potencial hídrico inicial (MPa) e  $\Psi_f$  é o potencial hídrico final (MPa). Foram obtidos os valores de capacitância foliar em turgescência plena ( $C_{\text{TP-MF}}$ ) e após o ponto de perda de turgescência ( $C_{\text{PPT-MF}}$ ).

#### 2.4. Características morfológicas e anatômicas

As folhas colhidas foram fixadas em FAA<sub>70</sub> durante 48 h, seguida por armazenamento em etanol aquoso 70% (v/v). As amostras da região mediana de cada lâmina da folha foram embebidas em metacrilato (Historesin-Leica Microsystems Nussloch, Heidelberg, Alemanha), de acordo com o fabricante. Cortes transversais (espessura 7 mm), obtidos utilizando-se um micrótomo rotativo (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, EUA), foram corados com azul de toluidina a pH 4,0 e montados em resina sintética (Permount). Os seguintes dados anatômicos foram quantificados utilizando-se de um programa de análise de imagens (Image Pro-Plus, versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA): (i) espessura dos parênquimas paliçádico (PP) e lacunoso (PL); (ii) densidade estomática (DE, de acordo com DaMatta et al., 1997); (iii) espessura da parede celular (t) e diâmetro do lúmen (b) de células do xilema da nervura central (nc) e de veias minoritárias (vm, veias de quarta e quinta ordem) para posterior cálculo das seguintes razões:  $(t/b)^3_{\text{nc}}$  (razão entre espessura da parede celular e diâmetro do lúmen dos vasos da nervura central) e  $(t/b)^3_{\text{vm}}$  (razão entre espessura da parede celular e diâmetro do lúmen dos vasos de veias minoritárias).

Conduitos da nervura central do xilema foram medidos para determinar a condutância hidráulica axial teórica ( $K_t$ ) e foram tratados como elipses para calcular  $K_t$ , como:

$$K_t = \sum [\pi a^3 b / 64 \eta (a^2 b^2)]$$

em que a e b são os diâmetros internos maior e menor dos conduitos, e  $\eta$  é a viscosidade da água a 25°C (Lewis et al., 1995), normalizados pelo comprimento e área foliar.

Para determinação de  $D_v$ , fragmentos da parte central da lâmina foliar foram selecionados a partir de material a fresco e lavados várias vezes em água destilada para o processo de clarificação. Em seguida, as amostras foram imersas em hidróxido de sódio (NaOH) a 10%, por 2 h, e novamente lavadas em água destilada para remover o NaOH da superfície foliar. As folhas foram então colocadas em hipoclorito de sódio a 20%, até que o material ficasse totalmente translúcido. Terminado o processo de clarificação, as amostras

foram lavadas sucessivas vezes em água destilada, para a remoção completa do alvejante. Após esse procedimento, foram coradas com safranina e violeta cristal, por aproximadamente 12 h, em estufa, a 60°C, período necessário para que ocorresse coloração intensa do material. Em seguida, procedeu-se com a lavagem em água destilada para retirada do excesso de corante, seguida por imersão em etanol 50% e desidratação do material passando por etanol 50, 60, 70, 80, 90 e 100%, por um período de 5 min cada, e posteriormente imersão em série xilólica (etanol + xilol 3:1, etanol + xilol 1:1, etanol + xilol 1:3), xilol I e II, durante 5 min, cada. As lâminas histológicas com fragmentos de 60 mm foram montadas em Permount e colocadas para secar à temperatura ambiente. Quando prontas, as lâminas foram observadas em uma magnificação de 32X com o auxílio de microscópio de luz (modelo AX70TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) equipado com sistema U-Photo. As imagens foram digitalizadas e analisadas mediante o software Image Pro-Plus (version 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA), e  $D_v$  foi estimada por meio da razão entre o comprimento total de venação pela superfície de área foliar.

Foram ainda determinadas a área foliar específica (AFE) e a área foliar unitária.

### 3. Resultados

A taxa máxima de assimilação líquida de carbono ( $A$ ) variou consideravelmente entre as variedades de café avaliadas, de 4,9 (Maragogipe) a 12,7  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Apoatã), às 8:00 h. Às 16:00 h,  $A$  diminuiu drasticamente em quase todas os genótipos, exceto em *C. racemosa* e *C. liberica*, cujos valores de  $A$  pouco variaram ao longo do dia (média de 6,5 e 4,7  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente) (Figura 1A). Ressalte-se que as plantas dessas duas espécies estão em um ambiente mais sombreado em relação ao das demais e, assim, sob menor variação do déficit de pressão de vapor (DPV) (Figura 1E) ao longo do dia; são, dessa forma, capazes de manter outros parâmetros como condutância estomática ( $g_s$ ), taxa de transpiração ( $E$ ) e concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) também razoavelmente constantes em todos os horários avaliados (Figuras 1B, 1C e 1D). Por outro lado, os menores valores de  $A$  e  $g_s$ , às 8:00 h, nas cultivares Maragogipe e Catimor, quando comparados aos das demais cultivares, parecem estar associados ao alto DPV naquele horário. Além disso, aquelas duas cultivares exibiram os menores valores de potencial hídrico (Figura 1I e 1J). As cultivares H. Timor e Catuaí apresentaram valores de  $A$  ( $\sim 9 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) semelhantes aos de Apoatã e Conilon ( $\sim 11 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) às 8:00 h, mas com menores valores de  $g_s$ , o que se refletiu numa maior

eficiência intrínseca do uso da água ( $A/g_s$ ) quando comparadas a Apoatã e Conilon (Figuras 1A, 1B e 1F).

De maneira geral, todos os genótipos mantiveram um padrão em relação à taxa de transporte de elétrons às 8:00 h e 12:00 h e queda considerável às 16:00 h (Figura 1G). Não houve diferença significativa em relação à eficiência de captura de energia dos centros de reação do FSII, sendo que *C. racemosa* e *C. liberica* exibiram os maiores valores ao longo do dia (Figura 1H).

Quando avaliadas em condições presumivelmente ótimas para a maximização das trocas gasosas as diferenças genotípicas dos vários parâmetros medidos (e.g.,  $A$ ,  $g_s$ ) foram grandemente reduzidas; destaque-se um desempenho claramente superior da magnitude das trocas gasosas nessas condições, especialmente em Maragogipe e Catimor, em relação ao desempenho dessas cultivares em condições de campo (Figura 2).

Os  $\Psi_{\text{folha}}$  e  $\Psi_{\text{xilema}}$  demonstraram consistência entre si, já que os xilemáticos exibiram valores maiores em todos os horários. As cultivares H. Timor e Catuaí tiveram os maiores valores de potencial hídrico foliar ao meio-dia, -1,24 e -1,27 MPa, respectivamente; os valores de potencial hídrico do xilema ao meio-dia para essas cultivares foram -1,13 e -1,00 MPa, respectivamente (Figuras 1I e 1J).

As variáveis de relações hídricas obtidas das curvas PV (e.g.,  $\Psi_{\pi(100)}$ ,  $\Psi_{\text{PPT}}$ ,  $\text{TRA}_{\text{PPT}}$ ) de modo geral, mostraram-se com valores conservados entre os genótipos. Mesmo no caso de CSA e  $\epsilon$ , por exemplo, as variações genotípicas foram relativamente estreitas;  $\epsilon$  foi 23% maior em Maragogipe (16,4) que em Conilon e *C. liberica* (12,6), por exemplo, enquanto o CSA variou de um máximo de 2,23 (*C. racemosa*) a um mínimo de 1,53 (Apoatã) (Tabela 1). Em relação à capacitância foliar, Catimor exibiu o menor valor de  $C_{\text{PPT-PV}}$  ( $228 \pm 76 \text{ mmol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$ ) e *C. liberica* e *C. racemosa* os maiores ( $\sim 500 \text{ mmol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$ ). As demais variedades apresentaram valores em torno de  $300 \text{ mmol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$  (Tabela 2).

A distribuição da frequência de diâmetros dos vasos do xilema foliar apresentou padrões variáveis entre os genótipos avaliados (Figura 3). A maior quantidade de vasos e maior proporção de diâmetros superiores foi exibida pelo *C. liberica*, em que 35% do número de vasos (NV) foram maiores que  $19 \mu\text{m}$ . Em contrapartida, *C. racemosa* exibiu 99% de NV menor que  $19 \mu\text{m}$ . As duas cultivares de *C. canephora*, Conilon e Apoatã, tiveram uma distribuição de vasos similares e, juntamente com *C. liberica*, exibiram os maiores valores de

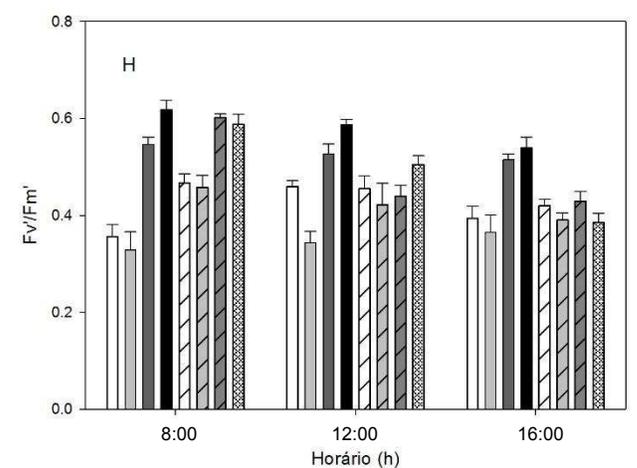
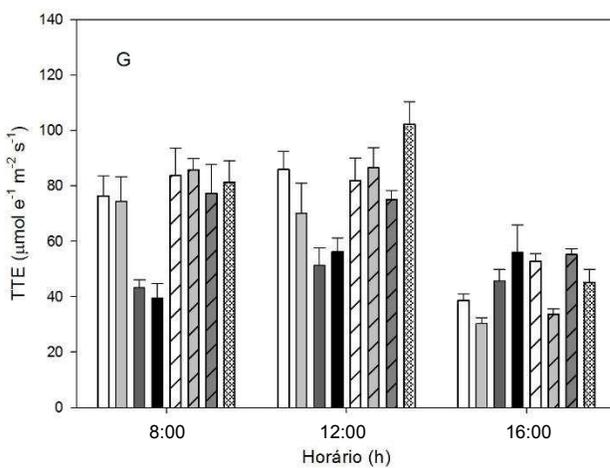
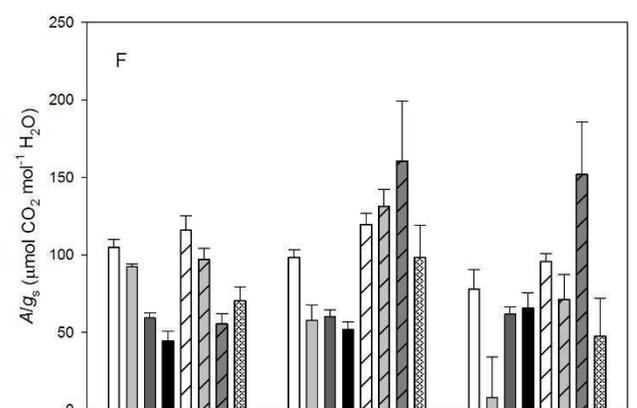
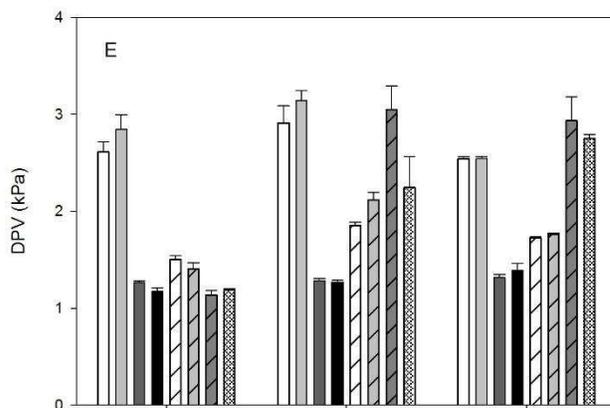
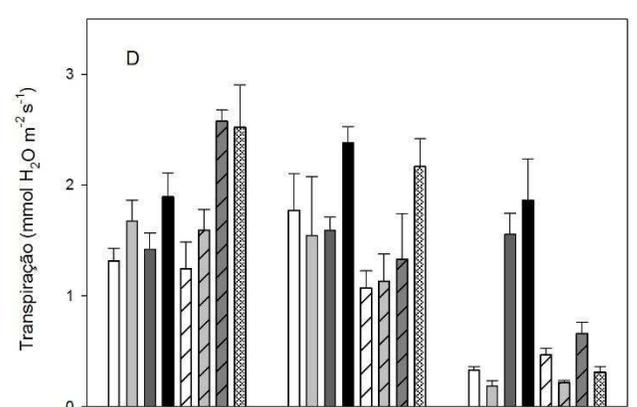
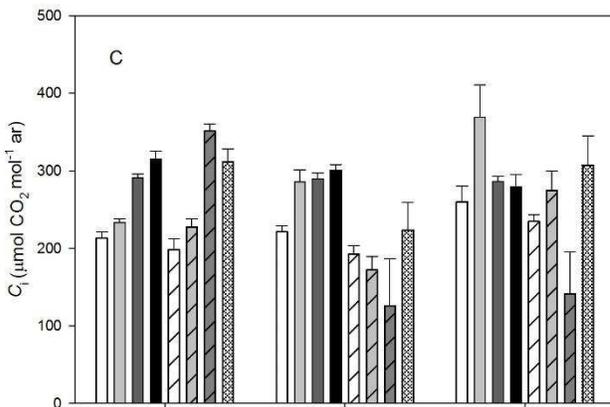
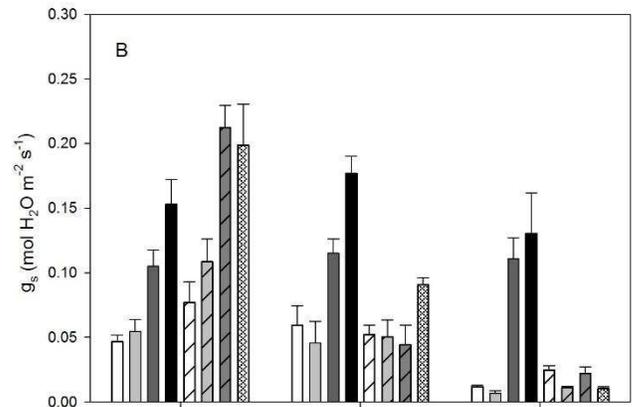
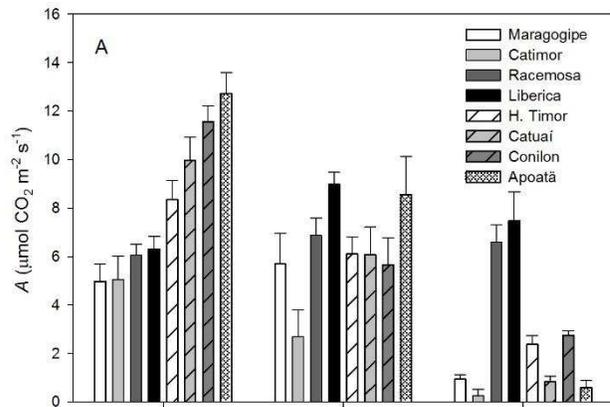
$D_h$ . Além de  $D_h$ , as duas cultivares de *C. canephora* também exibiram valores superiores para outras características hidráulicas, tais como  $K_t$ ,  $D_v$  e NV, além da alta DE em ambas (Tabela 3).

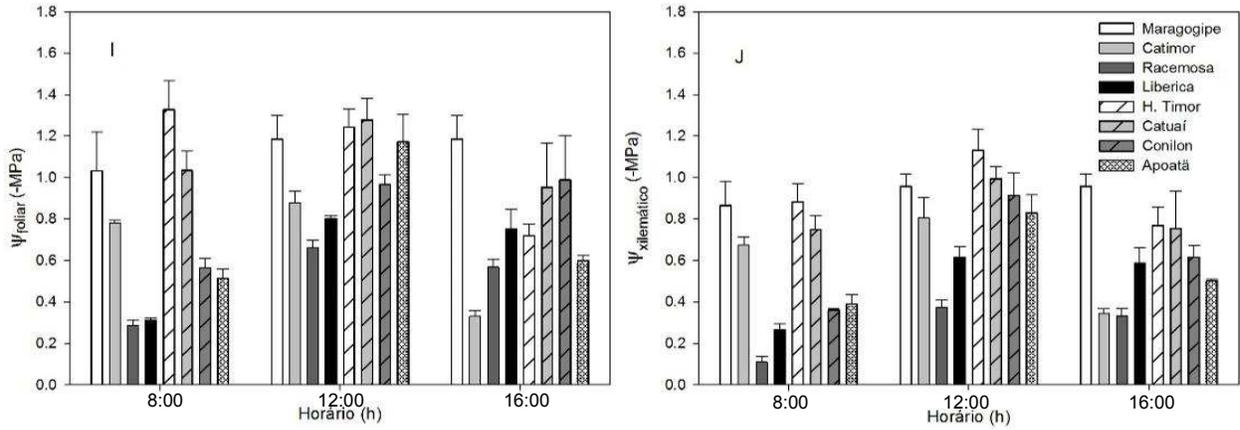
Em geral, as curvas de vulnerabilidade hidráulica foliar seguiram um comportamento sigmoidal, com  $K_f$  diminuindo gradualmente em função do potencial hídrico foliar (Figura 4). Houve alta variabilidade entre os valores de  $K_f$ - CV, os quais não apresentaram correlação com A e  $g_s$ , sendo que o  $K_f$  de *C. racemosa* ( $4,76 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) foi 76% mais elevado que o de Maragogipe ( $1,03 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (Tabela 1). Os valores de  $K_f$  obtidos por meio dos dois métodos (método do fluxo evaporativo – MFE e curvas de vulnerabilidade – CV) foram altamente correlacionados entre si ( $r^2=0,88$ ). O  $K_f$ - MFE de *C. liberica* e Apoatã não foram medidos, pois não foi possível aplicar tal método para esses genótipos devido a câmara de coníferas não ter dimensões suficientes para comportar suas grandes áreas foliares. Não houve correlação entre  $K_f$  e as características de arquitetura hidráulica  $D_v$  e PP/PL. Os valores de  $P_{50}$  variaram consideravelmente, de -3,33 MPa em *C. racemosa* a -1,88 MPa, em *C. liberica*. É importante salientar que as curvas de vulnerabilidade dos genótipos Maragogipe, Catimor e H. Timor foram marcadas por uma grande dispersão dos dados, dificultando uma estimativa confiável dos valores de  $P_{50}$ , mas ainda sendo possível identificarem-se regiões onde a prevalência de altos valores de  $K_f$  foi drasticamente reduzida (exceto Maragogipe), provavelmente indicando regiões de perda de condutividade (linha vertical nos gráficos da Figura 4) (os dados da cv. Maragogipe foram excluídos em todas as correlações envolvendo  $P_{50}$ ).

Houve correlação positiva ( $r^2=0,84$ ) entre Af e  $P_{50}$ . Em termos de coordenação entre parâmetros hidráulicos e de relações hídricas não houve relação entre valores de  $P_{50}$  e  $\Psi_{PPT}$ , mas houve para o  $\varepsilon$  ( $r^2=0,73$ ) e  $\Psi_{\pi(100)}$  ( $r^2=0,57$ ), quando se excluiu Maragogipe e Catuaí. As margens de segurança hidráulica foram positivas e correlacionadas com os valores de  $P_{50}$  ( $r^2=0,77$ ). Concernentes às características anatômicas relacionadas ao mecanismo de reforço em nível de vasos, não se observou relação entre o  $P_{50}$  e os valores de  $(t/b)^3$ . Por outro lado, houve correlação entre  $P_{50}$  e os parâmetros  $D_h$  ( $r^2=0,60$ ) e  $K_t$  ( $r^2=0,44$ ) (Tabela 3).

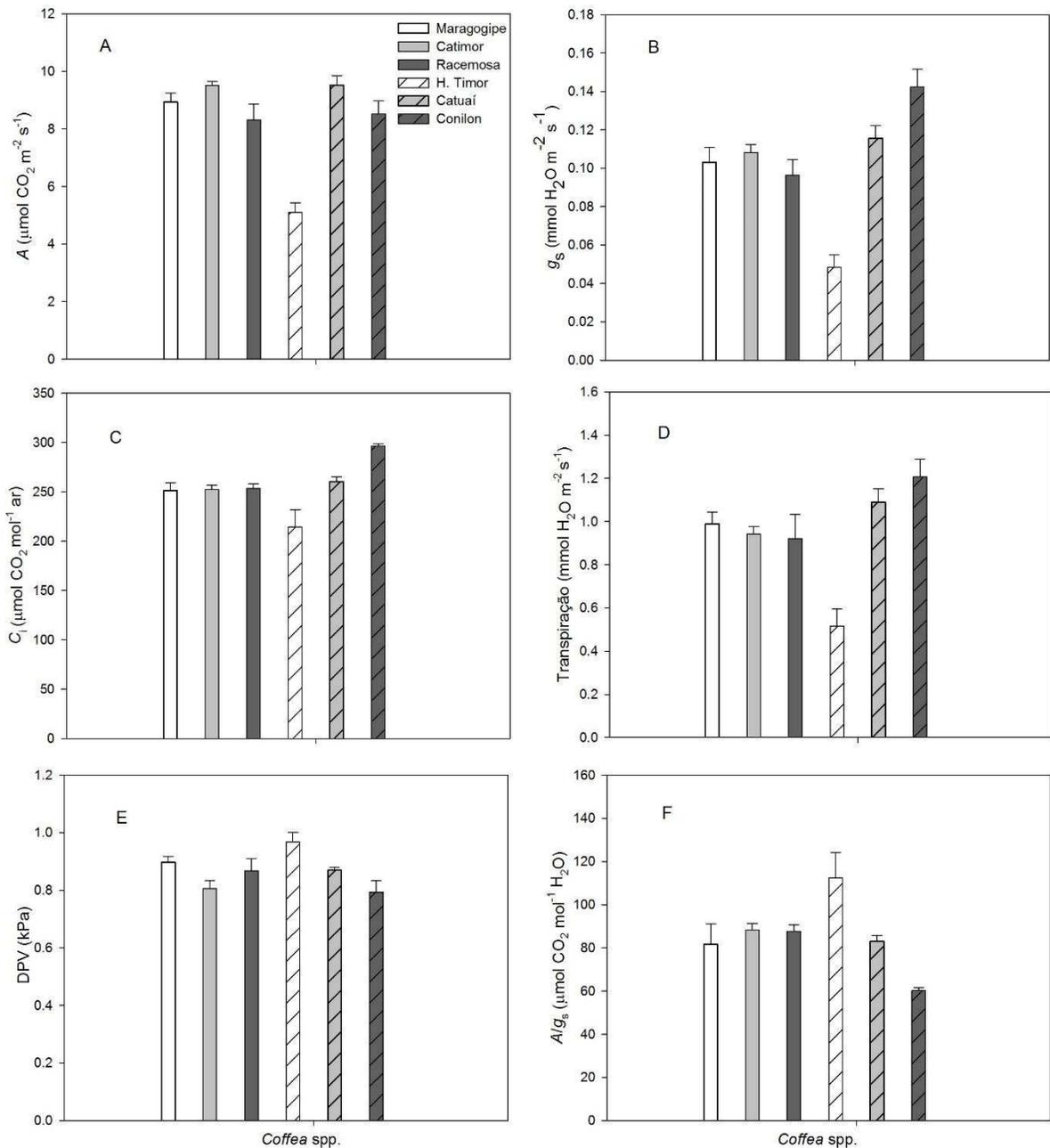
Houve claras diferenças morfológicas, em nível foliar, entre os genótipos estudados, com diferenças de cerca de 10 vezes entre os valores mínimos (*C. racemosa*) e máximos (*C. liberica*) de Af.  $D_v$  variou de 4,5 (H. Timor) a 7,6  $\text{mm mm}^{-2}$  (Conilon), enquanto AFE variou

de um mínimo de 9,0 (Apoatã) a um máximo de 14,0 m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup> (*C. racemosa*). Variações substanciais também foram observadas na razão PP/PL, de 0,27 (*C. liberica*) a 0,48 (*C. racemosa*) e em DE, de 158 (*C. liberica*) a 549 estômatos mm<sup>-2</sup> (Apoatã) (Tabela 3).

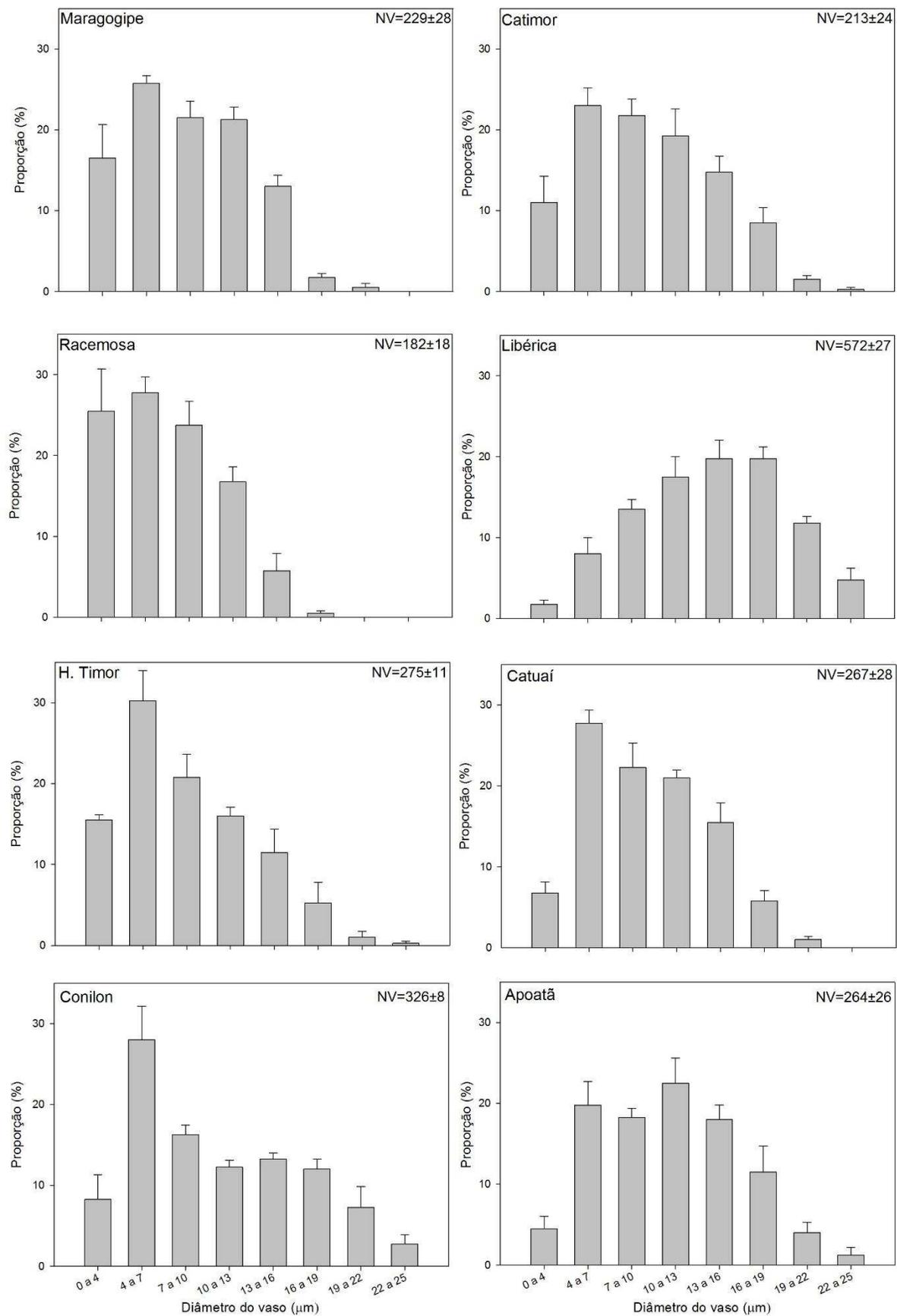




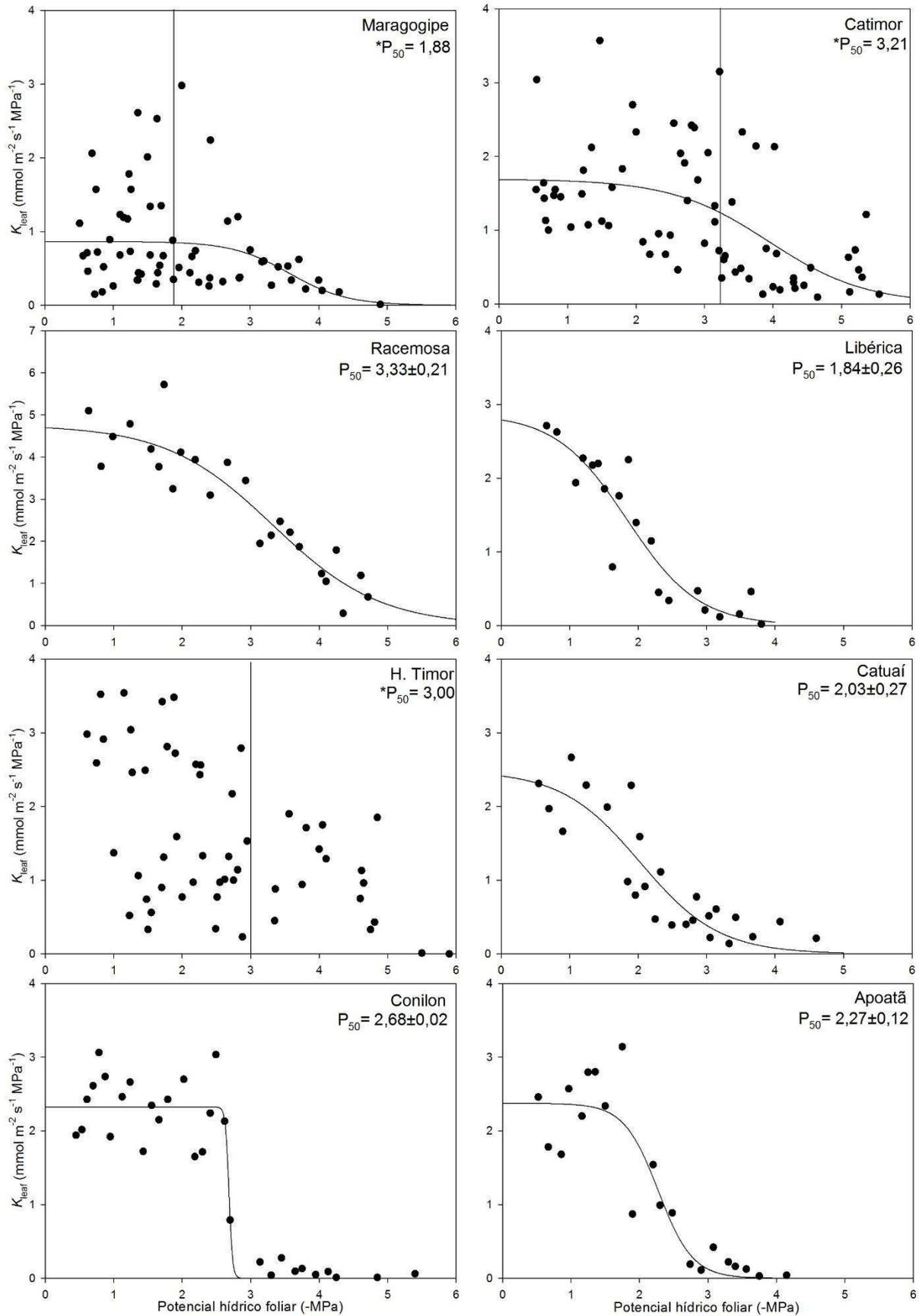
**Figura 1.** Variações diurnas da taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, A (A), condutância estomática,  $g_s$  (B), concentração interna de CO<sub>2</sub>,  $C_i$  (C), taxa transpiratória (D), déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera, DPV (E), eficiência intrínseca do uso da água,  $A/g_s$  (F), taxa de transporte de elétrons, TTE (G), eficiência de captura de energia dos centros de reação do FSII,  $F_v/F_m'$  (H), potencial hídrico foliar,  $\Psi_{foliar}$  (I) e potencial hídrico do xilema,  $\Psi_{xilemático}$  (J) em oito genótipos de café, cultivados em condições de campo.  $n = 6 \pm EP$



**Figura 2.** Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, A (A), condutância estomática, g<sub>s</sub> (B), concentração interna de CO<sub>2</sub>, C<sub>i</sub> (C), taxa transpiratória (D), déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera, DPV (E) e eficiência intrínseca do uso da água, A/g<sub>s</sub> (F), medidos em seis genótipos de café. As medições foram feitas em condições presumivelmente ótimas para maximização das trocas gasosas, em condições de laboratório: RFA de 1000 μmol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 400 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> ar, 25°C e DPV mantido em 1,0 kPa. As medições foram feitas utilizando-se folhas inteiras encerradas em uma câmara de coníferas; Apotã e *C. liberica* não foram avaliadas, em face do tamanho da folha ser maior que o da câmara. n = 6 ± EP



**Figura 3.** Frequência de distribuição de diâmetros de vasos do xilema da nervura central e número de vasos (NV) em oito genótipos de café, cultivados em condições de campo. n= 6±EP



**Figura 4.** Curvas de vulnerabilidade hidráulica foliar e respectivos valores de  $P_{50}$  (MPa) em oito genótipos de café, cultivados em condições de campo. As linhas verticais identificam a região em que a prevalência de altos valores de  $K_f$  foi drasticamente reduzida, provavelmente indicando regiões de perda de condutividade e possível valor de  $P_{50}$ .  $n = 6 \pm EP$

**Tabela 1.** Conteúdo saturado de água (CSA), potencial hídrico no ponto de perda de turgescência ( $\Psi_{PPT}$ , MPa), potencial osmótico em turgescência plena ( $\Psi_{\pi(100)}$ , MPa), teor relativo de água no ponto de perda de turgescência ( $TRA_{PPT}$ , %), módulo global de elasticidade ( $\epsilon$ , MPa), condutividade hidráulica foliar ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ) medida por meio do método do fluxo evaporativo ( $K_f$  - MFE) ou estimada a partir das curvas de vulnerabilidade ( $K_f$  - CV) e margens de segurança hidráulica ( $MSH_{50}$ , MPa) em oito genótipos de café, cultivados em condições de campo.  $n = 6 \pm EP$

<u>Parâmetros</u>	<u>Genótipos</u>							
	Maragogipe	Catimor	C. racemosa	C. liberica	H. Timor	Catuai	Conilon	Apoatã
CSA	2,06±0,85	2,12±0,11	2,23±0,02	1,81±0,10	1,86±0,22	1,86±0,003	1,87±0,07	1,53±0,20
$\Psi_{PPT}$	-1,91±0,03	-1,93±0,11	-2,00±0,04	-1,89±0,05	-1,83±0,05	-1,87±0,07	-1,88±0,04	-1,88±0,09
$\Psi_{\pi(100)}$	-1,53±0,06	-1,62±0,11	-1,70±0,06	-1,47±0,04	-1,54±0,05	-1,44±0,05	-1,47±0,07	-1,46±0,09
$TRA_{PPT}$	91,1±0,74	91,6±0,21	87,9±1,12	89,4±0,45	89,5±0,97	89,2±1,38	89,4±0,05	90,7±1,05
$\epsilon$	16,4±1,30	16,3±0,63	14,9±1,27	12,6±0,50	14,4±0,90	15,5±2,24	12,6±0,64	13,7±1,0
$K_f$ -MFE	1,22±0,20	3,16±0,28	6,48±1,11	-	3,86±0,01	3,45±0,39	2,72±0,47	-
$K_f$ -CV	1,03±0,10	1,44±0,18	4,76±0,40	2,87±0,54	3,10±0,51	2,48±0,41	2,32±0,08	2,37±0,19
$MSH_{50}$	0,18	2,07	2,59	0,91	1,30	0,38	1,63	1,14

**Tabela 2.** Valores de capacitâncias ( $C_{\text{folha}}$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$ ) em turgescência plena (TP) e após o ponto de perda de turgescência (PPT) estimadas por meio do medidor de fluxo hidráulico ( $C_{\text{TP-MF}}$ ,  $C_{\text{PPT-MF}}$ ) ou a partir de curvas PV ( $C_{\text{TP-PV}}$ ,  $C_{\text{PPT-PV}}$ ) e suas respectivas razões, em que  $C_{\text{TP-MF}} / C_{\text{TP-PV}}$  permite inferir sobre compartimentalização hidráulica e  $C_{\text{PPT-MF}} / C_{\text{PPT-PV}}$  permite inferir sobre porcentagem de tecido que não necessariamente está ligado ao fluxo hidráulico de transpiração. Os dados foram obtidos em oito genótipos de café, cultivados em condições de campo.  $n = 6 \pm \text{EP}$

<u>Parâmetros</u>	<u>Genótipos</u>							
	Maragogipe	Catimor	C. racemosa	C. liberica	H. Timor	Catuaí	Conilon	Apoatã
$C_{\text{TP-MF}}$	306±177	228±76	492±200	495±216	291±77	358±107	337±113	290±67
$C_{\text{TP-PV}}$	529±80	527±70	606±70	626±80	515±60	544±165	541±0,06	495±0,07
$C_{\text{PPT-MF}}$	349±194	699±553	1710±494	765±456	514±224	1081±581	856±539	511±200
$C_{\text{PPT-PV}}$	1680±410	1893±280	2274±280	1691±370	1870±450	1772±354	1193±250	1171±240
$C_{\text{TP-MF}} / C_{\text{TP-PV}}$	0,58	0,43	0,81	0,79	0,56	0,66	0,62	0,58
$C_{\text{PPT-MF}} / C_{\text{PPT-PV}}$	0,21	0,37	0,75	0,45	0,27	0,61	0,72	0,44

**Tabela 3.** Características anatômicas da folha e do xilema : razões entre a espessura da parede celular (t) e o diâmetro do lúmen (b) das veias xilemáticas minoritárias  $[(t/b)^3_{vm}]$  e das veias da nervura central  $[(t/b)^3_{nc}]$ ; diâmetro médio de condutos do xilema da nervura central ( $D_h$ ,  $\mu\text{m}$ ); fluxo teórico do conduto da nervura central ( $K_t$ ,  $\text{mmol MPa}^{-1} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); densidade de venação ( $D_v$ ,  $\text{mm mm}^{-2}$ ); área foliar unitária ( $A_f$ ,  $\text{cm}^2$ ); área foliar específica (AFE,  $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$ ), razão entre parênquima paliçádico e parênquima lacunoso (PP/PL) e densidade estomática (DE,  $\text{mm}^2$ ). Os dados foram obtidos em oito genótipos de café, cultivados em condições de campo.  $n = 6 \pm \text{EP}$

<u>Parâmetros</u>	<u>Genótipos</u>							
	Maragogipe	Catimor	C. racemosa	C. liberica	H. Timor	Catuai	Conilon	Apoatã
$(t/b)^3_{vm}$	0,53±0,24	0,30±0,10	0,65±0,27	0,30±0,10	0,30±0,13	0,67±0,20	0,47±0,14	0,67±0,25
$(t/b)^3_{nc} 10^2$	0,5±0,08	0,2±0,02	0,5±0,06	0,2±0,01	0,6±0,15	0,4±0,06	0,2±0,03	0,1±0,01
$D_h$	8,31±0,42	9,63±0,48	6,96±0,39	14,37±0,24	8,47±0,59	9,46±0,32	10,66±0,84	11,18±0,70
$K_t 10^2$	0,4±0,08	0,7±0,11	0,2±0,03	6,8±0,5	0,6±0,16	0,7±0,16	1,5±0,37	1,3±0,15
$D_v$	6,40±0,56	4,89±0,34	6,34±0,32	7,01±0,21	4,50±0,12	6,80±0,20	7,60±0,23	6,68±0,20
$A_f$	83±1,7	48±0,8	26±0,8	281±10	51±1,2	37±2,0	64±2,4	117±6
AFE	10,7±0,4	11,0±0,6	14,0±0,4	9,4±0,7	11,8±0,9	11±0,9	10,1±0,4	9,0±0,8
PP/PL	0,38±0,019	0,38±0,035	0,48±0,051	0,27±0,014	0,34±0,023	0,36±0,032	0,44±0,038	0,32±0,036
DE	273±15	269±13	289±39	158±7,5	197±5,5	215±31	542±27	549±29

## 4. Discussão

### Eficiência hidráulica e trocas gasosas

Apesar da ampla variabilidade morfológica foliar apresentada pelas diferentes espécies/cultivares de café utilizadas neste estudo, demonstrou-se que várias características, principalmente fisiológicas, foram muito conservadas em *Coffea* spp. Essa observação é intrigante principalmente considerando-se a alta plasticidade morfológica e fisiológica relatada em estudos prévios em alguns genótipos (e.g., *C. arabica* cv ‘Catuaí IAC 44’ e clones de *C. canephora*) em resposta aos fatores luz e água (Matos et al., 2009; Silva et al., 2013). Isso sugere que, para uma mesma condição, algumas das características avaliadas neste estudo já se encontram no seu ótimo ou ainda guardam limitações oriundas dos seus respectivos ambientes de origem. De qualquer forma, a prevalência de limitações difusivas ao processo fotossintético observada por Martins et al. (2014) foi confirmada em vista da alta correlação entre  $A$  e  $g_s$ , independentemente de genótipo. Ainda, medições de  $K_f$ , por dois métodos independentes, também indicam a existência de fortes limitações hidráulicas em *Coffea*, com valores (c.  $3,5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ ) no limite inferior para angiospermas, em comparação com os valores observados por Blackman & Brodribb (2011). Com efeito, em condições em que se exigem menores eficiências hidráulicas (baixo DPV, por exemplo), a magnitude das trocas gasosas foi similar entre os materiais testados, a despeito de suas diferenças exibidas em nível de campo (e.g., cf. Figs. 1 e 2). Isso sugere, em última instância, que os valores máximos alcançáveis de  $A$  por unidade de área foliar sejam também razoavelmente conservados em *Coffea* spp.

Evidência adicional em suporte às limitações hidráulicas reside na baixa capacidade transpiratória também apresentada pelos genótipos (Fig 1D), com taxas máximas raramente superiores a  $3 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Registre-se, não obstante, que esse valor é consistente com os valores de  $K_f$  encontrados, haja vista que, para suportar um  $E$  de  $3,5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , um potencial hídrico de  $-1 \text{ MPa}$  seria desenvolvido entre o pecíolo e os sítios de evaporação. Como esse potencial hídrico seria aditivo às resistências encontradas nas raízes e no caule, altos valores de  $E$  poderiam aumentar o risco de falha hidráulica, como será discutido posteriormente. Uma vez que não se observou correlação entre  $K_f$  e  $D_v$ , sugere-se que outras características estruturais, além da rede de vasos xilemáticos, têm capital importância como determinantes da eficiência hidráulica em *Coffea* spp. Resultados de Gascò et al. (2004) sugerem, com efeito, altas resistências extra-vasculares em café. Tomados em conjunto, essas informações estão em consonância com estudos recentes que têm

apontado um papel de destaque tanto para componentes estruturais relacionados a rotas extra-xilemáticas (Griffiths et al., 2013; Caringella et al., 2015) como também a componentes fisiológicos do  $K_f$ , tais como expressão de aquaporinas na bainha do feixe vascular (Sade et al., 2014). Embora características hidráulicas como o  $D_v$ ,  $D_h$ ,  $K_t$  e o  $NV$  não se tenham correlacionado com  $K_f$ , deve-se registrar que os maiores valores desses parâmetros foram observados nos dois genótipos de *C. canephora*, os quais também exibiram os maiores valores de  $g_s$  e  $E$ . Isso sugere que a provável maior capacidade transpiratória de clones de *C. canephora* pode ter sua base em características hidráulicas, corroborando a sugestão de Menezes-Silva et al. (2015). Registre-se ainda que os genótipos de *C. canephora* apresentaram os maiores valores de  $DE$ , o quê pode contribuir para a maior  $g_s$  observada. É interessante ressaltar que, das 08:00 às 12:00 h, Apoatã apresentou menores variações de  $g_s$  e  $E$  e maiores variações de potencial hídrico, sob flutuações similares de  $DPV$  (Figura 1), sugerindo um menor controle estomático da transpiração. Isso, associado a baixos valores de  $K_f$  e capacitância foliar não permitem o tamponamento de variações no potencial hídrico por um longo tempo e, assim, se as taxas transpiratórias não forem reduzidas pelo fechamento estomático, há o risco de dano hidráulico. Tomados em conjunto, isso pode explicar, pelo menos em parte, a menor tolerância à seca de Apoatã (com menores valores de  $P_{50}$ ) em relação ao Conilon, conforme observado em nível de campo. Em todo o caso, os valores de capacitância foliar parecem conservados em *Coffea* spp. e, novamente, situam-se no limite inferior relatado para angiospermas (c.  $350 \text{ mmol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$ ; Blackman & Brodrigg, 2011). Dentro de um contexto hidráulico passivo de controle estomático (Martins et al, submetido), esses valores de capacitância seriam responsáveis por uma rápida resposta estomática a mudanças de  $DPV$ , fenômeno já observado no cafeeiro em diversos estudos (Ronquim et al., 2006; Araújo et al., 2008; DaMatta et al., 2008; Batista et al., 2012; Chaves et al., 2012). Ainda, quando há a manutenção de um  $DPV$  ameno ao longo do dia e boa disponibilidade hídrica do solo, o cafeeiro consegue manter adequada abertura estomática, como observado neste estudo com os genótipos *C. liberica* e *C. racemosa* e em Catuaí em condições de casa de vegetação com umidade controlada (Batista et al., 2012).

Conforme mencionado, há uma baixa amplitude da capacidade fotossintética em base de área em *Coffea* spp. (com valores conservados da razão  $A/g_s$ ). Com efeito, desde que o  $DPV$  e a irradiância não sejam fatores limitantes, os genótipos avaliados tenderam a apresentar valores semelhantes de  $A$  e  $TTE$  (ver Figuras 1A e 1G) excetuando-se os genótipos de *C. canephora*, com valores ligeiramente maiores. Dessa forma, a manutenção de elevada  $A$  pode ser associada à

capacidade transpiratória em condições de alto DPV, que é a norma em condições tropicais. Uma consequência prática dessas observações é que o plantio de genótipos desejados com baixa capacidade hidráulica em condições tropicais deveria ser associado a um manejo que minimize flutuações no DPV ou minimize a condutância da camada limítrofe. O porte anão e copa fechada (menos acoplada a variações do ambiente) da variedade Catuaí, por exemplo, adequar-se-iam a esses requerimentos, explicando parcialmente o sucesso e alta produtividade dessa cultivar no Brasil. Para fins de seleção de genótipos para condições de alto DPV, com boa disponibilidade hídrica no solo, o monitoramento do fluxo de seiva em nível de planta e ramos poderia ser ferramenta interessante (atualmente essa tecnologia pode ser implementada a um baixo custo e em larga escala), na medida em que maiores fluxos de seiva se traduziriam em maior potencial de trocas gasosas, com possíveis reflexos na capacidade produtiva. Deve-se enfatizar, não obstante, a importância não somente da manutenção de altas taxas transpiratórias como também de níveis de tensão no xilema dentro de margens hidráulicas seguras, como se discute abaixo.

#### Margem de segurança hidráulica e tolerância à cavitação

Diferentemente do proposto por Nardini et al. (2014), foi encontrado neste estudo que os valores de  $P_{50}$  em *Coffea* são iguais ou menores do que os valores de  $\Psi_{PPT}$ , corroborando os resultados obtidos em outras espécies por Blackman et al. (2010) e de acordo com os valores de potencial hídrico normalmente medidos em condições de campo (Figura 1I). Uma das possíveis explicações para os resultados apresentados por Nardini et al. (2014) está associada ao método utilizado para a medição do  $K_f$ , o qual é fortemente influenciado pelos valores de capacitância foliar (ver detalhes em Blackman & Brodribb, 2011). Outro fator, provavelmente o mais importante, reside na metodologia utilizada: Nardini et al. (2014) utilizaram plantas com sete anos de idade cultivadas em vasos de 15 L (provavelmente com restrição radicular) e coletaram ramos terminais com um ou dois pares de folhas, o que implica um reduzido comprimento dos ramos. Como o cafeeiro possui elementos de vasos e estes apresentam comprimento considerável em angiospermas (Cochard et al., 2013), é possível que no momento do corte desses ramos, grande parte dos vasos já estariam embolizados, explicando parcialmente a grande variabilidade nos valores de  $K_f$  apresentados por Nardini et al. (2014). No presente estudo, tal problema foi minimizado pela coleta de ramos em plantas cultivadas em condições de campo, que apresentavam pelo menos 5-6 pares de folhas e, em adição, outro método, não afetado pelos valores de

capacitância, foi também utilizado para a medição do  $K_f$ . No entanto, mesmo com esses cuidados, os genótipos Maragogipe, Catimor e H. Timor de Timor apresentaram curvas onde não foi possível encontrar valores de  $P_{50}$  com confiabilidade, mas ainda foi possível identificar regiões onde a prevalência de altos valores de  $K_f$  foi drasticamente reduzida, provavelmente indicando regiões de perda de condutividade (Figura 4).

Os valores de  $P_{50}$  encontrados variaram de -1,84 a -3,33 MPa, o que permite classificar o cafeeiro como uma espécie de moderada a alta resistência à disfunção hidráulica (Blackman et al., 2012). Aparentemente, os valores de  $P_{50}$  refletem o ambiente de origem das espécies, já que *C. racemosa* é oriundo de regiões com períodos secos mais acentuados, ao passo que *C. liberica* é prevalente de regiões mais úmidas (a exemplo também das diferenças encontradas em  $P_{50}$  em *C. canephora* acima discutidas). Inclusive, *C. racemosa* foi caracterizado por apresentar uma gama de características favoráveis à tolerância à seca, como o menor tamanho foliar (favorecendo a dissipação de calor na forma sensível), potenciais osmóticos no ponto de perda de turgescência mais negativos, maior conteúdo saturado de água e a mais alta  $C_{PPT-PV}$ . Por outro lado, para os outros genótipos, os valores de parâmetros de relações hídricas foram muito conservados, com exceção da  $C_{PPT-PV}$ , cujos menores valores foram observados em *C. canephora* (Tabela 2). A partir dos valores de  $C_{TP-MF}/C_{TP-PV}$ , verifica-se significativa compartimentalização hidráulica (ver Blackman & Brodribb, 2011) em *Coffea* spp. Isso sugere que, em cultivares como Catimor, somente 43% da  $C_{TP-PV}$  estaria conectada diretamente ao fluxo transpiratório foliar e, conseqüentemente, à dinâmica de como as folhas respondem a flutuações na transpiração ou mudanças no potencial hídrico. Menor  $C_{PPT-PV}$  implica em maiores decréscimos de  $\Psi_w$  com a perda de água, o que pode explicar parcialmente a abrupta perda de  $K_f$  nos genótipos de *C. canephora* em comparação com a queda mais gradual em  $K_f$ , em função do  $\Psi_w$ , apresentada pelos genótipos de *C. arabica*, por exemplo (Figura 4). As diferenças na inclinação das curvas de vulnerabilidade também podem ser associadas com a distribuição de vasos no xilema, em que uma distribuição de vasos tendendo a menores  $D_h$  (*C. arabica* e híbridos) pode levar a uma ocorrência gradual da cavitação, enquanto uma tendência de vasos com maior  $D_h$  (*C. liberica* e *C. canephora*) levaria a comportamento contrário (Hacke et al., 2001). Além disso (excluindo-se a cv. Maragogipe), houve uma correlação significativa entre  $D_h$  e  $P_{50}$  ( $r^2=0,6$ ), indicando que a tolerância à cavitação em folhas de *Coffea* spp. é associada com características do xilema. Outros estudos, como os de Blackman et al. (2010), têm mostrado uma correlação positiva entre  $P_{50}$  e  $(t/b)^3$ , mas tal correlação

não foi observada neste estudo, implicando que colapso das nervuras do xilema não ocorra facilmente ou, alternativamente, isso não teria importância relativa no cafeeiro.

Um aspecto interessante levantado no estudo conduzido por Nardini et al. (2014) foi a relação direta entre Af e P<sub>50</sub>, com genótipos com folhas menores tendo valores mais negativos de P<sub>50</sub> e, pois, mais tolerantes à cavitação. Observações empíricas de campo têm também indicado que clones de *C. canephora* com menor área foliar são mais tolerantes à seca (DaMatta et al., 2003). No presente estudo, as relações estreitas entre P<sub>50</sub> e Af foram observadas em seis dos oito genótipos aqui estudados; com efeito, a exclusão de Catuaí e Maragogipe traduziu-se em uma relação muito mais estreita e ( $r^2=0,9$ ) entre P<sub>50</sub> e Af. Tomados em conjunto, essas informações sugerem que o tamanho da área foliar, uma característica de fácil mensuração, emerge como uma ferramenta promissora e de especial interesse para programas de melhoramento genético visando à seleção de materiais mais tolerantes à seca.

A análise da arquitetura hidráulica das folhas de *C. racemosa* e *C. liberica*, contrastantes quanto à Af e P<sub>50</sub>, demonstra que a forma de se aumentar o fluxo de água via xilema para sustentar uma maior área foliar acontece via aumentos em D<sub>h</sub> e, posteriormente, aumento em NV. Essa sequência, predita teoricamente, visa minimizar os custos de construção foliar, uma vez que aumentos em D<sub>h</sub> aumentam a condutividade à quarta potência do raio do conduto (lei de Hagen-Poiseuille) e, portanto, representam a forma mais “barata” de se aumentar o fluxo; entretanto, aumentos em D<sub>h</sub> levam a uma redução na segurança hidráulica ao aumentarem a vulnerabilidade à cavitação (Blackman et al., 2009). Assim, uma vez atingido o limite funcional de D<sub>h</sub>, outra forma de se aumentar o fluxo de água passaria por um aumento no número de vasos xilemáticos ou na redução de suas resistências hidráulicas, embora não se tenha observado redução de resistência neste estudo. Em conjunto, o fato de que *C. liberica* apresentou c. 35% do NV > 19 μm, enquanto *C. racemosa* teve 99% do NV < 19 μm, fornece prova circunstancial de que o D<sub>h</sub> esteja envolvido na determinação da segurança hidráulica em *Coffea* spp.

Como esperado dentro do contexto de que a falha hidráulica não deveria ser rotina em plantas – por isso sendo denominada catastrófica (Delzon & Cochard, 2014), as MSH determinadas neste estudo foram todas positivas. Porém, genótipos como Maragogipe e Catuaí apresentaram MSH estreitas, provavelmente sendo mais predispostos a eventos de cavitação na época seca. Em conjunto, os dados do presente estudo sugerem que, em resposta a secas severas, é mais provável que o cafeeiro estaria sujeito à morte por falha hidráulica do que à morte por fome

de carbono (Mcdowell et al., 2008); nesse contexto, estudos mais aprofundados sobre a interação entre intensidade e duração da seca em diferentes genótipos de *Coffea* spp. revestem-se de grande importância para permitir a seleção de cultivares mais adaptadas para as condições hídricas de uma dada região.

## 5. Conclusão

A despeito da grande variabilidade morfológica em nível foliar em *Coffea* spp, demonstrou-se que os genótipos estudados apresentaram valores relativamente baixos de condutividade hidráulica em paralelo a uma baixa capacidade transpiratória. Essas características impõem fortes limitações difusionais à fotossíntese. Registre-se, contudo, que, em condições de baixo DPV, as taxas fotossintéticas por unidade de área foliar parecem razoavelmente conservadas em *Coffea* spp. De modo geral, não se observaram correlações consistentes entre  $K_f$  e  $D_v$  (e vários outros parâmetros hidráulicos), sugerindo a existência de altas resistências extra-vasculares em café. Em todo o caso, os resultados evidenciaram uma moderada a alta resistência à disfunção hidráulica (com margens positivas de segurança hidráulica), diferentemente do sugerido por Nardini et al. (2014). Nesse sentido, o diâmetro de condutos do xilema parece estar diretamente envolvido na determinação da segurança hidráulica em *Coffea* spp., com uma maior proporção de condutos de menor diâmetro levando a uma maior segurança hidráulica. Registre-se também que a alta correlação entre  $A_f$  e  $P_{50}$  confirma a hipótese de Nardini et al. (2014) de que genótipos com folhas menores são mais tolerantes à cavitação. Esta relação emerge como uma ferramenta promissora e de especial interesse para programas de melhoramento genético visando à seleção de materiais mais tolerantes à seca.

A falta de relação entre  $K_f$  com  $A$  e  $g_s$  requer uma melhor investigação sobre o comportamento estomático em café. Para isso, estudos da resposta ao ABA e até onde um mecanismo metabólico de fechamento estomático poderia sobrepor-se às características hidráulicas poderiam contribuir para melhor compreensão daquela relação. Por fim, tendo em vista que o fluxo de água no contínuo solo-planta-atmosfera está intimamente interconectado ao longo desses compartimentos, e influencia diretamente o comportamento e a produtividade das plantas, estudos de outros componentes do sistema hidráulico da planta, tais como caules e raízes, são necessários para avaliar apropriadamente a dicotomia entre segurança e eficiência hidráulica e o desempenho global das trocas gasosas da planta inteira. Isso permitiria ter-se uma visão holística dos controles hidráulicos das trocas gasosas e como a planta aclimataria o seu potencial

fotossintético em resposta às flutuações da disponibilidade hídrica. Tais informações poderão gerar índices e critérios para a seleção de genótipos mais promissores, em função da disponibilidade de recursos do ambiente.

## **6. Referências Bibliográficas**

**Araújo WL, Dias PC, Moraes GABK, Celin EF, Cunha RL, Barros RS, DaMatta FM (2008)** Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46: 884-890

**Batista D, Araújo WL, Antunes WC, Cavatte PC, Moraes GABK et al. (2012)** Photosynthetic limitations in coffee plants are chiefly governed by diffusive factors. *Trees*, 26: 459–468

**Blackman CJ, Brodribb TJ (2011)** Two measures of leaf capacitance: insights into the water transport pathway and hydraulic conductance in leaves. *Functional Plant Biology*, 38:118–126

**Blackman CJ, Brodribb TJ, Jordan GJ (2009)** Leaf hydraulics and drought stress: response, recovery and survivorship in four woody temperate plant species. *Plant, Cell & Environment* 32: 1584–1595

**Blackman CJ, Brodribb TJ, Jordan GJ (2010)** Leaf hydraulic vulnerability is related to conduit dimensions and drought resistance across a diverse range of woody angiosperms. *New Phytologist*, 188: 1113–1123

**Blackman CJ, Brodribb TJ, Jordan GJ (2012)** Leaf hydraulic vulnerability influences species' bioclimatic limits in a diverse group of woody angiosperms. *Oecologia*, 168: 1–10

**Brodribb TJ (2009)** Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Science*, 177: 245–251

**Brodribb TJ, Cochard H (2009)** Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiology*, 149: 575–584

**Brodribb TJ, Feild TS, Jordan GJ (2007)** Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology*, 144: 1890-1898

**Brodribb TJ, Feild TS, Sack L (2010)** Viewing leaf structure and evolution from a hydraulic perspective. *Functional Plant Biology*, 37: 488-498

**Brodrribb TJ, Holbrook NM** (2006) Declining hydraulic efficiency as transpiring leaves desiccate: two types of response. *Plant, Cell & Environment*, 29: 2205–2215

**Brodrribb TJ, Holbrook NM, Edwards EJ, Gutierrez MV** (2003) Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell & Environment*, 26: 443–450

**Brodrribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B** (2005) Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist*, 165: 839–846

**Caringella, MA, Bongers, FJ, Sack, L** (2015) Leaf hydraulic conductance varies with vein anatomy across *Arabidopsis thaliana* wild-type and leaf vein mutants. *Plant, Cell & Environment*, 1365-3040

**Cavatte PC, Oliveira AAG, Morais LE, Martins SCV, Sanglard LMVP, DaMatta FM** (2012) Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. *Physiologia Plantarum*, 144: 111–122

**Chaves ARM, Martins SCV, Batista KD, Celin EF, DaMatta FM** (2012) Varying leaf-to-fruit ratios affect branch growth and dieback, with little to no effect on photosynthesis, carbohydrate or mineral pools, in different canopy positions of field-grown coffee trees. *Environmental and Experimental Botany*, 77: 207–218

**Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S** (2013) Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: A critical review. *Journal of Experimental Botany*, 64: 4779–4791

**DaMatta FM** (2003) Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. In E Hemantaranjan, ed, *Advances in Plant Physiology*, v.5. Scientific Publishers, Jodhpur, 227-265

**DaMatta FM** (2004) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research*, 86: 99-114

**DaMatta FM, Amaral JAT, Rena AB** (1999) Growth periodicity in trees of *Coffea arabica* L. in relation to nitrogen supply and nitrate reductase activity. *Field Crops Research*, 60: 223-229

**DaMatta FM, Chaves ARM, Pinheiro HA, Ducatti C, Loureiro ME** (2003) Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. *Plant Science*, 164: 111–117

- DaMatta FM, Cunha RL, Antunes WC, Martins SVC, Araujo WL et al.** (2008) In field-grown coffee trees source-sink manipulation alters photosynthetic rates, independently of carbon metabolism, via alterations in stomatal function. *New Phytologist*, 178(2): 348-57
- DaMatta FM, Loos RA, Silva EA, Loureiro ME** (2002) Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. *Journal of Plant Physiology*, 159: 975-981
- DaMatta FM, Maestri M, Barros RS** (1997) Photosynthetic performance of two coffee species under drought. *Photosynthetica*, 34: 257-264
- DaMatta FM, Ramalho JC** (2006) Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18: 55-81
- Delzon S, Cochard H** (2013) Hydraulic failure and repair are not routine in trees. *Annals of Forest Science*, 70: 659-661
- Delzon S, Cochard H** (2014) Recent advances in tree hydraulics highlight the ecological significance of the hydraulic safety margin. *New Phytologist*, 203: 355-358
- Dias PC, Araújo WL, Moraes GABK, Barros RS, DaMatta FM** (2007) Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. *Journal of Plant Physiology*, 164: 1639-1647
- Ferrio JP, Pou A, Florez-Sarasa I, Gessler A, Kodama N** (2012) The Péclet effect on leaf water enrichment correlates with leaf hydraulic conductance and mesophyll conductance for CO<sub>2</sub>. *Plant, Cell & Environment*, 35: 611-625
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Diaz-Espejo A, Galmés J, Medrano H** (2008) Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell & Environment*, 31: 602-621
- Gascò A, Nardini A, Salleo S** (2004) Resistance to water flow through leaves of *Coffea arabica* is dominated by extra-vascular tissues. *Functional Plant Biology*, 31: 1161-1168
- Griffiths H, Weller G, Toy LFM, Dennis RJ** (2013) You're so vein: bundle sheath physiology, phylogeny and evolution in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. *Plant, Cell & Environment*, 36: 249-261
- Hacke UG, Sperry JS** (2001) Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 4(2): 97-115

- Lewis AM, Boose ER** (1995) Estimating volume flow rates through xylem conduits. *American Journal of Botany*, 82: 1112–1116
- Lloyd J, Syvertsen JP, Kriedemann PE, Farquhar JD** (1992) Low conductances for CO<sub>2</sub> diffusion from stomata to the sites of carboxylation in leaves of woody species. *Plant, Cell & Environment*, 15: 873-899
- Martins SCV, Galmés J, Cavatte PC, Pereira LF, Ventrella MC, DaMatta FM** (2014) Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. *Plos One*, 9(4): e95571
- Martins SCV, Galmés JG, Molins A, DaMatta FM** (2013) Improving the estimation of mesophyll conductance: on the role of electron transport rate correction and respiration. *Journal of Experimental Botany*, 64: 3285–3298
- Matos FS, Wolfgramm R, Gonçalves FV, Cavatte PC, Ventrella MC, DaMatta FM** (2009) Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environmental and Experimental Botany*, 67: 421–427
- McDowell N, Pockman WT, Allen CD, Breshears DD, Cobb N, Kolb T, Plaut J, Sperry J, West A, Williams DG, et al** (2008) Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist*, 178: 719–739
- Menezes-Silva PE, Cavatte PC, Martins SCV, Reis JV, Pereira, LF, Ávila RT, Almeida AL, Ventrella MC, DaMatta FM** (2015) Wood density, but not leaf hydraulic architecture, is associated with drought tolerance in clones of *Coffea canephora*. *Trees*, 20: 20
- Nardini A, Öunapuu E, Savi T** (2014) When smaller is better: leaf hydraulic conductance and drought vulnerability correlate to leaf size and venation density across four *Coffea arabica* genotypes. *Functional Plant Biology*, 41: 972–982
- Nardini A, Pedà G, La Rocca N** (2012) Trade-offs between leaf hydraulic capacity and drought vulnerability: morpho-anatomical bases, carbon costs and ecological consequences. *New Phytologist*, 196: 788–798

- Neufeld HS, Grantz DA, Meinzer FC, Goldstein G, Crisosto GM, Crisosto C** (1992) Genotypic variability in vulnerability of leaf xylem to cavitation in water-stressed and well-irrigated sugarcane. *Plant Physiology*, 100: 1020-1028
- Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves AR, Loureiro ME, Ducatti C** (2005) Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. *Annals of Botany*, 96: 101–108
- Ronquim JC, Prado CHBA, Novaes P, Fahl JI, Ronquim CC** (2006) Carbon gain in *Coffea arabica* during clear and cloudy days in the wet season. *Experimental Agriculture* 42: 147–164
- Sack L, Holbrook NM** (2006) Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology*, 57: 361–381
- Sack L, Melcher PJ, Zwieniecki MA, Holbrook NM** (2002) The hydraulic conductance of the angiosperm leaf lamina: a comparison of three measurement methods. *Journal of Experimental Botany*, 53: 2177–2184
- Sade N, Shatil-Cohen A, Attia Z, Maurel C, Boursiac Y, Kelly G, Granot D, Yaaran A, Lerner S, Moshelion M** (2014) The role of plasma membrane aquaporins in regulating the bundle sheath-mesophyll continuum and leaf hydraulics. *Plant Physiology*, 166 (3): 1609-1620
- Scoffoni C, Rawls M, McKown A, Cochard H, Sack L** (2011) Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiology*, 156: 832–843
- Silva PEM, Cavatte PC, Morais LE, Medina EF, DaMatta FM** (2013) The functional divergence of biomass partitioning, carbon gain and water use in *Coffea canephora* in response to the water supply: Implications for breeding aimed at improving drought tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 87: 49–57
- Tausend PC, Goldstein G, Meinzer FC** (2000) Water utilization, plant hydraulic properties and xylem vulnerability in three contrasting coffee (*Coffea arabica*) cultivars. *Tree Physiology* 20: 159–168
- Warren CR, Adams MA** (2004) Evergreen trees do not maximize instantaneous photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 9: 270-274