



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



ENRIQUE ALONSO ZUÑIGA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE CAFEIRO ARÁBICA cv.
CATUCAÍ E OBATÃ SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E SALINIDADE**

**BOTUCATU - SP
2018**

ENRIQUE ALONSO ZUÑIGA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE CAFEEIRO ARÁBICA cv.
CATUCAÍ E OBATÃ SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E SALINIDADE**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Irrigação e Drenagem).

Orientador: Prof. Dr. Fernando Broetto

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Alonso Zuñiga, Enrique, 1984-
A454r Respostas fisiológicas de plantas de cafeeiro Arábica cv. Catucaí e Obatã submetidas à deficiência hídrica e salinidade / Enrique Alonso Zuñiga. - Botucatu: [s.n.], 2018
215 p.: fots. color., grafs. color., tabs.

Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2018
Orientador: Fernando Broetto
Inclui bibliografia

1. Cafeeiro. 2. Irrigação com déficit hídrico. 3. Salinidade. 4. Nitrogênio. 5. Metabolismo. I. Broetto, Fernando. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: "RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE CAFEIEIRO ARÁBICA cv. CATUCAÍ E OBATÃ SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA E SALINIDADE"

AUTOR: ENRIQUE ALONSO ZUÑIGA

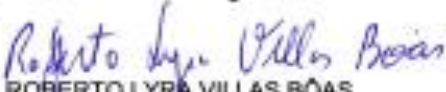
ORIENTADOR: FERNANDO BROETTO


COORIENTADOR: MARCO ANTONIO CASTILHO CAMPOHERMOSO


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (IRRIGAÇÃO E DRENAGEM), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. FERNANDO BROETTO
Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Dr.ª MARIA MARCIA PEREIRA SARTORI
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP


Prof. Dr. ROBERTO LYRA VILLAS BOAS
Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu


Dr. MARCELO LEONARDO
Casa da Agricultura / Coordenadoria de Assistência Técnica Integral - CATI


Prof. Dr. WILLIAN FERNANDO ZAMBUZZI
Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Botucatu, 06 de novembro de 2018.

*Dedico a Deus,
aos meus pais Lázaro e Maria
e a minha esposa Luzma pelo amor, carinho e apoio incondicional!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir finalizar mais um objetivo na minha vida profissional e, sobretudo por iluminar meu caminho para conseguir dar com solidez cada passo.

Aos meus pais, a quem devo o que eu sou e por ter me dado o dom mais valioso a “vida”, cheia de amor, carinho, ensinamentos e apoio incondicional. Sem os seus exemplos de humildade, decência e perseverança eu jamais teria chegado tão longe. Minha admiração por vocês é inestimável, amo vocês!

Ao meu orientador Professor Dr. Fernando Broetto, por ter acreditado em mim, por seu valioso apoio, compreensão, amizade, ensinamentos e orientação ao longo da execução desse trabalho. Por me incentivar e mostrar que a perseverança e dedicação nos torna profissionais melhores. Em fim, por ter me acolhido e aberto a porta do seu lar desde o primeiro dia em que eu cheguei ao Brasil.

À professora Dra.. Maria Márcia Pereira Sartori, pelo apoio na análise estatística dos meus dados.

Aos meus irmãos e irmãs, Ramira, Antônio, Eulália, Adalberto e Alicia pela sua amizade, apoio incondicional e sobre tudo por ter confiado em mim, mesmo permanecendo longe.

Aos meus sobrinhos pela sua amizade, apoio e alegrias que temos compartilhado juntos.

A minha esposa e amiga Luz Maria Ruiz Machuca, pelo apoio e companheirismo ao longo desta jornada, pois juntos passamos muitos momentos felizes e outros acompanhados de lágrimas. Por suportar todas as minhas fraquezas e por me fazer forte nos momentos mais difíceis e, sobre tudo por o seu amor incondicional, compreensão e carinho a mim dedicados. Amo você!

Aos meus sogros e cunhados, obrigado pela confiança e apoio que sempre tem me oferecido.

Aos colegas e amigos do laboratório agradeço muito ao Fernando, Luz Maria, Dayanne, Diogo, Renata, Ricardo, Edilson, Érica, Jéssica, Osvaldir, Tamiris, Mara Lúcia, Dariane, Ícaro, Irineu, Alê, obrigado pelo apoio e amizade, e pelos momentos de alegria que passamos juntos.

Aos demais amigos e colegas ao Esteban, Darlin, Alberto, Filipe, Mariana, Vitor, Rafael e Vitoria por estar sempre dispostos para participar nas atividades do meu projeto.

Ao pessoal do Departamento de Manutenção do IBB, especialmente aos meus amigos Alexandre Gonçalves e Matias pelo apoio nas atividades do meu projeto de tese.

Ao pessoal do Centro de Isótopos Estáveis do IBB, por colaborar nas análises referentes à discriminação isotópica.

Aos funcionários do Departamento de Agricultura agradeço ao Matheus e Iara, pela contribuição na análise de nutrientes das amostras vegetais.

Ao pessoal do Departamento de Engenharia Rural, especialmente a Rafaela, Fabiana e Gilberto, pela amizade e apoio.

Aos funcionários da Biblioteca pela excelência no atendimento, profissionalismo e apoio.

Ao Professor Dr. Rodrigo Máximo Sánchez Román e Professora Alba, pela amizade e pelos momentos felizes que passamos juntos.

Aos meus amigos Dirceu, Matheus, Jefferson, Paulinho, Alexandre Augusto e Lucas Conte, por todos os conselhos, apoio, abraços e pelos momentos de alegria que passamos juntos.

A Érica Barros, Nilzinha e Ademir, pela confiança, amizade e pelos momentos felizes que passamos juntos, pois sempre me fizeram sentir parte de sua família brasileira.

A Gerice, Nivaldo, Dani, Linkinho, Claudineia e Paulo pela amizade e carinho que sempre me proporcionaram.

Ao Adolfo Arlanch, pela amizade e pelas caronas para conseguir chegar pontualmente às aulas até a FCA.

Aos meus amigos conterrâneos Mexicanos agradeço ao Francisco Javier, Graciela e Panchito, obrigado pela amizade e pelos momentos felizes que compartilhamos.

Aos amigos e colegas “latinos” agradeço ao Esteban, Ariel, Adela (Bolívia), Fabiola (Argentina) Darlin, Deisy, Aníbal (Equador) e Andrés (Colômbia), pelas confraternizações com suas refeições agradáveis de cada país que nos fizeram matar um pouco das saudades da casa de nossos pais e nossas terras.

Aos demais membros da banca.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão do recurso econômico para o projeto, à Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Botucatu (FCA/UNESP), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida e à Coordenadoria de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que permitiram a realização desse trabalho de pesquisa.

Muito obrigado!!!

RESUMO

O manejo adequado da irrigação e o uso eficiente da água proporcionam maiores produtividades e qualidade de grãos. Entretanto, as previsões de disponibilidade de água indicam uma crescente escassez e baixa qualidade deste recurso, o que exigirá uma melhor gestão e aproveitamento do mesmo para garantir a biodiversidade, seja qual for o bioma. Neste sentido é previsível que nas próximas décadas, a água destinada para irrigação seja ainda mais escassa, com maior nível de salinidade e alta concentração de alguns elementos tóxicos para as plantas. Neste trabalho de pesquisa foi avaliado o papel do nitrogênio, características biométricas, relações hídricas, trocas gasosas e alterações bioquímicas em plantas de cafeeiro arábica cv. Obatã e Catuaí cultivadas sob deficiência hídrica (ensaio 1) e salinidade (ensaio 2). Os experimentos foram conduzidos em estufa com mudas de cafeeiro utilizando-se vasos de 5L com sistema de irrigação localizada. No primeiro ensaio, as plantas foram submetidas à deficiência hídrica (DH) com três lâminas de irrigação: L1-25%, L2-50% e L3-100% da necessidade hídrica da cultura (NHC) aplicadas em dois ciclos de DH com duração de 30 dias cada ciclo. Entre cada ciclo de estresse, as plantas foram mantidas em condicionamento por 15 dias, com irrigação em capacidade de campo para todos os tratamentos. No segundo experimento, foi avaliado o efeito da salinidade, no qual as plantas foram irrigadas com doses parceladas de NaCl (15, 30, 50, 65, 50, 50, 50 e 50 mM) perfazendo duas aplicações por semana e elevando-se a concentração final do sal até 360 mM na água de irrigação. Foram aplicados dois ciclos de estresse salino (ES) com duração de 30 dias cada ciclo e com condicionamento (irrigação com água deionizada) de 15 dias entre ambos os ciclos. Ambos os experimentos foram realizados nos meses mais frios (inverno), sendo repetidos no segundo ano, coincidindo com os meses mais quentes (verão). Os tratamentos foram dispostos em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2 referente ao experimento 1 (Deficiência Hídrica) e 2x2 referente ao experimento 2 (Salinidade) em parcelas subdivididas, com quatro repetições por tratamento. As avaliações e coletas foram realizadas sempre antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT), ao final do ciclo 1 de estresse (120 DAT), ao final do ciclo de condicionamento (135 DAT) e ao final do ciclo 2 de estresse (165 DAT). A hipótese central dos experimentos é que a restrição hídrica

e a salinidade poderão alterar a fisiologia de diferentes cultivares sendo que o *nitrogênio* deverá assumir papel de destaque na tolerância das mesmas. Também foi avaliada a discriminação isotópica do ^{13}C e ^{15}N , assim como avaliação nutricional das plantas. Paralelamente, houve monitoramento do ambiente protegido. Para a maioria dos parâmetros estudados tanto relações hídricas, biometria, biomassa e índices de crescimento, detectou-se que a intensidade do estresse hídrico e salino pode ter sido influenciada pelas condições ambientais como temperatura e fotoperíodo às quais as plantas foram expostas, gerando efeito sinérgico, sendo fatores determinantes para as respostas das duas cultivares estudadas, com destaque para os experimentos de verão. A atividade metabólica também pode ser apontada como fator de tolerância, que diminuiu o impacto da formação de radicais livres, a partir da ativação de enzimas antioxidativas. Para os parâmetros avaliados, a cv. Obatã apresentou características varietais superiores de adaptação às apresentadas pela cv. Catucaí.

Palavras-chave: Cafeeiro, deficiência hídrica, estresse salino, metabolismo, nitrogênio, discriminação isotópica.

ABSTRACT

Proper irrigation management and efficient water use provide greater yields and grain quality. However, water availability forecasts indicate a growing scarcity and low quality of this resource, which will require better management and use to ensure biodiversity, whatever the biome. In this sense, it is foreseeable that in the coming decades, the water destined for irrigation will be even scarcer, with a higher level of salinity and a high concentration of some toxic elements for the plants. In this research the role of nitrogen, biometric characteristics, water relations, gas exchange and biochemical changes in arabica coffee plants cv. Obatã and Catuaí cultivated under water deficiency (test 1) and salinity (test 2). The experiments were conducted in a greenhouse with coffee seedlings using 5L pots with a localized irrigation system. In the first trial, the plants were submitted to water deficit (WD) with three irrigation depths: L1-25%, L2-50% and L3-100% of the water requirement of the crop (WRC) applied in two WD cycles with duration 30 days each cycle. Between each stress cycle, the plants were kept in reconditioning for 15 days, with irrigation in field capacity for all treatments. In the second experiment, the effect of salinity was evaluated, in which the plants were irrigated with split doses of NaCl (15, 30, 50, 65, 50, 50, 50 and 50 mM), making two applications per week and increasing to concentration of the salt up to 360 mM in the irrigation water. Two cycles of saline stress (SS) with a duration of 30 days each cycle and with reconditioning (irrigation with deionized water) of 15 days between both cycles were applied. Both experiments were performed in the colder months (winter), being repeated in the second year, coinciding with the warmer months (summer). The treatments were arranged in a randomized block design in a 3x2 factorial scheme for experiment 1 (Water Deficiency) and 2x2 for experiment 2 (Salinity) in subdivided plots, with four replications per treatment. The evaluations and collections were always performed before the differentiation of the treatments (90 DAT), at the end of cycle 1 of stress (120 DAT), at the end of the reconditioning cycle (135 DAT) and at the end of cycle 2 of stress (165 DAT). The central hypothesis of the experiments is that the water restriction and the salinity could alter the physiology of different cultivars, and nitrogen should assume a prominent role in their tolerance. It was also evaluated the isotopic discrimination of ^{13}C and ^{15}N , as well as nutritional evaluation of the plants. At the same time, there was monitoring of the protected environment. For the

majority of parameters studied, such as water relations, biometrics, biomass and growth indices, it was detected that the intensity of the water and saline stress may have been influenced by the environmental conditions such as temperature and photoperiod to which the plants were exposed, generating a synergistic effect, being determinant factors for the responses of the two cultivars studied, especially the summer experiments. Metabolic activity can also be indicated as a tolerance factor, which reduced the impact of free radical formation, from the activation of antioxidative enzymes. For the evaluated parameters, cv. Obatã presented superior varietal characteristics of adaptation to those presented by cv. Catucaí.

Key words: Coffee, water deficiency, saline stress, metabolism, nitrogen, isotopic discrimination.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Assimilação líquida de CO ₂
AFE	Área foliar específica
CAT	Catalase
CE	Condutividade elétrica
<i>C_i</i>	Concentração interna de CO ₂
CRA	Conteúdo relativo de água
<i>E</i>	Taxa transpiratória
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GS	Glutamina sintetase
<i>g_s</i>	Condutância estomática ao vapor de água
KPa	Quilopascal
MF	Massa fresca
MFR	Massa fresca de raiz
MFC	Massa fresca de caule
MFF	Massa fresca de folhas
MS	Massa seca
MSC	Massa seca de caule
MSF	Massa seca de folhas
MSR	Massa seca de raiz
NR	Nitrato redutase
PE	Perda de eletrólitos
RAF	Razão de área foliar
RMF	Razão da massa foliar
SOD	Superóxido dismutase
¹³ C/ ¹² C	Razão isotópica do carbono sequestrado
¹⁵ N/ ¹⁴ N	Razão isotópica do nitrogênio

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1 O cultivo de cafeeiro.....	23
2.2 Irrigação, fertirrigação e salinidade no cafeeiro	24
2.3 Estresses ambientais	25
2.4 Deficiência hídrica	27
2.5 Estresse salino.....	29
2.6 Componentes do ciclo do nitrogênio e discriminação isotópica	31
2.7 Ciclo do carbono e mecanismos fotossintéticos	34
3 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 Localização dos experimentos	36
3.2 Material vegetal estudado	36
3.3 Análise do solo	37
3.4 Adubação mineral de plantio	37
3.5 Adubação de cobertura	38
3.6 Manejo da irrigação	38
3.6.1 Diagrama da curva característica de retenção de umidade no solo	38
3.6.2 Estimativa da lâmina de irrigação.....	39
3.6.3 Monitoramento da tensão de água no solo.....	40
3.7 Sistema de irrigação utilizado	41
3.8 Condições ambientais de cultivo	42
3.9 Delineamento experimental	42
3.9.1 Deficiência hídrica	42
3.9.2 Estresse salino	43
3.10 Análise estatística	43
3.11 Avaliações	44
3.11.1 Relações hídricas	44
3.11.1.1 Monitoramento do potencial hídrico xilemático.....	44
3.11.1.2 Conteúdo relativo de água (CRA)	44
3.11.1.3 Perda de eletrólitos.....	45
3.12 Variáveis do solo	45
3.12.1 Extração de solução do solo.....	45

3.13 Biometria.....	46
3.13.1 Parâmetros de crescimento: Diâmetro de caule, Altura de plantas, Número de folhas, Área foliar.....	46
3.13.2 Biomassa	47
3.13.2.1 Determinação da massa de matéria fresca e seca da parte aérea	47
3.13.2.2 Massa de matéria fresca e seca de raiz	47
3.13.3 Índices de crescimento	47
3.13.4 Avaliação nutricional da raiz, caule e folha	48
3.13.5 Avaliação de parâmetros fisiológicos das plantas	48
3.13.5.1 Trocas gasosas.....	48
3.13.5.2 Teor de pigmentos	49
3.13.6 Análises bioquímicas	49
3.13.6.1 Atividade da enzima nitrato redutase (NR)	49
3.13.6.2 Coleta, processamento e armazenamento do material vegetal incluindo a análise de variação isotópica.....	50
3.13.6.3 Procedimentos para obtenção do extrato bruto	50
3.13.6.4 Teor de proteína solúvel total (TPST)	51
3.13.6.5 Teor de L-prolina.....	51
3.13.6.6 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD).....	51
3.13.6.7 Atividade da enzima catalase (CAT).....	52
3.13.6.8 Atividade da enzima glutamina sintetase (GS)	52
3.13.7 Análises da razão isotópica de $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ e de $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
Experimento I: Deficiência hídrica	55
4.1 Condições ambientais de cultivo	55
4.2 Relações hídricas	56
4.2.1 Potencial hídrico foliar.....	56
4.2.2 Conteúdo relativo de água (CRA).....	58
4.2.3 Perda de eletrólitos	60
4.3 Biometria.....	62
4.3.1 Parâmetros de crescimento	62
4.3.1.1 Diâmetro de caule.....	62
4.3.1.2 Altura de plantas	63
4.3.1.3 Número de folhas por planta.....	65
4.3.1.4 Área foliar total.....	67
4.3.2 Biomassa	70

4.3.2.1 Matéria fresca e matéria seca de folhas.....	70
4.3.2.2 Matéria fresca e matéria seca de caule	72
4.3.2.3 Matéria fresca e matéria seca de raízes	75
4.3.3 Índices de crescimento.....	78
4.3.3.1 Área foliar específica (AFE).....	78
4.3.3.2 Razão da massa foliar (RMF).....	80
4.3.3.3 Razão de área foliar (RAF).....	82
4.3.4 Avaliação nutricional (folha, caule e raiz)	85
4.3.4.1 Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro no ensaio de inverno.	85
4.3.4.2 Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro no ensaio de verão	87
4.3.5 Avaliação de parâmetros fisiológicos das plantas	89
4.3.5.1 Trocas gasosas-inverno	89
4.3.5.1.1 Atividade fotossintética: Assimilação líquida de CO ₂ (A).....	89
4.3.5.1.2 Atividade fotossintética: Condutância estomática (g _s).....	90
4.3.5.1.3 Atividade fotossintética: Concentração intercelular de CO ₂ (C _i).....	93
4.3.5.1.4 Atividade fotossintética: Transpiração (E)	94
4.3.5.2 Trocas gasosas-verão	96
4.3.5.2.1 Atividade fotossintética: Assimilação líquida de CO ₂ (A)	96
4.3.5.2.2 Atividade fotossintética: Condutância estomática (g _s).....	97
4.3.5.2.3 Atividade fotossintética: Concentração intercelular de CO ₂ (C _i).....	100
4.3.5.2.4 Atividade fotossintética: Transpiração (E)	101
4.3.5.3 Teor de pigmentos.....	103
4.3.5.3.1 Clorofila a	103
4.3.5.3.2 Clorofila b	104
4.3.5.3.3 Carotenóides	107
4.3.6 Discriminação isotópica de carbono e nitrogênio	108
4.3.6.1 Razão isotópica do carbono sequestrado (δ ¹³ C / δ ¹² C).....	108
4.3.6.2 Razão isotópica do nitrogênio (δ ¹⁵ N / δ ¹⁴ N)	110
4.3.7 Análises bioquímicas.....	112
4.3.7.1 Determinação do teor de proteína solúvel total (TPST).....	112
4.3.7.2 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)	114
4.3.7.3 Atividade da enzima catalase (CAT)	116
4.3.7.4 Atividade enzimática da nitrato redutase (NR)	119
4.3.7.5 Atividade da enzima glutamina sintetase (GS).....	121

4.3.7.6 Determinação do teor de L-prolina.....	124
Experimento II: Salinidade	128
4.4 Relações hídricas	128
4.4.1 Potencial hídrico foliar.....	128
4.4.2 Conteúdo relativo de água (CRA)	130
4.4.3 Perda de eletrólitos	132
4.5 Variáveis do solo.....	135
4.5.1 Extração de solução do solo.....	135
4.6 Biometria.....	137
4.6.1 Parâmetros de crescimento	137
4.6.1.1 Diâmetro de caule.....	137
4.6.1.2 Altura de plantas	138
4.6.1.3 Número de folhas por planta.....	140
4.6.1.4 Área foliar total.....	142
4.6.2 Biomassa	144
4.6.2.1 Matéria fresca e matéria seca de folhas	144
4.6.2.2 Matéria fresca e matéria seca de caule	147
4.6.2.3 Matéria fresca e matéria seca de raízes	149
4.6.3 Índices de crescimento	151
4.6.3.1 Área foliar específica (AFE)	151
4.6.3.2 Razão da massa foliar (RMF)	153
4.6.3.3 Razão de área foliar (RAF)	154
4.6.4 Avaliação nutricional (raiz, caule e folha).....	157
4.6.4.1 Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro no ensaio de salinidade no inverno.....	157
4.6.4.2 Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro no ensaio de salinidade no verão.....	160
4.6.5 Avaliação de parâmetros fisiológicos das plantas.....	162
4.6.5.1 Trocas gasosas-inverno.....	162
4.6.5.1.1 Atividade fotossintética: Assimilação líquida de CO ₂ (A)	162
4.6.5.1.2 Atividade fotossintética: Condutância estomática (g _s)	163
4.6.5.1.3 Atividade fotossintética: Concentração intercelular de carbono (C _i)	165
4.6.5.1.4 Atividade fotossintética: Transpiração (E).....	165
4.6.5.2 Trocas gasosas-verão	168
4.6.5.2.1 Atividade fotossintética: Assimilação líquida de CO ₂ (A)	168
4.6.5.2.2 Atividade fotossintética: Condutância estomática (g _s)	169

4.6.5.2.3 Atividade fotossintética: Concentração intercelular de carbono (C_i).....	171
4.6.5.2.4 Atividade fotossintética: Transpiração (E)	171
4.6.5.3 Teor de pigmentos.....	174
4.6.5.3.1 Clorofila a	174
4.6.5.3.2 Clorofila b	175
4.6.5.3.3 Carotenoides	177
4.6.6 Discriminação isotópica de carbono e nitrogênio	178
4.6.6.1 Razão isotópica do carbono sequestrado ($\delta^{13}C / \delta^{12}C$).....	178
4.6.6.2 Razão isotópica do nitrogênio ($\delta^{15}N / \delta^{14}N$)	179
4.6.7 Análises bioquímicas.....	181
4.6.7.1 Determinação do teor de proteína solúvel total (TPST).....	181
4.6.7.2 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)	183
4.6.7.3 Atividade da enzima catalase (CAT)	185
4.6.7.4 Atividade enzimática da nitrato redutase (NR)	189
4.6.7.5 Atividade da enzima glutamina sintetase (GS).....	190
4.6.7.6 Concentração de L-prolina	193
5 CONCLUSÃO.....	197
6 REFERÊNCIAS.....	199

1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro (*Coffea arabica* L.) é uma planta pertencente à família Rubiaceae, sendo que seus frutos possuem elevado valor nutritivo e econômico, usados como matéria prima para a produção da bebida mais consumida no mundo, o café.

A espécie é cultivada em mais de 75 países, sendo o Brasil o maior produtor seguido por Vietnam, Indonésia, Colômbia e Etiópia. Segundo o relatório da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) esses países contribuíram com 64,44% da produção mundial de café no ano de 2011 (FAO, 2013).

No Brasil, os principais estados produtores de café Arábica no ano de 2016 foram Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás e Mato Grosso, que correspondem por cerca de 98,6% da produção nacional (CONAB, 2017). Dentre as cultivares que apresentam vantagens de adaptação e estabilidade ante estresses bióticos e abióticos, se encontram a cv. Catucaí e cv. Obatã.

A cv. Catucaí amarelo possui particularidades que a tornam importante, principalmente a tolerância à ferrugem, além de ter copa estreita (menor diâmetro), boa produtividade e produção de frutos maiores e uniformes (FUNDACAOPROCAFE, 2015). Outra vantagem dessa cultivar é a tolerância à *Phoma/Ascochyta*, tornando-a apta para plantações em regiões úmidas, está adaptada a regiões frias e com altitude elevada, é semi precoce e em condições de deficiência hídrica moderada a floração não é afetada (CAFEPPOINT, 2016).

A cv. Obatã apresenta resistência à ferrugem, é de porte baixo e apropriado para plantio adensado, sendo que essas características atendem as exigências da cafeicultura moderna no país. Em comparação às cultivares Catucaí amarelo e vermelho, a cv. Obatã produz sementes maiores com elevadas produções, motivo que tem permitido a sua acelerada expansão (IAC, 2018).

As lavouras cafeeiras irrigadas são importantes para proporcionar maiores ganhos de produção que variam de 35 a 70 sacas ha⁻¹ em condições comerciais. Desta forma, os resultados agrônômicos e econômicos justificam o crescente uso de irrigação na cafeicultura.

O manejo adequado da irrigação e o uso eficiente da água proporcionam maiores produtividades e qualidade de grãos (FERNANDES E SANTINATO, 2010). Entretanto, as previsões de disponibilidade de água indicam uma crescente

escassez e baixa qualidade deste recurso, o que exigirá uma melhor gestão e aproveitamento do mesmo para garantir a biodiversidade, seja qual for o bioma. Neste sentido é previsível que nas próximas décadas, a água destinada para irrigação seja ainda mais escassa, com maior nível de salinidade e alta concentração de alguns elementos tóxicos para as plantas. O objetivo geral do trabalho foi caracterizar, por meio de medidas biométricas, fisiológicas e bioquímicas em plantas de cafeeiro, impactos do estresse promovido por deficiência hídrica e salinidade e comparar as alterações da relação isotópica $\delta^{15}\text{N}$ (‰) e $\delta^{13}\text{C}$; Especificamente os ensaios foram conduzidos para determinar a sensibilidade de variação da relação isotópica $\delta^{15}\text{N}$ (‰) e $\delta^{13}\text{C}$ para diferentes intensidades e formas de estresse em plantas de cafeeiro, indicando ou não estas relações como mais uma ferramenta para o diagnóstico de estresse em plantas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O cultivo de cafeeiro

Brasil é o maior produtor e exportador de café do mundo, com área plantada superior a 2.100.000 hectares, com produtividade média nacional subindo de 12 para 18 sacas de 60 kg ha⁻¹. As lavouras irrigadas representam 30% da produção nacional, vantagem superior à produção de sequeiro (OIC, 2016). Segundo Fernandes e Santinato (2010), os inegáveis resultados agrônômicos e econômicos justificam o crescente uso de irrigação na cafeicultura, atualmente com mais de 260.000 ha de cafeicultura irrigada. O manejo adequado da irrigação proporciona maior produtividade do cafeeiro, além do uso eficiente da água e de energia.

Atualmente a maioria das lavouras cafeeiras no Brasil são implantadas com cultivares da espécie *C. arabica*, com bebida de qualidade e de maior aceitação pelo mercado consumidor. Originalmente plantas da variedade arábica foram introduzidas no Brasil e aos poucos foram sendo diversificadas pela introdução de novas cultivares como Bourbon vermelho e Sumatra e por material genético originado no Brasil, como amarelo de Botucatu, Maragogipe, Caturra e Bourbon amarelo.

Em 1949, foram realizadas as primeiras hibridações entre plantas selecionadas de 'Caturra Amarelo' e de 'Mundo Novo', no intuito de associar a rusticidade e a produtividade de 'Mundo Novo' ao porte reduzido de 'Caturra', característica de grande interesse econômico, por facilitar os tratos da lavoura e a colheita do produto. Dessas hibridações e das seleções efetuadas resultaram os cv. 'Catuaí Amarelo' e 'Catuaí Vermelho', de porte reduzido, alto vigor vegetativo e produção segundo Carvalho e Mônaco (1972).

O lançamento pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) da cultivar Catuaí, plantas de porte baixo, rústicas e de alta produtividade, no início da década de 1970, modificou sistemas de produção e permitiu a utilização de novas áreas para a cafeicultura, viabilizando o cultivo de café em regiões outrora improdutivas, como o Cerrado, destacando o plantio da linhagem Catuaí 99 na região de Franca, estado de São Paulo e a linhagem Catuaí 144 no Triângulo Mineiro.

A cultivar Obatã, lançado oficialmente no ano 2000, foi originado por hibridações de linhagens Villa Sarchi e híbridos Timor. A cv. Obatã é resistente à

ferrugem e possui sementes maiores que as das cultivares Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo. Como características principais, a cultivar apresenta porte baixo, brotos novos de coloração verde e com boa qualidade de bebida (FAZUOLI, 2012). Além disso, a Obatã é muito exigente em termos de nutrição e mais sensível à seca do que a cultivar Catuaí, sendo indicado principalmente para cultivos irrigados.

2.2 Irrigação, fertirrigação e salinidade no cafeeiro

O cafeeiro é muito exigente em água, variando conforme o estágio fenológico da cultura e outros parâmetros como umidade relativa do ar, velocidade do vento, evapotranspiração de referência e área foliar média. A deficiência hídrica causa severas perdas na produção de café, sendo capaz de elevar em 45% o índice de grãos malformados quando tal deficiência coincide com a fase de granação (MARCONATO, 2012), afetando e reduzindo o crescimento vegetativo e a produção da safra seguinte. Sendo assim, o uso de irrigação é fundamental e crescente nas regiões e épocas com regime de pluviosidade irregular (FERNANDES e SANTINATO, 2012).

A irrigação tem sido utilizada mesmo nas regiões consideradas tradicionais para o cafeeiro, como o sul de Minas Gerais, Zona da Mata (MG), Mogiana Paulista, Espírito Santo, etc. Trabalhos de pesquisa demonstram que a produtividade média com o uso da irrigação (médias de pelos menos 3 safras) tem sido 50% maior, quando comparada com as lavouras de sequeiro na região de Lavras e Viçosa (MG), regiões consideradas aptas climaticamente ao cultivo do cafeeiro, sem a necessidade de irrigação (FERNANDES, 2012).

Visando proteger-se das oscilações climáticas dos últimos anos os produtores vêm se utilizando de sistemas de irrigação cada vez mais sofisticados. Em geral a irrigação do cafeeiro é feita por dois métodos: aspersão e irrigação localizada. A irrigação e os aumentos de produtividade a ela associados, possibilitou a expansão da cultura ao norte e noroeste de Minas Gerais, sudoeste e oeste da Bahia, norte do Espírito Santo e no cerrado da região Centro-Oeste, segundo Figueirêdo et al. (2006).

No Brasil, a fertirrigação tem se firmado como uma técnica muito promissora, principalmente entre os proprietários de sistemas de irrigação por métodos pressurizados (LEITE JÚNIOR, 2003). A fertirrigação possibilita otimizar o uso de insumos através da aplicação frequente e parcelada de fertilizantes através do

sistema. A técnica proporciona ganhos de produtividade e qualidade à cultura, pois permite a adubação em doses, épocas e localização ideais ao cultivo, além de maior eficiência no uso dos fertilizantes (ZANINI et al., 2002). Estes autores também alertaram que o uso impróprio da fertirrigação pode resultar, em aumento da salinidade. Como exemplo, aplicações excessivas de cloreto de potássio provocam desequilíbrio de cátions e estresse salino em cafeeiros.

Medeiros e Gheyi (1994) também explicam que normalmente, a salinidade em áreas irrigadas é consequência do uso de água de qualidade inadequada, associado ao manejo do sistema solo-água-plantas. Com relação às espécies vegetais, os efeitos da salinidade e/ou da sodicidade, são diferentes, variando entre espécies e genótipos de uma mesma espécie. Isto ocorre porque algumas espécies produzem rendimentos aceitáveis, em níveis relativamente altos de condutividade elétrica e outras são sensíveis (AYERS e WESTCOT, 1999). Entretanto, pela importância do cafeeiro no cenário nacional, os técnicos e produtores sentem a necessidade de informações que melhor orientem sobre as respostas do cultivo à salinidade e sobre o correto manejo da irrigação, para o aumento de produtividade. Karasawa et al. (2000), observando o efeito de cinco níveis de condutividade elétrica na água (1,5; 2,0; 3,0; 4,5 e 6,0 dS m⁻¹) no desenvolvimento de mudas de cafeeiro. Os autores verificaram que todas as plantas morreram na ordem decrescente de concentração de sais o que pode evidenciar que a cultura, nesta fase, é susceptível à salinidade. Matiello (1999), trabalhando com irrigação por gotejamento em cafeeiro, observou que mesmo as plantas jovens suportam bem a salinidade até 2,0 dS m⁻¹ e que, em determinados períodos no ano, apresente boa distribuição das chuvas. Segundo Figueirêdo (2006), o crescimento inicial do cafeeiro é prejudicado pela salinidade da água, a partir de 1,2 dS m⁻¹, podendo paralisar seu crescimento e levá-lo à morte.

2.3 Estresses ambientais

O estresse pode-se definir como um desvio considerável das condições ótimas para a vida. Essas condições causam alterações ou mudanças incluindo todos os níveis funcionais dos organismos. Biologicamente, o estresse refere-se às mudanças meio ambientais que conseguem alterar a fisiologia das plantas (LARCHER, 1995).

Os estresses ambientais como a seca, excesso de água no solo, salinidade, altas e baixas temperaturas, são os que provocam variações no rendimento das colheitas de ano para ano, considerando-se como fatores importantes que limitam a produtividade no mundo. Segundo Benavides. (2002), apenas 10% da superfície terrestre arável está isenta de algum tipo de estresse. Estima-se que aproximadamente 15% do globo terrestre são afetadas por temperatura, 20% apresenta deficiência ou toxicidade por minerais e 26% sofrem de estresse por seca (BLUM, 1988). Inclusive em condições de agricultura protegida, seja em estufas agrícolas ou túneis baixos, os estresses bióticos e abióticos afetam e ditam a produtividade.

As plantas têm desenvolvido mecanismos de tolerância-adaptação, os quais variam conforme o genótipo, permitindo-lhes suportar os estresses ambientais; como por exemplo, períodos de estiagem (CHAVES et al., 2002; SHVALEVA et al., 2006). Neste sentido, as alterações morfofisiológicas como interrupção no crescimento, controle no fechamento dos estômatos e transpiração, fazem parte desses mecanismos desenvolvidos pelos vegetais (NOGUEIRA et al., 2005; CHAVES et al., 2002). Ademais, a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células, afeta o sistema de membranas, isto ocorre nas plantas que passam por eventos de estresse e seca prolongada (BROETTO et al., 2002). Para lidar com a falta de água nos tecidos vegetais, existem alguns metabólitos como açúcares, prolina e glicina betaína (SMIRNOFF, 1998), os quais podem auxiliar na preservação da integridade das estruturas e funções da membrana celular, evitando efeitos drásticos nas plantas. Durante eventos com deficiência hídrica, diversos metabolitos secundários encontram-se incluídos como parte da resposta antioxidativa, por exemplo, carotenoides, fenóis, flavonoides, polióis e quinonas (HOEKSTRA et al., 2001; OLIVER et al., 2001; FARRANT, 2000).

Além disso, as enzimas do sistema antioxidativo como: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), polifenol oxidase (PPO), glutathione redutase (GR), lipoxigenase (LOX) e ascorbato peroxidase (APx), aumentam a sua atividade para combater os radicais livres que atacam às proteínas, fosfolipídios e DNA das células que tem sido danificadas pela restrição hídrica (PASTORI e FOYER, 2002; HOEKSTRA et al., 2001; OLIVER et al., 2001). Diante disso, a DH em plantas origina a produção de EROs, conhecidas também como radicais livres e são produzidas majormente nos peroxissomos, cloroplastos e majormente nas

mitocôndrias (OLIVER et al., 2001). Para lidar com esse tipo de estresse, mecanismos de tolerância são ativados por meio de solutos anfífilicos como compostos fenólicos, compostos secundários (flavonoides e alcaloides) e carboidratos. Conforme a turgescência da planta diminui e, para manter a fluidez e evitar a rigidez da membrana celular, os solutos anfífilicos se deslocam do citoplasma aquoso para a fase lipídica da mesma (HOEKSTRA e GOLOVINA, 2002; HOEKSTRA et al., 2001; OLIVER et al., 2001; GOLOVINA et al., 1998; HOEKSTRA et al., 1997).

Os danos causados pelo estresse salino e pela deficiência hídrica têm sido destacados sobre alguns parâmetros fisiológicos (KRAMER e BOYER, 1995), na assimilação líquida de CO₂ (DIMITROVA et al., 2017; BRITO et al., 2014), no conteúdo relativo de água (KARASAWA et al., 2003; CAI, et al., 2005) e área foliar (FIGUEIRÊDO et al., 2006; ZONTA et al., 2009).

2.4 Deficiência hídrica

A importância da água para os seres vivos é o resultado das suas propriedades físicas e químicas (NOBEL, 1991). A água é o doador de H⁺, que são absorvidos e depois assimilados pelas plantas durante a fotossíntese. Também é um solvente para muitas substâncias, como sais inorgânicos, açúcares e ânions orgânicos e é o ambiente onde acontecem todas as reações metabólicas das células. Água na forma líquida permite a difusão e fluxo de massa de solutos e, portanto, é essencial para o transporte e distribuição de nutrientes e metabólitos. A água é importante nos vacúolos de células vegetais exercendo pressão sobre o protoplasma e a parede celular, mantendo assim a turgescência em folhas, raízes e outras partes da planta (SANCHEZ-DIAZ e AGUIRREOLEA, 1993). A quantidade de água presente nos tecidos vegetais é, provavelmente, a medida mais acessível do seu estado hídrico. Além disso, o parâmetro termodinâmico, normalmente usado para descrever o estado energético da água nas plantas é o potencial hídrico (Ψ), definido como: $\Psi = (\mu_w - \mu_{0w}) / V_w$, sendo μ_{0w} o potencial químico da água pura à mesma pressão e temperatura, e a V_w o volume parcial molar da água ($V_w = 18,05 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3/\text{mol}$) (NOBEL, 1983; PASSIOURA, 1982). Com esta definição, Ψ tem dimensões de pressão, normalmente expressos em kilo ou Mega Pascal (kPa e MPa). O potencial hídrico da água livre é considerado nulo, caindo para valores

negativos, quando advém qualquer fator que reduz sua disponibilidade físico-química.

Para medir o Ψ , utiliza-se a técnica de câmara de pressão, descrita por Scholander et al. (1965). Este instrumento é mais adequado para uma leitura rápida e fácil do potencial hídrico em condições de campo (BENNETT, 1990; SPOMER, 1985). A DH é o principal problema ambiental em regiões de clima seco ou semiárido, o qual se impõe como fator limitante à produção vegetal, causando grandes impactos econômicos (ABRISQUETA, 2012; SHAO et al., 2008; SAVÉ et al., 1999; TERRADAS e SAVÉ, 1992).

Todos os aspectos de crescimento e desenvolvimento são afetados pela DH nos tecidos das plantas. As consequências da DH iniciam com redução no volume celular, aumento na concentração de solutos e a gradativa desidratação do protoplasto, afetando primeiramente o crescimento e a seguir a inibição do metabolismo de proteínas, redução na atividade da redutase do nitrato e desencadeamento na síntese de ácido abscísico, promovendo fechamento estomático. Com aumento na intensidade da desidratação, processos catabólicos se acentuam e aceleram a senescência foliar (TAIZ e ZEIGER, 2008; LARCHER, 2000).

Castillo (2011) descreve que as plantas apresentam três vias principais e padrões de adaptação à deficiência hídrica: 1 - Mecanismos de evitação da seca, quando as plantas aceleram ou encurtam seu ciclo de desenvolvimento de forma a completá-lo antes da estação seca, adaptações que podem significar máximo crescimento e máxima eficiência no uso de água, mas que não são considerados mecanismos de resistência; 2- Mecanismos tolerantes a seca, caracterizados por modificações que permitam suportar certo grau de desidratação de tecidos sem reduções drásticas de suas atividades vitais. Kramer e Boyer (1995) destacam redução na expansão foliar, aumento nos teores de açúcares em raízes e aminoácidos em folhas. Solominos (2010) sugere a influência de reguladores de crescimento, de ajuste osmótico e de maior elasticidade celular como mecanismos de tolerância a nível molecular, de estrutura de membranas e enzimáticos; 3 - Mecanismos de evitação da desidratação, caracterizados por tecidos que reagem contra a sua desidratação, como maior crescimento de raízes, redução da condutância estomática e da transpiração nas folhas.

Em resposta a tais situações algumas espécies recorrem ao ajustamento osmótico como forma de tolerância a desidratação severa. O ajustamento osmótico pode ser alcançado com o acúmulo de solutos inorgânicos (principalmente K^+) nos vacúolos e compostos orgânicos (trehaloses, prolina, polióis) no citosol de forma a manter o equilíbrio hídrico da célula, sendo a prolina um dos compostos mais bem estudado como resposta de plantas a DH (NOGUEIRA, 2005).

Kramer e Boyer (1995), explicam que ligeira desidratação no solo causa elevação na concentração de ácido abscísico e alteração na condutividade hidráulica da raiz e do xilema, que podem induzir o fechamento estomático e redução da expansão foliar em momentos de alto déficit de pressão de vapor. A equipe de Boyer acredita que a diminuição da atividade fotossintética por desidratação moderada é um efeito metabólico e a concentração intercelular de carbono se mantém alta e até aumenta com a seca. Outro importante mecanismo de tolerância à desidratação dos tecidos consiste na economia de água através da redução na transpiração (fechamento estomático, enrolamento e mudança de ângulo foliar, espessamento de cutículas e abscisão de folhas), além do aumento na capacidade de absorção de água (aprofundamento do sistema radicular, aumento na relação raiz/parte aérea).

2.5 Estresse salino

A salinidade está presente naturalmente nas áreas ou regiões áridas e semiáridas do planeta, resultado da acumulação de sal solúvel tanto no solo quanto no lençol freático durante extensas eras geológicas. A salinidade secundária diferente da natural, é ocasionada por distintas técnicas agrícolas, a qual se encontra em crescimento constante (MUNNS, 2011). Por exemplo, as práticas impróprias desde o desenho e manejo inadequado dos sistemas de irrigação, contribuem à salinização dos solos (PASSARAKLI, 1991). Esse fator abiótico tem-se tornado o mais importante, sendo que restringe a distribuição e produção das espécies vegetais (KOYRO et al., 2014), alterando os processos fisiológicos, bioquímicos e nutricionais (CRAMER et al., 1994). Neste sentido e para garantir a sua sobrevivência e produtividade, as plantas que se encontram em ambientes salinos geram mecanismos de adaptação para absorver, transportar e distribuir os nutrientes para os órgãos da planta e no interior das células (MUNNS e TERMAAT, 1986). Os compostos bioquímicos dos vegetais como, clorofila *a* (RHEIN et al.,

2015) e clorofila *b* (SHARMA; HALL, 1991), carotenoides (PINHEIRO et al., 2008) e proteínas (CHEN et al., 2007), também podem sofrer alterações em resposta à salinidade. Como estratégia para se proteger dos efeitos causados pela salinidade, algumas espécies de plantas acumulam o aminoácido prolina, o qual contribui oferecendo proteção celular, atuando de maneira antioxidante ante o estresse osmótico (TEXEIRA e PEREIRA, 2007). Quando o tempo de exposição às sais é prolongado e, acompanhado por altas concentrações salinas, os efeitos nas plantas são muito mais drásticos.

A acumulação de sais nas raízes e tecidos foliares provoca estresse osmótico e também obstrui o processo de homeostase celular por meio do impedimento da ingestão dos nutrientes e do acúmulo em concentrações altamente tóxicas de Sódio e Cloreto (Na^+ e Cl^-) no interior da célula (MARSCHNER, 2002; RUI et al., 2009; MEMON et al., 2010).

Níveis salinos elevados ou severos ocasionam gasto maior de energia para sintetizar solutos orgânicos, resultado do processo de ajustamento osmótico (RODRÍGUEZ et al., 1997). Também, pode ocorrer inativação das enzimas e inibição de proteínas quando a relação Na^+/K^+ é elevada (TAIZ e ZEIGER, 2004). Condições salinas elevadas provocam queda na capacidade fotossintética de diferentes espécies de plantas, acarretando alterações negativas no crescimento e produtividade das mesmas (NEVES et al., 2009). Segundo El-Shihaby et al. (2003); Munns e Tester (2008), a assimilação líquida de CO_2 e condutância estomática são reduzidas em diferentes espécies vegetais em resposta à salinidade, obviamente, o grau de redução dependerá do nível salino no local e/ou da concentração salina induzida. Modificações na absorção de nutrientes, na toxicidade iônica e potencial osmótico, são consequências acentuadas ocasionadas pela salinidade, as quais diminuem de maneira geral o desenvolvimento vegetal, trazendo estragos drásticos para a agricultura (TÁVORA et al., 2001; SOUZA et al., 2008; AHMED et al., 2010).

Por outro lado, as respostas das plantas perante a salinidade são diferentes, algumas espécies tolerantes (halófilas) produzem ganhos aceitáveis mesmo quando o nível salino é elevado, enquanto outras culturas sensíveis (glicófitas) a concentrações baixas sofrem efeitos no rendimento. A diferença entre essas plantas está na capacidade de adaptação osmótica, permitindo-lhes absorver a quantidade de água necessária apesar das condições de elevada salinidade. Essas diferenças na adaptação ajudam à classificação das culturas (tolerantes e sensíveis), o que

facilita à seleção das plantas tolerantes para produzir mesmo em solos salinizados (GARCÍA et al., 2011; NAZAR et al., 2011).

2.6 Componentes do ciclo do nitrogênio e discriminação isotópica

O nitrogênio está entre os principais elementos minerais, pois vem logo depois do C, O e H como componente de biomassa. A energia e a estrutura molecular necessária para a incorporação do nitrogênio provêm do metabolismo dos carboidratos o qual depende da fotossíntese e essa, por sua vez, depende dos compostos contendo nitrogênio, como, por exemplo, a clorofila, criando, assim, um ciclo de interdependência (LARCHER, 2006).

A assimilação de nitrogênio é o segundo maior processo metabólico nas plantas superiores, sendo superado apenas pela fixação fotossintética do CO_2 . As plantas absorvem o nitrogênio do solo nas formas de nitrato e amônio, sendo que o nitrato é a principal forma de nitrogênio inorgânico disponível para as plantas, e sua absorção depende do pH na rizosfera, sendo que, sob pH baixo, a absorção de nitrato é mais prejudicada que a de amônio (BUCHANAN et al., 2000).

No citoplasma das células, depois da absorção do nitrato (NO_3) pelas raízes das plantas, o primeiro passo é sua redução para nitrito (NO_2), reação essa catalisada pela enzima nitrato redutase (LARCHER, 2006).

A forma mais comum da enzima nitrato redutase usa, durante a redução de nitrato para nitrito, o NADH como doador de elétrons. No entanto, em tecidos não clorofilados pode utilizar tanto o NADH, quanto o NADPH (YANG e MIDMORE, 2005).

Depois da redução do nitrato para nitrito, ele é transportado rapidamente do citosol para o interior dos cloroplastos (em tecidos clorofilados) e plastídeos (em tecidos aclorofilados), onde será reduzido à amônia pela enzima nitrito redutase (NiR), usando ferredoxina reduzida como doadora de elétrons; esse transporte deve ser rápido, pois o nitrito é um íon altamente reativo e potencialmente tóxico para a célula. A ferredoxina reduzida é proveniente do transporte de elétrons da fotossíntese nos cloroplastos e do NADPH formado na rota da oxidação da pentose-fosfato nos tecidos aclorofilados (YANG e MIDMORE, 2005; TAIZ e ZEIGER, 2009).

Em seguida, esse amônio é incorporado em moléculas orgânicas, como aminoácidos e nucleotídeos, por meio da ação conjunta das enzimas glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT) (LARCHER, 2006).

A atividade da nitrato redutase muda de acordo com a fase da vida da planta; assim, possui sua maior atividade em órgãos de crescimento, durante a fase jovem, pois estes requerem grande quantidade de nitrato. A citocinina também estimula a produção de nitrato redutase, além de ser regulada pelas alternâncias entre luz e escuro (LARCHER, 2006).

Para um grande número de espécies, mesmo se elas forem colocadas em condições de luz constante, as oscilações circadianas da atividade da enzima nitrato redutase permanecerão por aproximadamente 24 horas, indicando que esse ritmo é endógeno (YANG e MIDMORE, 2005).

Considerando-se os macro e micronutrientes, o N é quantitativamente o mais importante para o crescimento das plantas. A forma de nitrogênio no solo (NO_3^- e NH_4^+) pode influenciar o balanço de cátions-ânions nas plantas (ENGELS e MARSCHNER, 1995).

O nitrogênio está presente no solo sob três formas principais: compostos orgânicos em restos vegetais, nos organismos e húmus do solo e em formas inorgânicas. Nesta última forma o N está representado pelo NH_4^+ fixado em minerais de argila e pelo NH_4^+ , NO_3^- e NO_2^- presentes na solução do solo (ARMSTRON, 2006). Medidas de discriminação isotópica são técnicas de grande utilidade para compreensão das relações entre as plantas e o meio ambiente onde se desenvolvem. Os isótopos são átomos de um mesmo elemento que diferem unicamente no número de nêutrons e, portanto, na sua massa atômica, mantendo-se idênticas as suas propriedades químicas (MATEO et al., 2004). No caso do nitrogênio, o ^{15}N é o isótopo estável de maior interesse nos estudos de ecofisiologia (MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, 2010). Sua descoberta data de 1929, sendo que sua aplicação aumentou fundamentalmente nas três últimas décadas graças à implantação de metodologias que utilizam a espectrometria de massas de fluxo de isótopos (MIDDELBOE e JOHANSEN, 1990).

A composição isotópica do nitrogênio se determina mediante a seguinte equação:

$$\delta_{15}\text{N} (\text{‰}) = \left(\frac{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{sustancia}}}{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{aire}}} - 1 \right) \cdot 1000$$

Onde ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ é a proporção na qual o ^{15}N se encontra em relação ao isótopo majoritário ^{14}N , na substância em questão e no ar; 0,3663%), se vem empregando para alcançar informação do tipo estrutural ou funcional, tanto em ecossistemas naturais o em sistemas agrícolas. A maioria dos estudos com N se concentram na avaliação do $\delta^{15}\text{N}$ como indicador ou marcador de N durante o ciclo vegetativo e sua eficiência de uso pela planta. Destacam-se também os estudos da distribuição do N absorvido nos distintos órgãos da planta e em momentos fenológicos diferentes. Por fim, para estudos de translocação, durante o ciclo vegetativo, do N acumulado no ano anterior nos órgãos de reserva, entre outros (MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, 2010). QUIÑONES et al. (2012) avaliaram o efeito da época de aplicação de N (primavera ou verão) utilizando uma fonte de KNO_3 enriquecido com ^{15}N 8,5%.

Verificaram o destino do N no sistema solo-planta em árvores jovens de laranjeira. Naceur-Khelil et al. (2013) avaliaram o destino de diferentes concentrações de nitrato de amônio marcado com ^{15}N em plantas de sorgo regadas com água de poço e água residuária, ambas não salinas. Sem dúvida, são escassos os estudos que demonstram a alteração isotópica $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ com as perdas de N do meio e, portanto, com a redução de sua eficiência (KRISZAN et al., 2009). Esta alteração indica que o sistema agrário é ineficiente (DESTAIN et al., 2010) e sua determinação em plantas proporcionaria uma informação valiosa sobre o manejo eficiente e sustentável dos fertilizantes nitrogenados na agricultura (WATZKA et al., 2006).

Recentemente, um Projeto europeu desenvolvido no Dep. de Irrigação do CEBAS-CSIC (Murcia, España), evidenciou uma possível correlação entre a salinidade e $\delta^{15}\text{N}$ em cultivos, que poderia ser causado pela redução significativa da absorção de NO_3^- , uma maior volatilização de NH_3 em função da elevação do pH e aumento da absorção de NH_4^+ em condições de salinidade (ROMERO-TRIGUEROS et al., 2014). Sem dúvida, há poucos relatos que buscaram tais correlações, citando-se o trabalho em plantas de alpiste desenvolvido por Van-Groenigen e Kessel (2002). Assim, a avaliação $\delta^{15}\text{N}$ no solo e em plantas pode permitir o uso mais eficiente da fertilização nitrogenada, conhecer as preferências

de absorção das plantas em relação ao nitrogênio, otimizando suas doses de aplicação.

2.7 Ciclo do carbono e mecanismos fotossintéticos

O mecanismo fotossintético ou vias bioquímicas da fotossíntese estão bem definidos na literatura. A maioria das plantas é classificada como C₃, nas quais, o primeiro produto formado na fase escura da fotossíntese é o ácido fosfoglicérico, um composto orgânico que contém três átomos de carbono. A segunda via bioquímica utilizada para concentrar carbono nas folhas é a via C₄ (ciclo de Hatch-Slack) a qual inicialmente fixa carbono inorgânico nas células do mesofilo em um composto de quatro carbonos, o ácido oxalacético (AOA). Em plantas C₄, o AOA é convertido a malato ou aspartato, que se difundem até o feixe vascular (coroa de Kranz). Nestas células, o malato será descarboxilado, liberando CO₂ para a enzima RUBISCO, iniciando o ciclo de Calvin.

A atmosfera contém CO₂ cujas formas ocorrem como isótopos ¹²C, ¹³C, e ¹⁴C nas proporções de 98.9%, 1.1%, e 10⁻¹⁰ %, respectivamente. As propriedades químicas do ¹³CO₂ são idênticas aquelas do ¹²CO₂, porém devido à pequena diferença na massa (2.3%), as plantas tendem a fixar menos o ¹³CO₂ que o ¹²CO₂. Plantas C₃ (δ ¹³C -28‰) discriminam mais ¹³CO₂ que as plantas C₄ (δ ¹³C -14 ‰). A maior discriminação de carbono ocorre durante a reação de carboxilação catalizada pela RUBISCO, a enzima primária de fixação de CO₂ em plantas C₃, apresentando uma discriminação intrínseca (δ ¹³C) de -30 ‰. Por outro lado, a PEP carboxilase, a enzima primária de fixação em plantas C₄, apresenta um efeito de discriminação isotópica muito menor (δ ¹³C = -2 a 5.7 ‰), segundo Condon et al., (2002).

Estudos sobre a relação da concentração de δ ¹³C com os efeitos da salinidade em plantas foram publicados por Guy et al. (1980), basicamente em plantas halófitas. Nestes estudos, os autores encontraram alto coeficiente de correlação (r² = 0,88) entre os dois fatores, inclusive em trabalhos de campo para a espécie *Salicornia europaea* (GUY et al., 1986). Flanagan e Jefferies (1989) observaram variação de -32,4 para -28,3 ‰ em halófitas cultivadas em ambiente

salino. Há muitas controvérsias a respeito dos mecanismos envolvidos nesta discriminação de carbono relacionado a estresses ambientais. No caso de plantas com plasticidade de modo fotossintético de C3 para C4 (WALKER e SINCLAIR, 1992). Guy et al. (1980) atribuíram tais mudanças a alteração da enzima primária de fixação de carbono, de Rubisco para PEP_{case}. Farquahr et al. (1982), no entanto apresentaram um modelo de redução da condutância estomática como responsável pelo rebaixamento da pressão intercelular de CO₂ fator que contribuiria com a discriminação durante a difusão e carboxilação. Esta discriminação se traduz como enriquecimento de ¹³CO₂. Os autores derivaram uma equação para δ ¹³C em plantas C3: $\delta^{13}\text{C} = -12.2 - 22.6 P_i/P_a$, onde P_i e P_a indicam a pressão parcial endógena e na atmosfera, respectivamente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização dos experimentos

Dois ensaios foram conduzidos em estufa agrícola com uma área de 70 m² no distrito de Rubião Júnior (Departamento de Química e Bioquímica do IB/UNESP) em Botucatu-SP (Figura 1), com as coordenadas geográficas 22° 51' de latitude Sul e 48° 26' de longitude Oeste e 815 m de altitude. Segundo a classificação de *Koppen* (CUNHA e MARTINS, 2009), o clima de Botucatu é classificado como Cfa, com verão chuvoso e inverno seco, apresentando temperaturas médias nos meses frios inferiores a 17 °C e do mês quente superior aos 23 °C.

Ambos os ensaios foram conduzidos no inverno de 2016 (março-setembro) e repetidos no verão de 2016-2017 (dezembro-maio), para aferir se existia interferência do clima sobre os parâmetros avaliados.

Figura 1. Ensaio com plantas de cafeeiro submetidas à DH e salinidade, realizados sob ambiente protegido



3.2 Material vegetal estudado

Foram utilizadas mudas de cafeeiro arábica, das cultivares Obatã e Catucaí (Figura 2). No inverno, o transplântio foi realizado no dia 12 de abril de 2016 e no verão o transplântio foi efetivado no dia 04 de janeiro de 2017, quando as plantas estavam com 6 pares de folhas. Posteriormente, para o ensaio de DH, as plantas foram submetidas a três níveis (tratamentos) de irrigação: 25, 50 e 100 % da necessidade hídrica da cultura. Separadamente, para o ensaio de salinidade, as plantas das mesmas cultivares foram submetidas a tratamento controle (sem NaCl) e outro tratamento com NaCl realizando aplicações semanais até atingir 360 mM.

Figura 2. Transplântio das mudas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí

3.3 Análise do solo

O solo utilizado foi coletado na Área Experimental da FCA-UNESP, Fazenda São Manuel. Coletaram-se amostras de solo á profundidade de 0,0 a 0,20 m e encaminhadas para o Dep. de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP-Sector de Solos e Nutrição Mineral, onde foram analisadas quanto ao teor de macro e micronutrientes (Quadro 1).

Quadro 1. Caracterização química do solo oriundo da Área experimental, Fazenda São Manuel-FCA-UNESP e utilizado para os ensaios.

Macronutrientes											
pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S
CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	-----			mmol _c /dm ³			-----		mg/dm ³
6.3	7	24	0	12	1.1	18	7.0	26.2	38.2	69	7
Micronutrientes (mg/dm ³)											
B		Cu		Fe				Mn		Zn	
0.70		1.4		14				9.8		1.0	

3.4 Adubação mineral de plantio

Com base na análise do solo (Quadro 1) foi calculada a necessidade de calcário dolomítico com poder relativo de neutralização 90% (PRNT) para elevar a saturação de bases (V%) para 70%, aplicando-se 1.3 g/vaso. Em seguida, o solo permaneceu coberto e úmido por aproximadamente 60 dias para reação de neutralização. Após o período de incubação do solo, realizou-se a adubação e em seguida foi feito o transplântio das mudas para vasos plásticos de 5L. As mudas de café foram fornecidas pelo viveiro “*Monte Alegre*” de Franca, SP.

Para a adubação de formação calculou-se conforme recomendado no Boletim 100 do IAC, para a cultura do café. A quantidade de fósforo (superfosfato simples) aplicado foi equivalente a 45 kg ha⁻¹ (8,0 g / vaso) e potássio na forma de cloreto de potássio 60 kg ha⁻¹ (0,50 g/vaso). Como fonte de micronutrientes (B, Cu,

Mn, Mo e Zn), foi utilizado *fritas* (elementos traços fritos) na quantidade de 0,50 g/vaso.

3.5 Adubação de cobertura

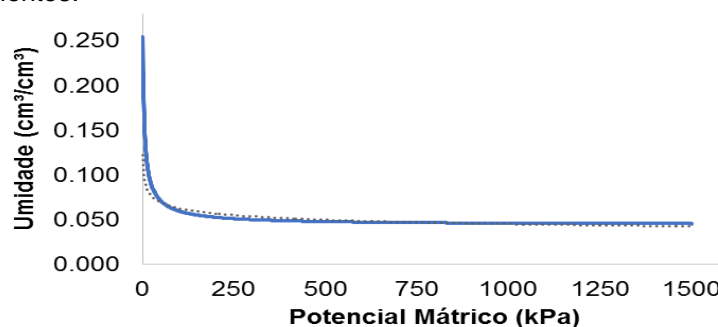
Em ambos os ensaios os vasos foram irrigados de forma a elevar o conteúdo volumétrico de água no solo ao ponto de capacidade de campo para ótimo condicionamento e desenvolvimento inicial das plantas. Aos quinze dias após o transplante (DAT) foi aplicada adubação de cobertura com fertilizantes de liberação gradual (*Producote – N – 6g/vaso* e *Producote – MAP – 6g/vaso*). Nesta etapa foi realizada uma pulverização foliar preventiva com fungicidas: *Mancozeb + Recop 10 g/2L + Micronutrientes (10g/2L)*.

3.6 Manejo da irrigação

3.6.1 Diagrama da curva característica de retenção de umidade no solo

As amostras foram coletadas conforme descrito no item 3.3 e posteriormente foram encaminhadas para o Dep. de Engenharia Rural da FCA-UNESP para a caracterização da curva de retenção de umidade (CRU) no solo (Figura 3), a qual foi obtida experimentalmente conforme o método de Richards (Laboratório de Irrigação – Dep. Eng^a Rural – FCA-UNESP – Botucatu, 2015). Utilizou-se o software SWRC (*Soil Water Retention Curve*) v. 3.0, conforme Dourado Neto et al. (1995) para a determinação da capacidade de água disponível (DCAD).

Figura 3. Diagrama da curva de retenção de água (θ , umidade volumétrica) característica do solo da Área experimental, Fazenda São Manuel- FCA-UNESP, utilizada para controle de umidade do solo durante os experimentos.



Além disso, para o ajuste da CRU foi adotado o modelo de Van Genuchten (1980), conforme a equação 1.

$$\theta = \frac{\theta_s - \theta_r}{[1 + (\alpha|\Psi_m|)^n]^m} \quad (1)$$

Em que:

$\theta(\Psi_m)$ = umidade volumétrica em função do potencial mátrico ($\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^3$);

θ_r = umidade volumétrica residual do solo, ($\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^3$);

θ_s = umidade volumétrica do solo saturado, ($\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^3$);

n e m = parâmetros de regressão da equação, (adimensionais);

α = parâmetros com dimensão igual ao inverso da tensão, (KPa^{-1});

Ψ_m = potencial matricial de água no solo, (KPa).

3.6.2 Estimativa da lâmina de irrigação

As necessidades de irrigação foram calculadas com base no potencial matricial do solo obtidos da curva característica e considerando-se o conceito da capacidade de água disponível (CAD), conforme a Equação 2.

$$\text{CAD} = (\text{CC} - \text{PMP}) \times Z \quad (2)$$

Em que:

CAD - capacidade de água disponível (mm);

CC - teor de água volumétrico na capacidade de campo ($\text{cm}^3 \text{ cm}^3$);

PMP - teor de água volumétrico no ponto de murcha permanente ($\text{cm}^3 \text{ cm}^3$);

Z - profundidade efetiva do sistema radicular (mm).

Diante disso, foi utilizado o método de Coeficiente de Uniformidade de Distribuição (CUD), realizando-se o teste de uniformidade de distribuição de água no sistema de irrigação antes da instalação dos experimentos, equação 3.

$$\text{CUD} = \frac{X_{25}}{\bar{x}} \times 100 \quad (3)$$

Em que:

CUD - coeficiente de uniformidade de distribuição em (98 %);

X_{25} - média dos 25% menores valores de vazão coletados (L h^{-1});

\bar{x} - lâmina média aplicada (L h^{-1}).

Conseqüentemente, prosseguiu-se à determinação da lâmina de irrigação (mm), conforme Equação 4.

$$L_a = FCAD/Ef \quad (4)$$

Em que:

L_a - lâmina aplicada (mm);

FCAD - fração da capacidade de água disponível (mm);

Ef - eficiência de irrigação (0,95).

Posteriormente foi calculado o tempo (minutos) de irrigação para cada tratamento conforme a Equação 5.

$$T_i = \frac{L_a \times A}{n \times q} \times 60 \quad (5)$$

Em que:

T_i - tempo de irrigação (minutos);

L_a - lâmina aplicada (mm);

A - área ocupada por planta (m^2);

n - número de emissores por planta (1);

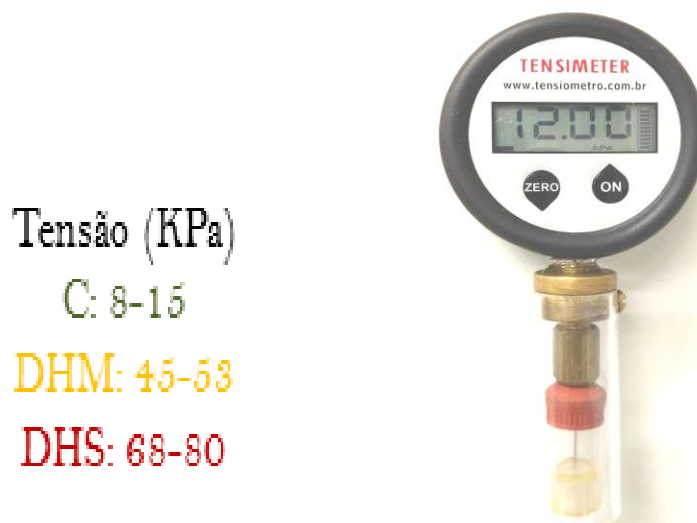
q - vazão do gotejador ($2,0 \text{ L h}^{-1}$).

Para o cálculo da lâmina de irrigação foi tomado como valor limite o ponto de murcha permanente (PMP), com valores de tensão entre 80-100 kPa ($\text{cm}^3 \text{ cm}^3$) e tensão mínima para a capacidade de campo (CC) de 15 kPa ($\text{cm}^3 \text{ cm}^3$) para a profundidade (z) de 0,20m.

3.6.3 Monitoramento da tensão de água no solo

Para tal fim, foram instalados 4 tensiômetros por tratamento a uma profundidade de 0,20 m e uma distância de 0,05 m do caule das plantas. Este parâmetro foi monitorado diariamente com tensímetro (Figura 4) digital (Hidrodinâmica, Brasil LTDA) no período da manhã (7:30-8:00 hrs) e posteriormente calculado o tempo para a aplicação das lâminas de irrigação.

Figura 4. Faixas de tensões para os tratamentos hídricos e tensímetro digital utilizado para determinação da tensão da água no solo (KPa).



3.7 Sistema de irrigação utilizado

Foi utilizado o sistema de irrigação por gotejamento em ambos os ensaios (Figura 5), com espaçamento de 0,20 m entre plantas e 0,40 m entre linhas de irrigação. O sistema de irrigação esteve constituído por linhas principais de PVC com diâmetro interno $\frac{3}{4}$ de polegada, registros e linhas de derivação com mangueiras de polietileno com diâmetro de 13 mm. No sistema foram utilizados gotejadores de botão autocompensado com vazão média de $2,0 \text{ L h}^{-1}$ conectados a distribuidores com duas saídas para um gotejador tipo flecha (lança gotejadora) de $1,0 \text{ L h}^{-1}$ por vaso com pressão de serviço de 10 mca.

Figura 5. Sistema de irrigação por gotejamento utilizado no cafeeiro



3.8 Condições ambientais de cultivo

Durante o período de ambos os ensaios, foram registrados com *datalogger* no interior da estufa os valores de temperatura e umidade relativa do ar com termo higrômetro digital. Com os dados obtidos, determinou-se o gráfico das temperaturas máximas, mínimas e média do interior da estufa.

3.9 Delineamento experimental

Para os experimentos, os tratamentos foram dispostos em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2 referente ao experimento 1 (Deficiência Hídrica) e 2x2 referente ao experimento 2 (Salinidade) em parcelas subdivididas, com quatro repetições por tratamento.

3.9.1 Deficiência hídrica

Os tratamentos foram divididos em três lâminas de irrigação: T1 – 25% da necessidade hídrica da cultura (NHC) – DHS= Deficiência hídrica severa; T2 – 50% da NHC – DHM= Deficiência hídrica moderada e T3 – 100% da NHC – C= Controle, sem restrição hídrica. A irrigação foi realizada conforme cada tratamento e em função da tensão de água do solo, com quatro repetições por tratamento. Foram realizados dois ciclos de deficiência hídrica (DH) com duração de 30 dias cada ciclo. Entre cada ciclo de estresse, as plantas foram mantidas em recondicionamento por 15 dias, com irrigação em capacidade de campo para todos os tratamentos. (Quadro 2a). Foram feitas avaliações aos 90 dias após transplântio (DAT), ao final do primeiro ciclo de estresse (120 DAT), ao final do ciclo de recondicionamento (135 DAT) e ao final do segundo ciclo de estresse (165 DAT).

Quadro 2a. Descrição e duração dos ciclos de deficiência hídrica e etapa de recondicionamento aplicado ao cafeeiro.

Capacidade de campo	Ciclo 1 de DH		Recondicionamento		Ciclo 2 de DH	
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
90 DAT	91 DAT	120 DAT	121 DAT	135 DAT	136 DAT	165 DAT

3.9.2 Estresse salino

Os tratamentos foram divididos em dois: T1-Tratamento controle, onde as plantas foram irrigadas com água deionizada e T2-Tratamento salino, no qual as plantas foram irrigadas com doses parceladas de NaCl (15, 30, 50, 65, 50, 50, 50 e 50 mM) perfazendo duas aplicações por semana e elevando-se a concentração final do sal até 360 mM na água de irrigação. A irrigação (água deionizada) foi feita para manter em capacidade de campo com base na tensão de água do solo. Neste experimento foram aplicados dois ciclos de estresse salino (ES) com duração de 30 dias cada ciclo e com condicionamento (irrigação com água deionizada) de 15 dias entre ambos os ciclos (Quadro 2b). Neste período, as avaliações foram feitas aos 90 dias após transplante (DAT), ao final do primeiro ciclo de estresse salino (120 DAT), ao final do ciclo de condicionamento (135 DAT) e ao final do segundo ciclo de estresse salino (165 DAT).

Quadro 2b. Descrição e duração dos ciclos de estresse salino e etapa de condicionamento aplicado ao cafeeiro.

Capacidade de campo	Ciclo 1 de salinidade		Recondicionamento		Ciclo 2 de salinidade	
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
90 DAT	91 DAT	120 DAT	121 DAT	135 DAT	136 DAT	165 DAT

3.10 Análise estatística

Para ambos os experimentos, foram feitas análises estatísticas com auxílio do pacote estatístico Minitab v.16, com o objetivo de compreender as causas de variação e conhecer as variáveis que influenciaram em maior relevância às diferenças entre os níveis de irrigação e salinidade.

Para as avaliações biométricas, parâmetros de relações hídricas, trocas gasosas, avaliações bioquímicas e discriminação isotópica do carbono e nitrogênio foram realizados as análises de variância e complementada com teste Tuckey, considerando-se $p < .05$.

3.11 Avaliações

3.11.1 Relações hídricas

3.11.1.1 Monitoramento do potencial hídrico xilemático

O potencial hídrico foliar (Ψ_{hf}) no xilema das plantas foi determinado imediatamente antes do amanhecer (Figura 6) aproximadamente às 5:00 horas (*predawn*), padronizando-se as medidas em folhas da parte mediana das plantas usando-se uma câmara de pressão tipo Scholander (SCHOLANDER, et al 1965) da *Soil Moisture Equipment Co.*, Santa Barbara, CA, USA, conforme Kramer e Boyer (1995). As medidas do Ψ_{hf} foram efetuadas aos 90 DAT, ao início (91 DAT) e fim (120 DAT) do ciclo 1 de estresse, ao final da etapa de condicionamento (135 DAT) e ao início (136 DAT) e fim (165 DAT) do ciclo 2 de estresse.

Figura 6. Medidas do potencial hídrico foliar no cafeeiro efetuado antes do amanhecer com auxílio da bomba de pressão (Mod. Scholander).



3.11.1.2 Conteúdo relativo de água (CRA)

Foram coletados três discos foliares ($0,69 \text{ cm}^2$ cada) e pesados em balança analítica (Tecnal Equip. Lab., Piracicaba, SP, Brasil) para obtenção da massa de matéria fresca dos mesmos (W_f). A massa do tecido túrgido (W_t) foi obtida após a hidratação dos discos durante 19 horas em placas de Petri contendo água deionizada. Após este tempo, retirou-se o excesso de água dos discos para determinar a massa do tecido túrgido. A massa do tecido seco (W_d) se obteve depois que os discos foram secos por 48 h a $60^\circ \text{C} \pm 5$ em estufa de circulação de ar forçada. O conteúdo relativo de água (CRA) foi calculado por intermédio da equação 6, conforme a metodologia apresentada por Jamaux et al. (1997):

$$\text{CRA} = [(W_f - W_d) / (W_t - W_d) - 1] \times 100 \quad (6)$$

3.11.1.3 Perda de eletrólitos

Este parâmetro detecta possíveis alterações na permeabilidade de membranas celulares. As amostras foram coletadas sempre antes da diferenciação dos tratamentos, ao final dos ciclos de recuperação e ciclos de estresse dos ensaios, realizando-se a análise em quatro repetições por tratamento, utilizando-se metodologia descrita por Lafuente et al. (1991).

Para a análise deste parâmetro, 30 discos foliares de 2 mm de diâmetro foram cortados e em seguida transferidos para beakers contendo 10 mL de uma solução 0.3 M de manitol os quais foram mantidos sob agitação durante 24 horas. Ao final da incubação, mediu-se a condutividade elétrica 1 (C.E 1) da solução, com auxílio de condutímetro digital portátil (Lutron, Taiwan). Prosseguiu-se a pesar o conteúdo (Becker + solução de manitol + discos) e em seguida foram colocados para fervura por um tempo de 10 minutos em aquecedor elétrico. Uma vez resfriada a solução a temperatura ambiente e sob agitação, os beakers foram pesados novamente, repondo com água destilada a diferença observada de volume evaporado. Finalmente, mantiveram-se sob agitação durante 30 minutos. Após este tempo, foi determinada a leitura 2 da C.E. A perda de eletrólitos (PE) é expressa em % da C.E total (equação 7).

$$C.E \text{ total} = \frac{C.E \ 1}{C.E \ 2} \times 100 \quad (7)$$

3.12 Variáveis do solo

3.12.1 Extração de solução do solo

Exclusivamente para o experimento 2 (salinidade), colocaram-se 4 extratores por tratamento a uma profundidade de 0,20 m a partir do centro (meio) da capsula porosa e uma distância de 0,05 m do caule. As coletas de solução do solo (extrator com capsula porosa) foram feitas aplicando-se pressão de 70 KPa durante dois minutos por meio de uma bomba a vácuo. A aplicação do vácuo nos extratores foi feita uma hora após a irrigação, sendo que a solução foi coletada 12 h após este procedimento, conforme Silva (2002). Este procedimento foi feito antes da

diferenciação dos tratamentos (90 DAT), na etapa de recuperação (135 DAT) e no final de cada ciclo de estresse salino (120 e 165 DAT) para determinação da condutividade elétrica (C.E) e pH. Posteriormente, a C.E da solução foi medida com condutivímetro portátil (Modelo AK51, AKSO Produtos eletrônicos, LTDA) e o pH com um potenciômetro de bancada (Modelo MA 522, Marconi, LTDA).

3.13 Biometria

3.13.1 Parâmetros de crescimento: Diâmetro de caule, Altura de plantas, Número de folhas, Área foliar.

Os parâmetros foram medidos em ambos os experimentos (DH e Salinidade), coletando-se 4 plantas (no final de cada ciclo) por tratamento para cada experimento, mediu-se o diâmetro de caule (mm) e altura de planta (cm^{-1}). Posteriormente, se separaram as folhas do caule e em seguida as folhas foram contabilizadas. A integração da área foliar (Figura 7) foi feita em equipamento LiCOR (mod. Li-3000 Área Meter) e expressa em $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$.

Figura 7. Integrador de área foliar utilizado nos experimentos



3.13.2 Biomassa

3.13.2.1 Determinação da massa de matéria fresca e seca da parte aérea

Foram realizadas quatro avaliações, coletando-se quatro plantas por tratamento ao final de cada avaliação de ambos os experimentos para avaliar a massa de matéria fresca (MMF) e massa de matéria seca (MMS) da parte aérea das plantas (caule, folhas), expressa em g planta⁻¹. As plantas coletadas e separadas em folhas e caule foram pesadas para determinação de MMF e posteriormente levadas a estufa de circulação de ar forçado a 60 °C ± 5 até massa constante, para determinação da MMS.

3.13.2.2 Massa de matéria fresca e seca de raiz

Ao final de cada ciclo, foram coletados os sistemas radiculares das plantas (4) através da separação do solo e das raízes, posteriormente foram lavadas cuidadosamente com água corrente em peneiras plásticas. Em seguida, o material foi pesado para determinação da massa de matéria fresca e depois levado a estufa de circulação de ar forçado a 60 °C ± 5, para secagem. Assim que o material alcançou massa constante, determinou-se a matéria seca, expressa em g planta⁻¹.

3.13.3 Índices de crescimento

Com os dados obtidos (itens anteriores) foi determinada a Área Foliar Específica (AFE), Razão de Massa Foliar (RMF) e Razão de Área Foliar (RAF), expressões utilizadas de acordo com Atwell et al., (1999) e Wilson et al. (1999), as quais passam a se descrever na sequência.

Área foliar específica (AFE)

A AFE é um indicador da relação entre a área e a massa foliar, esta expressão foi calculada mediante a equação 8 e expresso em cm² folhas g⁻¹ MS total.

$$\text{AFE} = \text{Área foliar} / \text{Massa seca das folhas} \quad (8)$$

Razão de massa foliar (RMF)

A RMF que indica a fração da biomassa total investida nas folhas, dita expressão calculou-se conforme a equação 9 e expressa em g^{-1} MS folhas g^{-1} MS total.

$$RMF = \text{MS folhas} / \text{MS total} \quad (9)$$

Razão de área foliar (RAF)

A RAF é a que reflete o tamanho da superfície fotossintética em relação à massa respiratória, podendo-se calcular de acordo com a equação 10 e expresso em cm^2 folhas g^{-1} .

$$RAF = \text{Área foliar} / \text{MS total} \quad (10)$$

3.13.4 Avaliação nutricional da raiz, caule e folha

Nos Experimentos da DH, ao final do segundo período de avaliação, foram coletadas quatro plantas por tratamento, dividindo o material em raiz, caule e folhas. O material foi lavado e seco em estufa de circulação de ar forçado a $60^\circ C$, até massa constante. Em seguida as amostras foram moídas e levadas ao laboratório para análise de macro e micronutrientes (FCA-UNESP).

Para os ensaios onde as plantas foram submetidas à salinidade, realizou-se o mesmo procedimento, sendo incluída a concentração de sódio e Cloro.

3.13.5 Avaliação de parâmetros fisiológicos das plantas

3.13.5.1 Trocas gasosas

Para os períodos de avaliações (antes da imposição dos tratamentos, ao final dos ciclos de estresse e ao final do ciclo de recuperação) do experimento de inverno e verão se fizeram 4 medições. Para tal fim, foram analisados os parâmetros fisiológicos de trocas gasosas no período da manhã (9:00 h – 11:30 h), utilizando-se medidor portátil de fotossíntese Mod. IRGA LI-COR 6400 (Figura 8). Nessas análises, foram medidas as seguintes variáveis: taxa de assimilação líquida de CO_2 (A), condutância estomática (g_s), concentração interna de carbono (C_i) e transpiração (E). Estas variáveis foram mensuradas em 4 plantas por tratamento durante o período de ambos os experimentos.

Figura 8. Medidas de trocas gasosas em plantas de cafeeiro com IRGA LI-COR 6400



3.13.5.2 Teor de pigmentos

Para a extração, foram utilizados por tratamento 4 discos foliares frescos com 1,01 cm de diâmetro, mantendo 1 disco por tubo de ensaio (duplicata) contendo 2 mL de Dimetil formamida (DMF) por 24 h no escuro. Após a incubação, a densidade ótica (D.O) da solução contendo os pigmentos foi determinada nos comprimentos de onda 480; 646,8 e 663,8 nm. O teor da clorofila *a* e *b*, e dos carotenoides foram determinados a partir das equações 11a, 11b e 12 descritas por Lee et al., (1987).

Equações para cálculo:

$$\text{Clorofila } a = (12 \times A_{663,8} - 3,11 \times A_{646,8}) / \text{área} \quad (11_a)$$

$$\text{Clorofila } b = (20,76 \times A_{646,8} - 4,88 \times A_{663,8}) \quad (11_b)$$

$$\text{Carotenoides} = (1000 \times A_{480} - 1,12 \text{ Clorofila } a - 34,07 \text{ Clorofila } b) / 245 \quad (12)$$

Em que, A = absorvância no comprimento de onda indicado (em nm).

3.13.6 Análises bioquímicas

3.13.6.1 Atividade da enzima nitrato redutase (NR)

A enzima nitrato redutase (NR) foi analisada *in vitro*, coletando-se folhas frescas e fisiologicamente maduras (provenientes do terço médio da planta), aproximadamente após quatro horas de iluminação natural. Cortou-se 250 mg de tecido foliar, utilizando-se unicamente a parte central da folha e evitando a nervura principal. O tecido vegetal foi transferido para tubos de ensaio com 10 mL de

solução de incubação (JAWORSKI, 1971). A solução foi constituída por tampão fosfato (KH_2PO_4 0,1 M; pH 7,5), KNO_3 (0,1M), e n-propanol (3% v/v). Os tubos, contendo o material vegetal foram infiltrados à vácuo por três ocasiões durante dois minutos com intervalo de 1 minuto. Posteriormente, os tubos foram mantidos em banho-maria a 30 °C, durante 1 hora e cobertos com papel alumínio. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 1 mL e transferiu-se para tubos esterilizados à qual foi adicionado 1 mL de sulfanilamida (1%) e 1 mL de N-naftil-etilenodiamino (0,02%). Depois do acréscimo destes reagentes os tubos de ensaio foram mantidos novamente em banho-maria durante 15 minutos e imediatamente a solução foi transferida para cubetas de vidro de 2 mL determinando-se a densidade ótica (D.O) a 540 nm em espectrofotômetro. Finalmente, a atividade da NR foi expressa em nmoles de NO_2 por grama de matéria fresca por hora de incubação ($\text{nM NO}_2 \text{ h}^{-1}$), conforme Jaworski (1971).

3.13.6.2 Coleta, processamento e armazenamento do material vegetal incluindo a análise de variação isotópica

Foram coletadas amostras foliares de quatro plantas por tratamento e imediatamente acondicionadas em nitrogênio líquido para congelamento instantâneo. O material foi identificado e mantido em Freezer a – 80 °C para a conservação intacta das amostras.

Para a trituração, as folhas foram dispostas e maceradas em almofariz, sempre na presença de nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó de fina granulometria. Em seguida, as amostras foram pesadas e transferidas para tubos plásticos *Falcon* e armazenadas em *Freezer* a – 80 °C. Exclusivamente, as amostras utilizadas para as avaliações de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) foram pulverizadas em moinho criogênico a 990 x g por 6 minutos. Posteriormente, se pesaram 50 μg para a análise do $\delta^{13}\text{C}$ e 500 μg para a determinação do $\delta^{15}\text{N}$.

3.13.6.3 Procedimentos para obtenção do extrato bruto

Obtiveram-se dois extratos diferentes: o primeiro para a análise do teor de proteína solúvel total e atividade enzimática e o segundo extrato para análise da concentração de L-prolina (aminoácido).

Para as análises do teor de proteína e atividade enzimática (SOD, CAT e GS), o extrato 1 se obteve pela ressuspensão de 400 mg de material vegetal em 4,0

mL de tampão fosfato de potássio 0.1 M, pH 7,8 suplementado com 300 mg de PVPP (polivinilpolipirrolidona) e ácido ascórbico (1%). Posteriormente, com a centrifugação por 10 minutos a 5.000 x g e 4 °C, o sobrenadante foi transferido para tubos *Eppendorf* e armazenados em freezer a - 80 °C.

No extrato 2, utilizado na avaliação da concentração de L-prolina, 100 mg de tecido foliar das plantas de café foram ressuspensas em 1,5 mL de ácido sulfosalicílico (3% em água destilada). Em seguida, foram centrifugados por 10 min a 5.000 x g e o sobrenadante transferido para tubos *Eppendorf* e armazenado em freezer a - 80 °C.

3.13.6.4 Teor de proteína solúvel total (TPST)

A concentração de proteína solúvel presente nos extratos vegetais do cafeeiro foi determinada em triplicata, utilizando-se o método descrito por Bradford (1976), usando como fonte de proteína padrão, albumina de soro bovino (BSA).

3.13.6.5 Teor de L-prolina

O teor de L-prolina ($\mu\text{g mL}^{-1}$ extrato) foi determinado conforme Bates et al. (1973). Para a realização do teste colorimétrico, foram utilizados 100 μL do extrato bruto; 2,0 mL de ácido acético glacial; 2,0 mL de ninhidrina ácida e em seguida transferidos para tubos de ensaio, os quais foram colocados em banho-maria para aquecimento a aproximadamente 100 °C por 60 minutos. Após este tempo, os tubos foram resfriados em banho de gelo por 5 minutos e adicionaram-se 4 mL de tolueno. Para extrair a solução de reação, os tubos foram mantidos sobre agitação em vortex por 30 s, utilizando-se o cromóforo (parte superior, orgânica) para efetuar a leitura a 520 nm em espectrofotômetro. Para a determinação do teor de prolina nas amostras (extrato bruto de folhas), foi determinada uma curva padrão com diferentes concentrações (0, 20, 40, 60, 80 e 100 μg) de L-prolina p.a.

3.13.6.6 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

A atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) foi feita conforme descrito por Del Longo et al. (1993), Giannopolitis e Ries (1997). A reação consistiu pela adição de 30 μL do extrato bruto a uma solução composta, contendo 13 mM de metionina, 75 μM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 μM de riboflavina em 3,0 mL de

tampão fosfato de potássio 50 mM, com pH 7,8. Prepararam-se tubos denominados “brancos”, os quais receberam os mesmos reagentes e protegidos da luz, cobertos com papel alumínio. A reação foi iniciada pela iluminação em câmara composta por tubos fluorescentes (15 W), a 25 °C durante 5 minutos. Após esse tempo de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz. O composto azul formado (formazana) pela fotoredução do NBT (Azul de nitrotetrazólio cloreto) determinou-se pela leitura da densidade ótica (D.O) em espectrofotômetro a 560 nm e a atividade foi expressa em $U\ g^{-1}\ MF\ min^{-1}$.

Uma unidade SOD se define como a quantidade de enzima necessária para inibir 50 % da fotoredução do Azul de nitrotetrazólio cloreto. Para efetuar o cálculo da atividade específica desta enzima, toma-se em conta a inibição obtida (%), o volume da amostra (μL) e finalmente a concentração em $\mu g\ \mu L^{-1}$ de proteína contida na amostra. A atividade enzimática da SOD pode-se calcular conforme a fórmula 13.

$$\% \text{ Inibição SOD} = \frac{\text{Controle} - \text{Amostra}}{\text{Controle}} \times 100 \quad (13)$$

3.13.6.7 Atividade da enzima catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada em comprimento de onda de 240 nm pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio, conforme Peixoto et al. (1999). Para o teste, foram adicionados 50 μL do extrato bruto a 950 μL de tampão fosfato de potássio 50 mM, com pH 7,0 e suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12.5 mM. A variação da absorção (ΔE) foi calculada em um intervalo de 80 s, sendo a atividade desta enzima calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar $\epsilon = 39,4\ mM^{-1}\ cm^{-1}$. A atividade específica ($\mu Kat\ \mu g\ Prot^{-1}$) da CAT, levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste.

3.13.6.8 Atividade da enzima glutamina sintetase (GS)

Para determinação da atividade enzimática da GS (glutamina sintetase), utilizou-se a metodologia proposta por Elliot (1953). Este método tem a finalidade de estudar a atividade biossintética da GS na catalise da formação de γ -glutamil hidroxamato.

Para isto, utilizaram-se tubos de ensaio, onde foram transferidos 250 μL de tampão TRIS-HCL 200 mM com pH 7,5; 100 μL de ATP 50 mM, pH 7,0; 250 μL de glutamato de sódio 500 mM; 50 μL de sulfato de magnésio 1 M; 50 μL de cisteína 100 mM; 150 μL de hidroxilamina 100 mM com pH 7,0 e finalmente, adicionaram-se 150 μL do extrato bruto, completando-se o total de 1000 μL de volume. Em seguida, os tubos foram colocados sob agitação contínua em banho-maria a 30 °C durante 15 minutos. Após essa etapa de incubação e para interromper a reação, foi adicionado 1 mL da solução composta (1:1:1) por FeCl_3 (10 %), TCA (24 %) e HCl (6 N), o que formou um precipitado da cor marrom-amarelado. Posteriormente, os tubos foram levados à centrifugação por 5 minutos a 5000 x g e em seguida transferiu-se o sobrenadante em cubetas de plástico para efetuar a leitura em espectrofotômetro a 540 nm. Para a determinação da atividade enzimática foi utilizado o coeficiente de extinção molar do γ -glutamil hidroxamato: $\epsilon_{505} \gamma\text{-glutamil hidroxamato} = 4.66 \cdot 10^6 \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. O cálculo da atividade enzimática foi calculada conforme a equação 14. Deste modo, a atividade da GS é expressa em $\text{nM } \gamma\text{-glutamil min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$.

$$\text{nM } \gamma\text{-glutamil min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF} = \frac{D.O \times 20 \times \text{volume do sobrenadante} \times 1,5}{\text{peso da amostra} \times \text{tempo de incubao} \times 4,66} \quad (14)$$

3.13.7 Análises da razão isotópica de $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ e de $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$

Folhas de cafeeiro foram coletadas, transferidas para saquinhos de papel previamente identificados e posteriormente levadas para estufa de ventilação forçada para secagem (Marconi – MA 035, Piracicaba, Brasil) à temperatura de 50 °C durante 48 h. As análises foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis (CIE), IBB-Unesp - *Campus* de Botucatu. Separadamente, as amostras foram colocadas em frascos e em seguida moídas em moinho criogênico de nitrogênio líquido (Spex 6700-230 freezer/mill – Spex Industries, Edison, Estados Unidos) durante seis minutos a -196 °C e 990 x g, obtendo-se finalmente um pó homogêneo e de fina granulometria (DUCATTI et al., 1982). Para análise da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ foram utilizados 50 μg de material vegetal e para a medida da razão isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ utilizaram-se 500 μg . O material vegetal foi pesado dentro de cápsulas de estanho e introduzidas por meio de amostrador automático no Analisador Elemental (EA 1108 – CHN – Fisons Instruments, Rodano, Itália) onde, em presença de oxigênio (O_2) e

óxido de cobre (CuO) o material foliar foi incinerado quantitativamente com o objetivo de obter CO₂ e NO_x. Por fim, o NO_x foi reduzido a N₂ na presença de Cu. Diante disso, na coluna cromatográfica gasosa, os gases formados foram separados e analisados em espectrômetro de massas de razões isotópicas (Delta S – Finnigan MAT, Bremen, Alemanha).

Conforme aos padrões internacionais *Pee Dee Belemnite* (PDB) para o ¹³C e, nitrogênio do ar atmosférico para ¹⁵N, os valores das razões isotópicas são expressos em delta per mil (δ‰), conforme a equação geral 15.

$$\delta\text{‰} (\text{amostra, padrão}) = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) / R_{\text{padrão}}] \times 1000 \quad (15)$$

Em que R representa a razão entre o isótopo menos abundante e o mais abundante, em particular ¹³C/¹²C e ¹⁵N/¹⁴N.

Cada amostra foi analisada duas vezes (duplicata), obtendo-se os valores médios; as medidas foram repetidas unicamente quando o desvio padrão foi superior que 0,2‰ para δ‰ ¹³C e superior que 0,4‰ para δ‰ ¹⁵N.

Para análise foi utilizado um espectrômetro de massa de baixa resolução (IRMS/EA). O carbono presente na matriz foi convertido em dióxido de carbono, com o uso de cápsula de estanho a temperatura de 1050 °C, no Analisador Elemental acoplado ao espectrômetro de massa.

No IRMS/EA o dióxido de carbono foi ionizado por impacto de elétrons com energia da ordem de 70 elétrons volt e resolvido para as massas/cargas: 44 (¹²C ¹⁶O ¹⁶O)⁺, 45 (¹³C ¹⁶O ¹⁶O; ¹²C ¹⁷O ¹⁶O)⁺, 46 (¹²C ¹⁸O ¹⁶O)⁺. A razão ¹³C/¹²C foi analisada da combinação das relações das massas 45/44; 46/44 e corrigida a contribuição de ¹⁷O na massa 45.

A razão ¹³C/¹²C da amostra foi mensurada comparativamente com a razão ¹³C/¹²C do padrão internacional PDB (Fóssil **Belemnitella americana** da formação cretácea *Pee Dee* do Sul da Carolina, USA).

A comparação relativa entre a amostra e padrão expressa-se na terminologia isotópica como enriquecimento relativo ou delta per mil, mensurada pela expressão: δ‰ ¹³C = [(R amostra/R padrão) – 1] 10³, na qual, R é a razão isotópica ¹³C/¹²C da amostra e padrão, respectivamente e δ ‰ ¹³C é o enriquecimento relativo (delta per mil) da amostra relativa ao padrão PDB.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento I: Deficiência hídrica

Os resultados e discussão dos experimentos realizados nas estações de **inverno** e **verão**, do ensaio de deficiência hídrica estão descritos a seguir. Preliminarmente, serão apresentados dados climáticos do interior da estufa, relações hídricas, biometria, parâmetros de crescimento, biomassa, índices de crescimento, avaliação nutricional (raiz, caule e folha), trocas gasosas, teor de pigmentos, discriminação isotópica do ^{13}C e ^{15}N e análises bioquímicas.

4.1 Condições ambientais de cultivo

No decorrer do ensaio registraram-se os valores de temperatura com termo higrômetro digital (datalogger), com os dados armazenados calculou-se a temperatura média, mínima e máxima diária (Figuras 9 e 10).

Figura 9. Temperaturas média, mínima e máxima registradas no inverno, entre os meses de Março a Setembro de 2016, no interior da estufa.

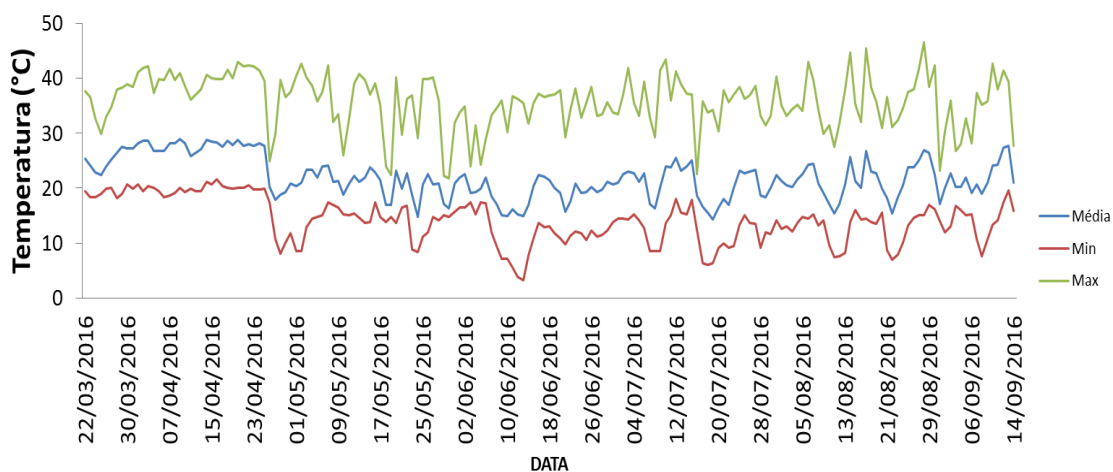
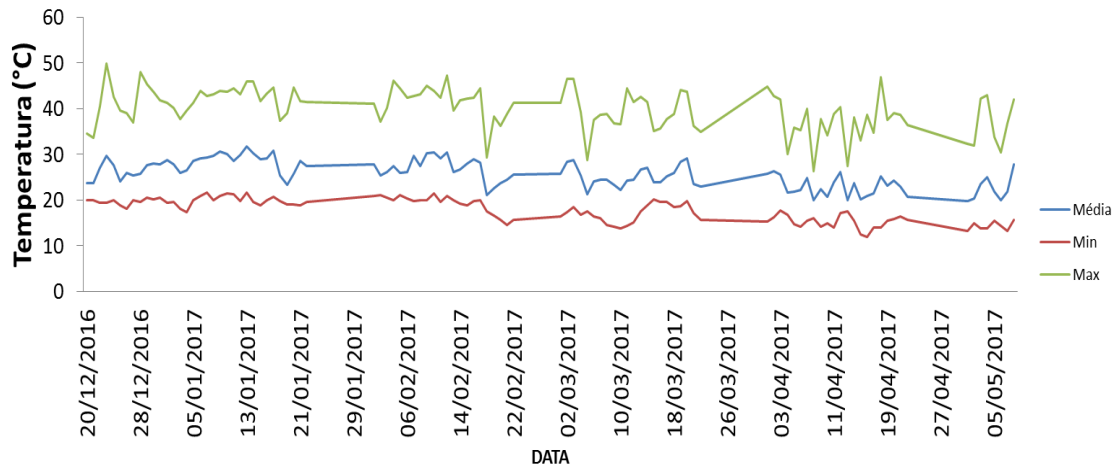


Figura 10. Temperaturas média, mínima e máxima registradas no verão, entre os meses de Dezembro a Maio de 2016 - 2017, no interior da estufa.



4.2 Relações hídricas

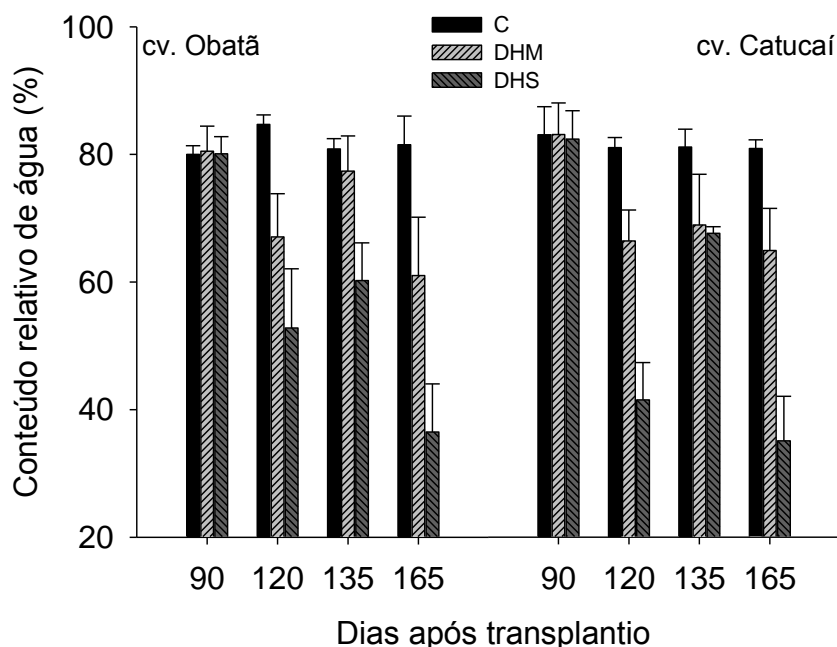
4.2.1 Potencial hídrico foliar

No ensaio de inverno, antes da diferenciação dos tratamentos, as plantas de café foram mantidas em condições adequadas de umidade (Figura 11), portanto os valores de potencial hídrico foliar (Ψ_{hf}) efetuado antes do amanhecer (*predawn*) variou de -0.231 a -0.256 MPa, o que significa que não sofreram algum tipo de estresse por falta de água (90 DAT). Conseqüentemente, durante o primeiro e segundo ciclo de estresse (91-120 e 136-165 DAT) as plantas apresentaram um aumento gradual negativo conforme á severidade da deficiência hídrica, isto é, o objetivo da imposição do estresse foi evidenciado e segundo o monitoramento do Ψ_{hf} as plantas responderam positivamente ao ciclo de recuperação (135 DAT), já que os valores de potencial hídrico foliar foram similares aos registrados antes da imposição dos tratamentos. Resultados similares foram encontrados por Tesfaye et al. (2013) em diferentes clones de cafeeiro, as mudas após estarem submetidas à DH e serem reidratadas o potencial hídrico foliar aumentou, alcançando valores similares aos do controle.

4.2.2 Conteúdo relativo de água (CRA)

Em plantas de café cultivadas no inverno o conteúdo relativo de água não apresentou diferenças durante os primeiros 90 DAT. Já com a imposição do primeiro ciclo de DH (120 DAT) comprovou-se que conforme a severidade do estresse os tecidos foliares sofrem prejuízos quanto à disponibilidade de água, o que confirma que as plantas com CRA menor dificilmente conseguem o desenvolvimento normal dos tecidos (Figura 13). É importante ressaltar que as plantas da DHS no ciclo de reidratação (135 DAT) conseguiram manter o estado hídrico similar ao das plantas sob DHM e com a imposição do ciclo 2 de DH (165 DAT), o efeito causado pela disponibilidade de água no solo trouxe perdas significativas no CRA tanto nos tecidos foliares em condições de DHM e conseqüentemente em tecidos vegetais do tratamento DHS. Por outro lado, entre cultivares, somente no ciclo 1 de DH as plantas da cv. Catucaí foram as mais afetadas pela DHS.

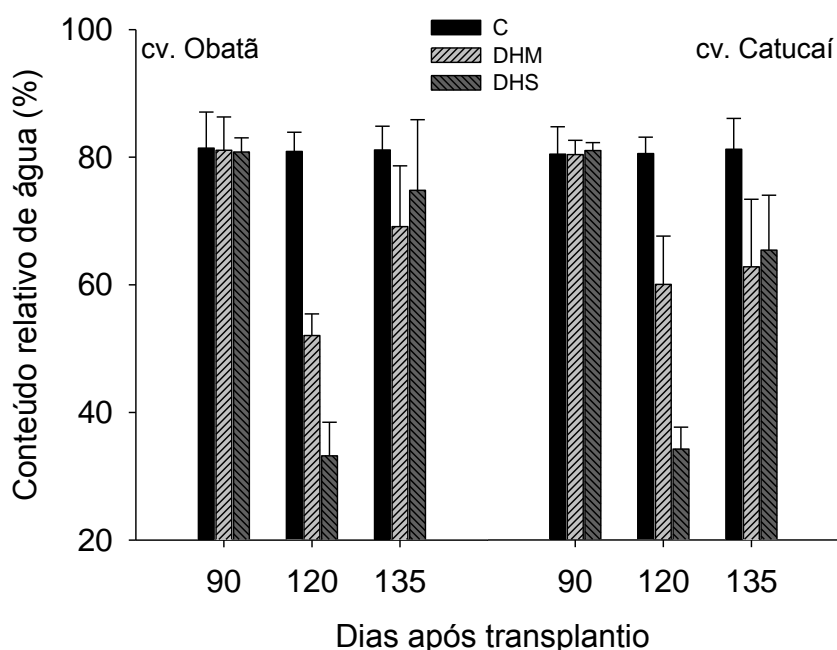
Figura 13. Conteúdo relativo de água em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



No ensaio de verão (Figura 14), as plantas de cafeeiro submetidas à DH foram prejudicadas logo que a disponibilidade de água no solo diminuiu (120 DAT). Por contrapartida, ao se efetivar a recuperação (135 DAT) as plantas da DHS conseguiram se reidratar de forma similar quando comparadas ao controle, sendo o

tratamento DHM quem manteve os tecidos foliares das plantas em condições de turgidez semelhantes como constatado no primeiro ciclo de estresse. Nesta etapa houve desdobramento da interação aos 165 DAT (Tabela 1).

Figura 14. Conteúdo relativo de água em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, e 135 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



O CRA aos 165 DAT apresentou redução de forma gradual quando a restrição da água no solo era maior (DHM e DHS) nas plantas da cv. Obatã (Tabela 1). Já nas plantas da cv. Catucaí, os tratamentos da DH tiveram o mesmo comportamento, porém diferiram quando comparadas ao controle. Assim entre as cultivares, o tecido foliar de plantas da cv. Obatã obteve os menores valores de água apenas no tratamento com DHS. Estudos feitos em duas cultivares de cafeeiro submetido à DH e com período de reidratação o CRA diminuiu na época de seca, aumentando no período de reidratação, porém, somente uma cultivar de cafeeiro alcançou valores similares às plantas sem restrição hídrica (CAI, et al 2005).

Tabela 1. Desdobramento da interação para conteúdo relativo de água em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Conteúdo relativo de água (%) - 165 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			p
	C	DHM	DHS	
Obatã	82,35 Aa	54,61 Ba	38,75 Cb	L = 0,0001
Catucaí	81,11 Aa	51,44 Ba	47,04 Ba	cv = 0,369
				L x cv = 0,016

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.2.3 Perda de eletrólitos

A perda de eletrólitos em plantas de cafeeiro cultivadas no inverno foi modificada no Ciclo 1, referente ao tratamento DHM (Tabela 3). Entretanto, os valores da DHS e controle não foram alterados significativamente. No ciclo 2 (Tabela 2), embora não haja diferença estatística, os valores absolutos indicam claramente que o tratamento DHS induziu a maior perda de eletrólitos, principalmente para a cv. Obatã. Houve desdobramento da interação exclusivamente aos 120 DAT, quando ocorreu o ciclo 1 da DH (Tabela 3).

Tabela 2. Perda de eletrólitos em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Tratamentos	Perda de eletrólitos (% C.E. total)		
	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	135	165
C	51,80 a	28,10 a	43,45 ab
DHM	46,97 a	28,82 a	35,68 b
DHS	47,63 a	27,31 a	63,08 a
Cultivar (cv)			
Obatã	51,96 a	29,97 a	52,53 a
Catucaí	45,64 a	26,18 a	42,27 b
	L = 0,628	L = 0,925	L = 0,016
p	cv = 0,128	cv = 0,282	cv = 0,008
	L x cv = 0,517	L x cv = 0,905	L x cv = 0,623

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

De conformidade com o desdobramento da interação para perda de eletrólitos (PE) em plantas de cafeeiro aos 120 DAT, apenas as plantas da DHM obtiveram o valor maior, sendo os tratamentos controle e DHS que apresentaram valores inferiores (Tabela 3). Similarmente, entre cultivares a cv. Catucaí obteve valores menores de PE em plantas submetidas à DHM.

Tabela 3. Desdobramento da interação para perda de eletrólitos em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Perda de eletrólitos (% C.E. total) - 120 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	41,69 Ba	78,39 Aa	30,61 Ba	L = 0,003
Catucaí	27,49 Aa	27,09 Ab	37,93 Aa	cv = 0,0005
				L x cv = 0,0004

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

As plantas de cafeeiro crescidas no **verão** não apresentaram alterações quanto a perda de eletrólitos aos 120 e 135 DAT, apesar da imposição do ciclo 1 de estresse (120 DAT) durante 30 dias. Já aos 165 DAT (ciclo 2 de DH), unicamente as plantas do tratamento com DHS apresentaram o valor maior para este parâmetro (Tabela 4), o mesmo foi observado no experimento de inverno. Por outro lado, entre as cultivares, a cv. Obatã manifestou a maior alteração na PE ao se aplicar ambos os ciclos de deficiência hídrica.

Tabela 4. Perda de eletrólitos em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Perda de eletrólitos (% C.E. total)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	16,38 a	20,84 a	17,95 a	23,70 b
DHM	15,61 a	23,45 a	18,11 a	23,03 b
DHS	18,53 a	28,84 a	16,80 a	29,51 a
Cultivar (cv)				
Obatã	17,27 a	26,98 a	18,67 a	27,96 a
Catucaí	16,41 a	21,78 b	16,57 a	22,87 b
<i>p</i>	L = 0,347	L = 0,058	L = 0,605	L = 0,017
	cv = 0,572	cv = 0,049	cv = 0,060	cv = 0,047
	Lxcv = 0,052	Lxcv = 0,523	Lxcv = 0,776	Lxcv = 0,838

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3 Biometria

4.3.1 Parâmetros de crescimento

4.3.1.1. Diâmetro de caule

Para o DC não houve diferenças entre cultivares no experimento de inverno durante os primeiros 90 DAT. Porém quando foram aplicados os tratamentos de DH, as alterações foram nítidas, principalmente durante o segundo ciclo de estresse (Tabela 5). Já na fase de recuperação, o DC das plantas afetadas pela DH aparentemente se recuperou e alcançou expansão similar ao caule das plantas sem restrição hídrica.

Tabela 5. Diâmetro de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Tratamentos	Diâmetro de Caule (mm)			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	6,21 a	6,38 a	6,19 a	9,39 a
DHM	6,18 a	5,93 ab	5,96 a	7,14 b
DHS	5,99 a	5,61 b	6,03 a	6,62 b
Cultivar (cv)				
Obatã	6,18 a	6,03 a	6,21 a	7,87 a
Catucaí	6,07 a	5,91 a	5,91 a	7,56 a
	L = 0,479	L = 0,037	L = 0,731	L = 0,0001
<i>p</i>	cv = 0,603	cv = 0,549	cv = 0,149	cv = 0,127
	L x cv = 0,713	L x cv = 0,579	L x cv = 0,783	L x cv = 0,161

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No cultivo de verão, o DC em plantas de cafeeiro foi alterado desde a imposição do primeiro ciclo de estresse, afetando-se principalmente as plantas da DHS (Tabela 6). Embora tenha sido aplicada a reidratação nos tratamentos com DH o DC das plantas não continuaram a mostrar diferenças, apresentando valores inferiores quando comparados com o controle. Conseqüentemente, para o segundo ciclo de DH, quanto menor a quantidade de água aplicada, menor foi o diâmetro de caule das plantas. Já entre as cultivares, observou-se que desde o início dos tratamentos hídricos a cv. Catucaí sempre apresentou DC menor, mantendo-se até o fim do experimento.

Comparando-se os dois experimentos, concluiu-se que os tratamentos hídricos contribuíram para mudança de padrão de expansão do caule, com maior incidência no verão sendo que o período de recuperação não alterou esta mudança. Também, ficou claro que a cv. Obatã foi superior à cv. Catucaí em relação ao DC. O mesmo foi observado em mudas de eucalipto submetidas à DH com períodos de recuperação, em que o diâmetro de caule foi menor nos tratamentos com DH quando comparado com as plantas controle (KLIPPEL et al. 2014).

Tabela 6. Diâmetro de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Tratamentos	Diâmetro de Caule (mm)			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	5,17 a	6,62 a	6,35 a	7,84 a
DHM	5,33 a	6,14 ab	5,70 b	6,29 b
DHS	5,10 a	5,27 b	5,56 b	5,43 c
Cultivar (cv)				
Obatã	5,22 a	6,22 a	6,17 a	6,78 a
Catucaí	5,18 a	5,80 b	5,56 b	6,26 b
	L = 0,472	L = 0,011	L = 0,014	L = 0,0001
<i>p</i>	cv = 0,791	cv = 0,043	cv = 0,004	cv = 0,007
	L x cv = 0,233	L x cv = 0,115	L x cv = 0,895	L x cv = 0,227

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.1.2. Altura de plantas

As plantas de cafeeiro apresentaram diferenças em altura já no primeiro ciclo de estresse, aos 120 DAT para o cultivo de inverno. No ciclo de reidratação (135 DAT), somente as plantas submetidas à DHS parecem ter se recuperado mesmo assim apenas em relação às plantas sob DHM (Tabela 7). Houve interação aos 165 DAT, equivalente ao segundo ciclo de DH (Tabela 8). Nesta avaliação, tanto a lâmina DHS como a cultivar, apresentam interação, com a cv. Obatã melhor adaptada à falta de água.

Tabela 7. Altura de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Tratamentos	Altura de plantas (cm)		
	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	42,62 a	49,81 a	52,93 a
DHM	42,31 a	45,81 b	48,35 b
DHS	40,87 a	40,51 c	45,37 b
Cultivar (cv)			
Obatã	42,70 a	45,54 a	49,94 a
Catucaí	41,16 b	45,21 a	47,83 b
	L = 0,367	L = 0,0002	L = 0,001
<i>p</i>	cv = 0,024	cv = 0,668	cv = 0,020
	L x cv = 0,195	L x cv = 0,120	L x cv = 0,535

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 8. Desdobramento da interação para altura de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Cultivar (cv)	Altura de plantas (cm) - 165 DAT			
	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	51,50 Aa	52,12 Aa	50,00 Aa	L = 0,041
Catucaí	53,50 Aa	50,75 Aa	44,00 Bb	cv = 0,021
				L x cv = 0,002

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Plantas de cafeeiro cultivadas no verão e submetidas à DH apresentaram alturas menores no ciclo 1 e na fase de recuperação (Tabela 9), quando comparadas as plantas controle. Também houve interação no ciclo 2 (165 DAT), principalmente para as plantas do controle quando comparadas com as plantas estressadas, com diminuição significativa em função da severidade do estresse (Tabela 10). Entretanto, entre as duas cultivares, a única diferença detectada foi quanto ao crescimento maior da cv. Obatã, nas plantas do tratamento controle. Conforme literatura, a DH repercute no crescimento das plantas. Rodrigues et al. (2015) ao submeter mudas de cafeeiro em diferentes lâminas de irrigação verificaram que a altura das plantas diminuiu linearmente com a redução da água disponível no solo.

Tabela 9. Altura de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Tratamentos	Altura de planta (cm)		
	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	38,12 a	48,37 a	52,12 a
DHM	37,75 a	40,50 b	45,50 b
DHS	38,12 a	36,87 b	42,87 b
Cultivar (cv)			
Obatã	38,58 a	41,91 a	47,00 a
Catucaí	37,41 a	41,91 a	46,66 a
	L = 0,854	L = 0,0002	L = 0,0008
<i>p</i>	cv = 0,138	cv = 1,000	cv = 0,834
	L x cv = 0,094	L x cv = 0,600	L x cv = 0,814

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 10. Desdobramento da interação para altura de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Cultivar (cv)	Altura de planta (cm) - 165 DAT			
	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	59,62 Aa	48,25 Ba	44,50 Ca	L = 0,0001
Catucaí	56,50 Ab	50,25 Ba	46,50 Ca	cv = 0,690
				L x cv = 0,023

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.1.3 Número de folhas por planta

Para o ensaio de inverno, o número de folhas em plantas de cafeeiro diminuiu significativamente quando submetidas ao primeiro ciclo de DH (120 DAT), sendo afetadas as plantas da DHS. Consequentemente, com a imposição do ciclo de recuperação, as mesmas conseguiram se recuperar (Tabela 11), mostrando assim comportamento similar ao controle. Já entre as cultivares, não houve diferenças significativas para este parâmetro. No ciclo 2 houve interação para as plantas da cv. Catucaí com DH quando comparadas ao controle. No entanto, entre as cultivares, existiu diferença para a cv. Catucaí com maior número de folhas, nas plantas do tratamento C e DHM (Tabela 12). Pizzeta et al. (2005) trabalharam com DH em cafeeiro em diferentes épocas de restrição hídrica e comprovaram que o número de folhas é reduzido e inferior ao controle independentemente da época de DH.

Tabela 11. Número de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Tratamentos	Número de folhas / planta ⁻¹		
	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	20 a	30 a	34 a
DHM	19 a	24 ab	28 a
DHS	20 a	22 b	26 a
Cultivar (cv)			
Obatã	20 a	27 a	30 a
Catucaí	19 a	24 a	29 a
	L = 0,503	L = 0,028	L = 0,154
<i>p</i>	cv = 0,287	cv = 0,217	cv = 0,506
	L x cv=0,624	L x cv = 0,670	L x cv =0,192

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

Tabela 12. Desdobramento da interação para número de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Cultivar (cv)	Número de folhas / planta ⁻¹ - 165 DAT			
	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	31 Ab	29 Ab	24 Aa	L = 0,002
Catucaí	45 Aa	36 Ba	26 Ca	cv = 0,001
	L x cv=0,044			

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

No experimento de verão, o número de folhas diminuiu com a severidade do estresse hídrico, mantendo assim o mesmo comportamento os tratamentos com DHM e DHS, tanto no ciclo de reidratação (135) quanto para o ciclo 2 de DH(165). Por outro lado, entre as cultivares não existiu diferença quanto ao número de folhas (Tabela 13). Em contrapartida, houve interação apenas para o ciclo 1 de DH, sendo as plantas da cv. Catucaí as mais afetadas pela falta de água (Tabela 14). Entre as duas cultivares, a Catucaí apresentou o maior número de folhas, somente nas plantas do tratamento controle.

Tabela 13. Número de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 135 e 165 (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Tratamentos	Número de folhas / planta ⁻¹		
	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	135	165
C	16 a	32 a	43,75 a
DHM	15 a	22 b	27,75 b
DHS	16 a	19 b	26,75 b
Cultivar (cv)			
Obatã	16 a	25 a	34,75 a
Catucaí	15 a	24 a	30,75 a
	L = 0,503	L = 0,0001	L = 0,007
<i>p</i>	cv = 0,136	cv = 0,636	cv = 0,108
	L x cv = 0,525	L x cv = 0,962	L x cv = 0,403

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 14. Desdobramento da interação para número de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 120 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Cultivar (cv)	Número de folhas / planta ⁻¹ - 120 DAT			
	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	20,50 Ab	18,00 Aa	14,75 Aa	L = 0,026
Catucaí	24,50 Aa	17,75 Ba	15,50 Ba	cv = 0,035
				L x cv = 0,044

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.1.4 Área foliar total

No período de inverno, a partir do ciclo 1 de restrição hídrica (120 DAT), as plantas submetidas à DH (DHM e DHS) se mostraram comprometidas quanto à expansão da área foliar total (AFT) em comparação com o controle (Tabela 15). Este desempenho, também foi manifestado entre as cultivares, sendo a cv. Obatã a que obteve maior AFT, ou seja, a que conseguiu se adaptar as condições hídricas restritas. A AFT apresentou interação aos 135 e 165 DAT (Tabela 16). Dias et al. (2007) que trabalhou com mudas de cafeeiro da cv. Catucaí e cv. Siriema sob DH, também amostrou menor AFT para a cv. Catucaí.

Tabela 15. Área foliar total de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e 120 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Área foliar total (cm² planta⁻¹)		
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)	
	90	120
C	574,93 a	976,81 a
DHM	578,36 a	665,81 b
DHS	537,91 a	542,27 b
Cultivar (cv)		
Obatã	579,85 a	817,57 a
Catucaí	547,61 a	639,03 b
	L = 0,490	L = 0,003
<i>p</i>	cv = 0,183	cv = 0,045
	L x cv=0,913	L x cv = 0,373

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

A análise do desdobramento da interação para a AFT prova que os tratamentos da DHM e DHS influenciaram negativamente no período de recuperação (135 DAT) assim como para o segundo ciclo de estresse (Tabela 16), trazendo efeitos negativos principalmente às plantas da cv. Catucaí do tratamento DHM e consecutivamente para as plantas com DHS aos 165 DAT. Contudo, entre cultivares, a cv. Obatã foi melhor avaliada nos dois tratamentos com DH (135 DAT) e no ciclo 2 de DH as plantas da cv. Catucaí do tratamento controle obtiveram a maior AFT, no entanto para DHM as plantas da cv. Obatã conseguiram se adaptar à deficiência hídrica e à temperatura. As espécies vegetais diferem no comportamento enquanto a quantidade de água aplicada, por exemplo, em duas cultivares de café, ao serem submetidas à DH e após período de reidratação uma cultivar apresentou maior área foliar do que a outra (CAI et al., 2005).

Tabela 16. Desdobramento da interação para área foliar total em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Área foliar total (cm² planta⁻¹) - 135 DAT				
Tratamentos				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	1082,42 Aa	910,44 ABa	814,06 Ba	L = 0,007
Catucaí	1134,59 Aa	763,14 Bb	600,03 Bb	cv = 0,016
				L x cv=0,032
Área foliar total (cm² planta⁻¹) - 165 DAT				
Tratamentos				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	1141,23 Ab	1150,61 Aa	755,15 Ba	L = 0,003
Catucaí	1337,29 Aa	955,21 Bb	657,83 Ba	cv = 0,422
				L x cv=0,006

DAT= Dias Após o Transplante; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O cafeeiro cultivado no verão sofreu alterações na área foliar total a partir do primeiro ciclo de DH (Tabela 17). Embora a DHS seja a mais rigorosa, o comportamento da AFT foi similar ao da DHM, sendo que, os valores dos tratamentos com DH foram inferiores quando comparados ao tratamento controle. No tocante às cultivares, não houve diferença significativa, conservando assim valores similares de área foliar total desde a imposição da DH (120 DAT) até o fim do segundo ciclo de estresse (165 DAT). Diante disso, diversos estudos comprovam que a menor irrigação afeta os índices de área foliar em cafeeiro (ZONTA et al, 2009; MEINZER et al., 1992).

Tabela 17. Área foliar total de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Área foliar total (cm² planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplante (DAT)			
	90	120	135	165
C	412,66 a	730,44 a	1058,66 a	1559,29 a
DHM	388,68 a	519,26 b	719,17 b	915,53 b
DHS	374,90 a	426,43 b	562,10 b	741,42 b
Cultivar (cv)				
Obatã	394,40 a	567,92 a	807,93 a	1077,87 a
Catucaí	389,77 a	549,50 a	752,03 a	1066,29 a
<i>P</i>	L = 0,322	L = 0,007	L = 0,0007	L = 0,0002
	cv = 0,789	cv = 0,597	cv = 0,351	cv = 0,895
	L x cv = 0,124	L x cv = 0,851	L x cv = 0,838	L x cv = 0,810

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.2 Biomassa

4.3.2.1 Matéria fresca e matéria seca de folhas

As plantas de café cultivadas no inverno sofreram uma diminuição da massa fresca e seca de folhas desde o ciclo 1 de DH, sendo afetadas conforme a disponibilidade de água no solo e como reflexo da diminuição do número de folhas, conforme já discutido anteriormente. Aparentemente, no ciclo de recuperação (135 DAT) apenas o tratamento DHM conseguiu aumentar a biomassa de folhas quando comparado com o controle (Tabela 18). Ao se comparar as cultivares, a Obatã produziu a maior quantidade de MFF. O mesmo resultado foi encontrado aos 135 DAT para MSF, onde a cv. Obatã foi a melhor adaptada.

Tabela 18. Massa fresca e seca de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Massa fresca de folhas (g planta⁻¹)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	15,28 a	25,34 a	28,06 a
DHM	15,04 a	19,50 b	21,47 ab
DHS	14,18 a	10,56 c	18,28 b
Cultivar (cv)			
Obatã	15,28 a	20,39 a	24,80 a
Catucaí	14,39 a	16,55 b	20,41 b
<i>p</i>	L = 0,574 cv = 0,251 L x cv = 0,844	L = 0,0001 cv = 0,011 L x cv = 0,362	L = 0,020 cv = 0,0007 L x cv = 0,062
Massa seca de folhas (g planta⁻¹)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	4,93 a	7,35 a	8,47 a
DHM	4,84 a	6,06 b	7,02 ab
DHS	4,53 a	4,94 c	6,30 b
Cultivar (cv)			
Obatã	4,79 a	6,45 a	7,64 a
Catucaí	4,75 a	5,78 a	6,89 b
<i>p</i>	L = 0,265 cv = 0,851 L x cv=0,821	L = 0,0004 cv = 0,060 L x cv = 0,487	L = 0,022 cv = 0,041 L x cv =0,247

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

De acordo com a análise do desdobramento da interação (Tabela 19), a MFF e MSF foram modificadas com a intensidade do estresse (DHM e DHS). Entre as cultivares essa alteração foi evidente, principalmente na cv. Catucaí, em plantas do tratamento com DHM, o que evidencia a cv. Obatã como a melhor adaptada às condições de DH.

Tabela 19. Desdobramento da interação para massa fresca e seca de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Massa fresca de folhas (g planta⁻¹) - 165 DAT				
Tratamentos (NHC)				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	26,68 Aa	27,50 Aa	15,97 Ba	L = 0,001
Catucaí	30,06 Aa	21,37 Bb	12,08 Ca	cv = 0,102
				L x cv=0,026
Massa seca de folhas (g planta⁻¹) - 165 DAT				
Tratamentos (NHC)				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	26,68 Aa	27,50 Aa	15,97 Ba	L = 0,001
Catucaí	30,06 Aa	21,37 Bb	12,08 Ca	cv = 0,102
				L x cv=0,026

DAT= Dias Após o Transplante; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No verão, as plantas de cafeeiro apresentaram uma queda significativa da MFF nos tratamentos com DH (Tabela 20). Isso aconteceu ao se impor o ciclo 1 de estresse e conseqüentemente para o ciclo de recuperação, mantendo-se o efeito similar no segundo ciclo de DH. Já para MSF, no primeiro ciclo de estresse (120 DAT), unicamente as plantas do tratamento DHS foram inferiores quando comparadas ao controle e DHM. No entanto, no ciclo de reidratação (135 DAT) e ciclo 2 de estresse (165 DAT) as plantas da DHM e DHS tiveram o mesmo comportamento, porém diferiram do controle. Surpreendentemente, entre as cultivares não houve diferenças significativas para ambos os parâmetros. Em diferentes clones de eucalipto quando submetidos à DH e com a retomada de irrigação, estes se recuperaram na massa seca foliar, no entanto, os valores da MSF foram menores, quando comparados com as plantas do tratamento controle, porém entre clones houve diferença da MSF irrigados normalmente e com DH (TATAGIBA et al., 2009).

Tabela 20. Massa fresca e seca de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Massa fresca de folha (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	9,13 a	16,85 a	24,61 a	33,78 a
DHM	8,48 a	11,70 b	16,43 b	18,98 b
DHS	8,05 a	7,15 b	13,14 b	16,29 b
Cultivar (cv)				
Obatã	8,69 a	12,08 a	18,52 a	23,31 a
Catucaí	8,42 a	11,72 a	17,60 a	22,73 a
<i>p</i>	L = 0,299	L = 0,002	L = 0,0006	L = 0,0002
	cv = 0,567	cv = 0,681	cv = 0,505	cv = 0,797
	L x cv = 0,121	L x cv = 0,977	L x cv = 0,904	L x cv = 0,909
Massa seca de folha (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	2,73 a	4,86 a	7,87 a	12,62 a
DHM	2,51 a	3,61 ab	5,45 b	7,41 b
DHS	2,39 a	3,14 b	4,57 b	6,31 b
Cultivar (cv)				
Obatã	2,54 a	3,88 a	6,09 a	8,94 a
Catucaí	2,54 a	3,86 a	5,83 a	8,62 a
<i>p</i>	L = 0,282	L = 0,028	L = 0,0002	L = 0,0003
	cv = 0,987	cv = 0,948	cv = 0,513	cv = 0,688
	L x cv = 0,149	L x cv = 0,926	L x cv = 0,930	L x cv = 0,828

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.2.2 Matéria fresca e matéria seca de caule

A análise de MFC no **inverno** revelou efeito negativo dos tratamentos apenas para DHS no primeiro ciclo de DH (Tabela 21). A comparação entre cultivares não apresentou diferenças significativas. Surpreendentemente, a análise de MSC para as plantas dos tratamentos de DH (Tabela 21) não apresentaram alterações significativas. No entanto, ao se fazer a comparação entre as cultivares, houve alterações significativas, sendo a cv. Catucaí que apresentou menor MSC para os 135 DAT.

Tabela 21. Massa fresca e seca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Massa fresca de caule (g planta⁻¹)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	6,87 a	10,37 a	11,62 a
DHM	6,66 a	8,41 a	10,50 a
DHS	6,18 a	5,14 b	9,50 a
Cultivar (cv)			
Obatã	6,89 a	7,99 a	10,66 a
Catucaí	6,25 a	7,96 a	10,41 a
<i>p</i>	L = 0,056 cv = 0,084 L x cv = 0,446	L = 0,0008 cv = 0,965 L x cv = 0,509	L = 0,401 cv = 0,693 L x cv = 0,234
Massa seca de caule (g planta⁻¹)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	2,73 a	3,59 a	4,19 a
DHM	2,83 a	3,37 a	4,13 a
DHS	2,47 a	2,68 a	3,97 a
Cultivar (cv)			
Obatã	3,03 a	3,36 a	4,42 a
Catucaí	2,32 b	3,06 a	3,78 b
<i>p</i>	L = 0,066 cv = 0,0006 L x cv = 0,597	L = 0,065 cv = 0,236 L x cv = 0,349	L = 0,750 cv = 0,022 L x cv = 0,658

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

A análise do desdobramento de interação para MF e MSC apresentou significância para o último ciclo de DH, aos 165 DAT (Tabela 22). Nesta interação, destaca-se que a MF de caule no último ciclo foi significativamente maior para a cv. Obatã, para o tratamento DHM. Para as demais lâminas estudadas, não houve diferenças no mesmo ciclo de estresse. Em relação à MSC, também o ciclo 2 de DH apresentou desdobramento para a os dois níveis de DH. Entre as cultivares, apenas as plantas submetidas à DHM diferiram entre si, com a cv. Obatã apresentando melhores resultados.

Tabela 22. Desdobramento da interação para massa fresca e seca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Massa fresca de caule (g planta⁻¹) - 165 DAT				
Tratamento (NHC)				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	14,60 Aa	12,27 Ba	7,32 Ca	L = 0,0001
Catucaí	14,81 Aa	10,45 Bb	7,13 Ca	cv = 0,049
				L x cv = 0,027
Massa seca de caule (g planta⁻¹) - 165 DAT				
Tratamento (NHC)				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	7,03 Aa	6,19 Aa	4,24 Ba	L = 0,0004
Catucaí	7,32 Aa	5,44 Bb	4,12 Ca	cv = 0,103
				L x cv = 0,011

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No cultivo de **verão**, MFC diminuiu em função da severidade do tratamento hídrico aos 120 DAT durante o Ciclo 1 (Tabela 23). Este comportamento foi em parte revertido principalmente para plantas da DHS em relação às plantas da DHM aos 135 DAT. Este padrão de recuperação das plantas de DHS foi mantido nas observações do Ciclo 2 de estresse (165 DAT).

Tabela 23. Massa fresca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Massa fresca de caule (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	3,60 a	7,77 a	11,47 a	19,55 a
DHM	3,43 a	5,21 b	7,95 b	10,91 b
DHS	3,32 a	3,45 c	6,29 b	8,81 b
Cultivar (cv)				
Obatã	3,48 a	5,53 a	8,62 a	13,29 a
Catucaí	3,42 a	5,43 a	8,52 a	12,89 a
	L = 0,519	L = 0,0008	L = 0,0003	L = 0,002
<i>p</i>	cv = 0,722	cv = 0,843	cv = 0,896	cv = 0,672
	L x cv = 0,095	L x cv = 0,993	L x cv = 0,678	L x cv = 0,429

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Para o mesmo ensaio de verão, a MSC não diferiu entre os tratamentos com DH em relação ao controle. Na fase de recuperação, apenas as plantas do controle mantiveram os índices de crescimento positivos, enquanto que as plantas de DHM e

DHS aparentemente não acompanharam o processo de recuperação, sendo que no ciclo 2, ambos os tratamentos com DH afetaram a MSC das plantas, quando comparadas ao controle (Tabela 24). Houve desdobramento para os 90 DAT, anterior ao início dos ciclos de estresse (Tabela 25), o que aparentemente não trouxe consequências para este parâmetro, visto que neste período, as plantas não foram submetidas a qualquer estresse hídrico.

Tabela 24. Massa seca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Massa seca de caule (g planta⁻¹)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	120	135	165
C	3,01 a	4,08 a	7,85 a
DHM	2,17 a	2,86 b	4,78 b
DHS	2,20 a	2,21 c	3,89 b
Cultivar (cv)			
Obatã	2,74 a	3,21 a	5,53 a
Catucáí	2,18 a	2,88 a	5,48 a
	L= 0,234	L= 0,0001	L= 0,004
<i>p</i>	cv= 0,080	cv= 0,163	cv= 0,908
	Lxcv= 0,418	Lxcv= 0,657	Lxcv= 0,725

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 25. Desdobramento da interação para massa seca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 90 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Massa seca de caule (g planta⁻¹) - 90 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			<i>p</i>
	C	DHM	DHS	
Obatã	1,36 Aa	1,14 Ab	1,39 Aa	L= 0,798
Catucáí	1,32 Aa	1,40 Aa	1,19 Aa	cv= 0,901
				Lxcv= 0,049

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.2.3 Matéria fresca e matéria seca de raízes

Para o ensaio de inverno, a **massa fresca de raiz** (MFR) foi menor ao se impor os dois ciclos de estresse (120 e 165 DAT), para os dois níveis de DH aplicados. Da mesma forma o ciclo de recuperação (135 DAT) não reverteu o efeito da seca sobre as raízes, sendo que no segundo ciclo de estresse, este efeito foi

mais drástico. Nota-se, que a cv. Obatã foi superior em relação à cv. Catucaí para o parâmetro MFR (Tabela 26). A massa seca de raiz no inverno, não diferiu ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos hídricos, com exceção do segundo ciclo de estresse. A cv. Obatã foi superior em relação ao parâmetro MS, quando comparado com a cv. Catucaí exceto no ciclo de recuperação. Por outro lado, resultados similares aos deste estudo foram obtidos por Araújo et al. (2011) em duas variedades de mudas de café, as quais foram submetidas a diferentes épocas de restrição total de água (30 dias após transplântio), sendo que ao final do ciclo de estudo (180 DAT) os valores de MSR foram inferiores aos do tratamento controle. Além de haver diferença significativa entre as duas cultivares, mesmo sem restrição hídrica.

Tabela 26. Massa fresca e seca de raízes em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Massa fresca de raiz (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	16,59 a	17,72 a	20,39 a	15,67 a
DHM	15,29 a	15,14 ab	16,52 ab	8,50 b
DHS	14,34 a	12,62 b	15,17 b	6,30 b
Cultivar (cv)				
Obatã	16,58 a	18,27 a	19,07 a	11,17 a
Catucaí	14,23 b	12,06 b	15,65 b	9,14 b
<i>p</i>	L = 0,267 cv = 0,005 Lxcv = 0,108	L = 0,021 cv = 0,0001 Lxcv = 0,470	L = 0,023 cv = 0,025 Lxcv = 0,118	L = 0,0002 cv = 0,017 Lxcv = 0,364
Massa seca de raiz (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	3,37 a	4,72 a	4,64 a	6,54 a
DHM	3,27 a	4,50 a	4,13 a	4,80 b
DHS	3,15 a	3,92 a	3,82 a	3,90 b
Cultivar (cv)				
Obatã	3,58 a	4,71 a	4,44 a	5,36 a
Catucaí	2,95 b	4,06 b	3,96 a	4,80 b
<i>p</i>	L = 0,673 cv = 0,011 Lxcv = 0,409	L = 0,184 cv = 0,023 Lxcv = 0,222	L = 0,125 cv = 0,059 Lxcv = 0,149	L = 0,0006 cv = 0,021 Lxcv = 0,371

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Para o ensaio de verão (Tabela 27), a MFR teve uma diminuição nos tratamentos com DH depois do primeiro ciclo de estresse (ciclo de reidratação), sendo mais afetadas as plantas que receberam a lâmina de 25% (DHS), pois aparentemente conseguiram se adaptar até certo ponto ao primeiro ciclo de deficiência hídrica. Já no segundo ciclo de DH, os valores entre as lâminas 50% (DHM) e 25% (DHS) foram similares e menores quando comparados ao controle (100%). Entre as cultivares somente houve diferenças aos 90 e 120 DAT, quando a cv. Catucaí apresentou menor MFR.

Por outro lado, para MSR houve alterações entre as cultivares apenas aos 90 DAT, com maior massa seca de raiz para a cv. Obatã. No entanto, o efeito dos tratamentos foi evidente a partir do primeiro ciclo de estresse, tendo o maior efeito na lâmina 25% quando comparada com o 100% e 50%. É importante ressaltar, que apesar da reidratação aos 135 DAT as plantas da lâmina 25% não conseguiram acumular biomassa de raiz nesse período.

Assim, com a imposição do segundo ciclo de estresse, as plantas irrigadas com 50% e 25% da NHC (DHM e DHS) tiveram uma queda semelhante da MSR, sendo as plantas do bloco controle aquelas que apresentaram maior massa para este parâmetro.

Da mesma forma, é confirmado que a menor quantidade de água disponível no solo para as plantas e ao decorrer do tempo a massa seca e fresca da raiz tende a diminuir (MARTINEZ et al., 2006). Além de que a DH afeta principalmente as raízes do cafeeiro, limitando a absorção de água e minerais, repercutindo seu crescimento (GOPAL, 1974).

Tabela 27. Massa fresca e seca de raízes em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Massa fresca de raiz (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	9,47 a	15,61 a	11,65 a	41,16 a
DHM	10,57 a	11,60 a	7,38 ab	21,35 b
DHS	10,18 a	9,95 a	6,09 b	15,42 b
Cultivar (cv)				
Obatã	11,41 a	13,79 a	9,15 a	26,73 a
Catucaí	8,73 b	10,99 b	7,60 a	25,22 a
<i>p</i>	L = 0,804 cv = 0,015 L x cv = 0,548	L = 0,113 cv = 0,033 L x cv = 0,421	L = 0,032 cv = 0,220 L x cv = 0,869	L = 0,0004 cv = 0,490 L x cv = 0,998
Massa seca de raiz (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	1,48 a	2,60 a	3,26 a	7,71 a
DHM	1,68 a	1,83 ab	2,60 ab	4,53 b
DHS	1,63 a	1,63 b	2,07 b	3,23 b
Cultivar (cv)				
Obatã	1,81 a	2,26 a	2,81 a	5,29 a
Catucaí	1,39 b	1,77 a	2,47 a	5,02 a
<i>p</i>	L = 0,689 cv = 0,017 L x cv = 0,843	L = 0,042 cv = 0,055 L x cv = 0,354	L = 0,030 cv = 0,251 L x cv = 0,811	L = 0,0006 cv = 0,549 L x cv = 0,857

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.3 Índices de crescimento

4.3.3.1 Área foliar específica (AFE)

As plantas de cafeeiro cultivadas no inverno conseguiram reverter possíveis efeitos característicos pela deficiência hídrica. No primeiro ciclo (120 DAT), apesar das condições hídricas restritas, a área foliar específica (AFE) não diferiu entre os tratamentos (Tabela 28). Porém, aos 135 DAT (recuperação) as plantas do tratamento DHS obtiveram valores menores quando comparados ao controle e DHM. Entre as cultivares, apenas aos 90 DAT a cv. Obatã foi superior á cv. Catucaí. Houve interação para AFE somente para o ciclo 2 da DH (Tabela 29).

Tabela 28. Área foliar específica em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Área foliar específica (AFE; cm² folhas g⁻¹ MS_{folha})			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	118,43 a	132,75 a	130,87 a
DHM	117,36 a	108,22 a	118,79 ab
DHS	119,29 a	109,29 a	111,78 b
Cultivar (cv)			
Obatã	121,41 a	125,37 a	122,10 a
Catucaí	115,32 b	108,13 a	118,86 a
	L = 0,784	L = 0,100	L = 0,030
<i>p</i>	cv = 0,026	cv = 0,128	cv = 0,315
	L x cv = 0,511	L x cv = 0,312	L x cv = 0,118

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados da interação para AFE (Tabela 29) mostram que apenas as plantas do tratamento DHS foram alteradas para ambas as cultivares e como consequência apresentando menor AFE quando comparadas ao controle e DHM.

Tabela 29. Desdobramento da interação para área foliar específica em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Área foliar específica (AFE; cm² folhas g⁻¹ MS_{folha}) - 165 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	120,74 Aa	120,63 Aa	100,54 Ba	L = 0,020
Catucaí	126,47 Aa	116,27 ABa	106,25 Ba	cv = 0,156
				L x cv = 0,037

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Em plantas de cafeeiro cultivadas no verão, AFE diminuiu no tratamento com DHS, mantendo-se até o período de reidratação com o valor inferior às plantas dos tratamentos controle e DHM (Tabela 30). Com a aplicação do segundo ciclo de estresse, as plantas dos tratamentos hídricos não manifestaram diferenças significativas. Curiosamente, entre as duas cultivares não houve diferenças para AFE nesta estação do ano.

Tabela 30. Área foliar específica em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Tratamentos	Área foliar específica (AFE; cm ² folhas g ⁻¹ MS _{folha})			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	152,41 a	150,28 a	134,13 a	123,84 a
DHM	155,14 a	144,75 ab	131,70 a	123,96 a
DHS	157,08 a	136,51 b	122,74 b	117,66 a
Cultivar (cv)				
Obatã	155,63 a	146,78 a	130,99 a	123,45 a
Catucaí	154,13 a	140,91 a	128,06 a	120,19 a
	L = 0,599	L = 0,044	L = 0,011	L = 0,113
<i>p</i>	cv = 0,687	cv = 0,070	cv = 0,168	cv = 0,282
	Lxcv=0,386	Lxcv=0,990	Lxcv=0,633	Lxcv=0,787

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Similarmente ao ocorrido no ensaio de inverno (165 DAT) e verão (120 DAT), Rad et al. (2011) avaliando três regimes de água no solo (100, 70 e 40 % da CC) em *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, comprovaram que a área foliar específica se reduziu de maneira considerável e similar por efeito da DH.

Días-López et al., (2012), trabalhando com plantas de pinhão manso submetidas a DH, notaram que o comportamento da AFE foi similar entre os tratamentos avaliados (25, 50 e 75 % da CC) e apenas houve acréscimo nas plantas onde a água foi suprimida totalmente. Maes et al., (2009), após 114 dias da aplicação de dois níveis de DH não encontraram diferenças entre tratamentos, obtendo valores de AFE similares.

4.3.3.2 Razão da massa foliar (RMF)

Em plantas de cafeeiro cultivadas no inverno a razão da massa foliar (RMF) não sofreu modificações ao se aplicar os tratamentos com DH (Tabela 31), mantendo o mesmo comportamento na etapa de recuperação. No entanto, entre as cultivares houve diferenças para este parâmetro, sendo a cv. Obatã a que aumentou o peso seco de folhas por grama de massa seca total, conservando esse desempenho no transcurso do ensaio. Unicamente houve interação aos 165 DAT (Tabela 32).

Tabela 31. Razão da massa foliar em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Razão da massa foliar (RMF; g MS de folhas g⁻¹ MS total)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	0,44 a	0,47 a	0,49 a
DHM	0,45 a	0,43 a	0,46 a
DHS	0,45 a	0,42 a	0,44 a
Cultivar (cv)			
Obatã	0,47 a	0,47 a	0,49 a
Catucaí	0,41 b	0,41 b	0,43 b
	L = 0,914	L = 0,059	L = 0,062
<i>p</i>	cv = 0,0005	cv = 0,0005	cv = 0,0005
	L x cv = 0,504	L x cv = 0,369	L x cv = 0,150

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O desdobramento da interação para RMF aos 165 DAT manifestou diferença significativa para as plantas da cv. Obatã do tratamento controle, com os menores valores comparados à cv. Catucaí (Tabela 32). Já no tratamento da DHS, as plantas melhor adaptadas foram as de a cv. Obatã, que apresentaram o maior peso de massa seca de folhas por cada grama de matéria seca total.

Tabela 32. Desdobramento da interação para RMF em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

RMF (g MS de folhas g⁻¹ MS total) - 165 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	0,41 Ba	0,46 Aa	0,49 Aa	L = 0,089
Catucaí	0,43 Aa	0,44 Aa	0,42 Ab	cv = 0,013
				L x cv = 0,005

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Na estação de verão, a RMF em plantas de cafeeiro crescendo sobre deficiência hídrica, não foi alterada. Aparentemente, as plantas conseguiram se adaptar ou tolerar a falta de água nos dois ciclos de estresse (Tabela 33). Especificamente, aos 120 DAT (ciclo 1 de estresse) houve diferença entre cultivares, sendo a cv. Catucaí quem obteve o menor valor da RMF.

Tabela 33. Razão da massa foliar em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Razão da massa foliar (RMF; g MS de folhas g⁻¹ MS total)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	0,49 a	0,46 a	0,51 a	0,44 a
DHM	0,46 a	0,47 a	0,50 a	0,44 a
DHS	0,45 a	0,46 a	0,51 a	0,47 a
Cultivar (cv)				
Obatã	0,48 a	0,49 a	0,52 a	0,45 a
Catucaí	0,45 a	0,44 b	0,49 a	0,45 a
	L = 0,515	L = 0,848	L = 0,531	L = 0,173
<i>p</i>	cv = 0,135	cv = 0,037	cv = 0,087	cv = 0,893
	Lxcv = 0,565	Lxcv = 0,388	Lxcv = 0,905	Lxcv = 0,476

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Diferente aos resultados destes ensaios, Nagasuga et al. (2014) avaliando os efeitos hídricos em duas cultivares de soja após a floração, observaram que as plantas bem irrigadas proporcionaram incrementos significativos na RMF no início de desenvolvimento dos grãos, tanto na cv. Fukuyutaka quanto na cv. Misato-zairai. Da mesma forma, nessas cultivares de soja foi avaliado o crescimento das plantas no ano 2008 (estação chuvosa) e 2009 (estação seca), apresentando-se valores da RMF no início da fase de desenvolvimento aparentemente similar entre os anos e as cultivares. Entretanto, a RMF na etapa de floração foi menor consideravelmente para ambas as cultivares no ano 2008 (NAGASUGA et al., 2014).

4.3.3.3 Razão de área foliar (RAF)

A razão de área foliar (RAF) em plantas de cafeeiro cultivadas no inverno foi menor quando aplicados os tratamentos de deficiência hídrica (DHM e DHS) no ciclo 1, comparados com o controle (Tabela 34). Na reidratação, apenas as plantas da DHM conseguiram aumentar a RAF. Já as plantas da DHS apresentaram valores menores quando comparadas com os tratamentos DHM e Controle. Por conseguinte, as diferenças entre cultivares foram constatadas, mantendo-se com valores maiores de RAF a cv. Obatã. Apenas para os 165 DAT (ciclo 2 de DH) houve desdobramento da interação embora não se constatou diferenças significativas entre as cultivares e tratamentos hídricos (Tabela 35).

Tabela 34. Razão de área foliar em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Razão de área foliar (RAF; cm² folhas g⁻¹ MS planta⁻¹)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
C	52,70 a	62,68 a	64,27 a
DHM	52,55 a	48,30 b	54,78 ab
DHS	53,60 a	46,73 b	50,22 b
Cultivar (cv)			
Obatã	57,69 a	59,81 a	60,81 a
Catucaí	48,21 b	45,32 b	52,03 b
	L = 0,704	L = 0,016	L = 0,031
<i>p</i>	cv = 0,0001	cv = 0,012	cv = 0,003
	L x cv = 0,187	L x cv = 0,230	L x cv = 0,076

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 35. Desdobramento da interação para razão de área foliar em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Razão de área foliar (RAF; cm² folhas g⁻¹ MS planta⁻¹) - 165 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	49,98 Aa	56,32 Aa	49,56 Aa	L = 0,277
Catucaí	54,30 Aa	51,35 Aa	44,59 Aa	cv = 0,207
				L x cv = 0,034

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

A razão de área foliar em plantas de cafeeiro cultivadas no verão não foi modificada apesar da imposição de dois ciclos de DH (120 e 165 DAT), mantendo-se assim durante o período avaliado (Tabela 36). Entre cultivares, as plantas da cv. Catucaí obtiveram valores inferiores da RAF quando comparadas com a cv. Obatã, porém apenas para o ciclo 1 de DH e na etapa de reidratação, já que, ao se efetivar o segundo ciclo de estresse os valores da taxa de superfície foliar foi similar para ambas as cultivares. Esse comportamento possivelmente faz parte da estratégia de adaptação das plantas às condições hídricas adversas.

Tabela 36. Razão de área foliar em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Razão de área foliar (RAF; cm² folhas g⁻¹ MS planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	74,44 a	70,04 a	69,77 a	55,30 a
DHM	71,23 a	68,33 a	65,91 a	54,96 a
DHS	71,12 a	62,93 a	63,63 a	55,47 a
Cultivar (cv)				
Obatã	75,38 a	71,87 a	69,55 a	55,86 a
Catucaí	69,15 b	62,32 b	63,32 b	54,62 a
	L = 0,490	L = 0,119	L = 0,261	L = 0,969
<i>p</i>	cv = 0,040	cv = 0,007	cv = 0,045	cv = 0,398
	Lxcv = 0,810	Lxcv = 0,363	Lxcv = 0,745	Lxcv = 0,275

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Da mesma forma ao ocorrido no verão, mudas de mulungu (*Erythrina velutina*) foram submetidas a diferentes regimes de água no solo, sendo o controle (100%), 75, 50 e 25% da capacidade de campo. Estes autores reportaram que não houve diferenças significativas na RAF por efeito da DH, apresentando-se valores similares entre os tratamentos aplicados (SILVA et al., 2010).

4.3.4 Avaliação nutricional (folha, caule e raiz)

4.3.4.1 Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro no ensaio de inverno.

Macronutrientes: A análise dos teores de macro e micronutrientes foi realizada aos 165 DAT, ao final do segundo ciclo de deficiência hídrica. Avaliaram-se órgãos, divididos em tecido foliar, caule e raízes (Quadro 3).

No ensaio de inverno, a cv. Obatã e Catucaí apresentaram concentrações de macronutrientes (N, P, K) similares para folhas e raízes, independentemente da lâmina de irrigação. A exceção foi o Cálcio (Ca) o qual foi mais concentrado em tecidos foliares, porém sem distinção pelas lâminas de água aplicadas. Também o fósforo (P) apresentou diminuição em raízes, no tratamento DHS, em cerca de 50% dos valores observados para os demais tratamentos.

Os tecidos do caule tiveram macronutrientes sempre em menor concentração, comparado a folhas e raízes.

Micronutrientes: Para as cultivares Obatã e Catucaí, as DHM e DHS causaram diminuição dos teores de Boro (B) em folhas, sendo o efeito contrário (aumento) em caule e raízes. O Cobre (Cu) para as duas cultivares aumentou apenas nos tecidos foliares devido à DH (Quadro 3). Teores de Ferro (Fe) foram afetados pela DH apenas na cv. Catucaí, para tecidos foliares e caule. Para ambas as cultivares os teores de Fe se concentraram fortemente nos tecidos radiculares, sendo que para a cv. Catucaí, o teor de Fe foi fortemente afetado pelas lâminas de DH. O Manganês (Mn) e Zinco (Zn) não apresentaram alterações importantes devido a DH, sendo que seus teores foram maiores nas folhas.

Quadro 3. Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Macro (g kg ⁻¹ MS)	Órgão vegetal	Tratamentos-Ensaio de inverno (2016)					
		Controle Obatã	DHM Obatã	DHS Obatã	Controle Catucaí	DHM Catucaí	DHS Catucaí
N	Folha	21	25	27	21	27	29
	Caule	8	10	13	9	12	13
	Raiz	13	15	19	14	17	20
P	Folha	0,7	0,7	0,9	0,9	0,9	0,9
	Caule	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4
	Raiz	0,8	0,6	0,7	0,8	0,8	0,5
K	Folha	22	21	19	27	22	18
	Caule	12	12	13	12	13	12
	Raiz	20	20	22	21	22	22
Ca	Folha	8	9	10	11	9	11
	Caule	2	2	2	3	3	2
	Raiz	4	4	4	5	5	5
Mg	Folha	3,7	3,7	3,7	3,8	3,3	4,2
	Caule	1,5	1,5	1,4	1,7	1,5	1,6
	Raiz	3,8	4,3	3,8	4,4	3,8	3,9
S	Folha	0,8	0,9	0,9	0,9	1	0,9
	Caule	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
	Raiz	0,9	0,9	1	1	1	1
Micro (mg kg ⁻¹ MS)	Órgão vegetal	Tratamentos-Ensaio de inverno (2016)					
		Controle Obatã	DHM Obatã	DHS Obatã	Controle Catucaí	DHM Catucaí	DHS Catucaí
B	Folha	110	121	68	178	45	65
	Caule	14	44	39	17	26	50
	Raiz	78	80	126	66	55	117
Cu	Folha	129	262	283	288	244	405
	Caule	12	25	44	43	59	43
	Raiz	8	12	12	17	16	21
Fe	Folha	160	192	189	336	176	172
	Caule	83	100	153	167	130	91
	Raiz	5313	3972	4011	7241	4090	3232
Mn	Folha	85	110	107	185	131	148
	Caule	27	26	25	39	30	25
	Raiz	37	26	25	39	25	29
Zn	Folha	25	25	28	23	24	29
	Caule	12	13	17	17	22	18
	Raiz	14	12	13	18	18	12

4.3.4.2 Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro no ensaio de verão.

Macronutrientes: Para as duas cultivares, igualmente ao observado para o ensaio de inverno, não se detectou alterações nos padrões para os macronutrientes em função dos tratamentos (Quadro 4). A exceção foram as concentrações de magnésio (Mg) e enxofre (S) para tecido radicular. Estes elementos ficaram alocados nas raízes em concentrações superiores às medidas em folhas e caule.

Micronutrientes: O Boro (B) neste ensaio de verão acumulou-se em raízes, para todos os tratamentos, em concentrações maiores que folhas e caule. Este efeito no inverno, só foi detectado para os tratamentos com DHS nas duas cultivares (Quadro 4).

O Cobre (Cu) não alterou o teor para a cv. Obatã sob nenhum tratamento, com valores similares nas raízes e folhas e intermediário para caule. Entretanto, para a cv. Catucaí, este elemento acumulou-se mais nas raízes, embora os tratamentos hídricos não alterassem essa concentração. Os teores de Ferro (Fe) diminuíram devido à DH apenas para a cv. Obatã e também de maneira geral acumularam-se fortemente nos tecidos radiculares. Nesses tecidos, também a DH causou diminuição dos teores para ambas as cultivares. O Manganês (Mn) sofreu diminuição dos teores para as duas cultivares em tecidos foliares. Para a cv. Catucaí, o elemento acumulou-se muito mais nas raízes comparado aos demais tecidos da planta. O Zinco (Zn) acumulou-se preferencialmente nas raízes das duas cultivares, comparado aos demais tecidos. Os tratamentos hídricos somente interferiram em DHS para a cv. Catucaí e DHM para a cv. Obatã.

Quadro 4. Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí aos 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-verão).

Macro (g kg ⁻¹ MS)	Órgão vegetal	Tratamentos-Ensaio de verão (2016-2017)					
		Controle Obatã	DHM Obatã	DHS Obatã	Controle Catucaí	DHM Catucaí	DHS Catucaí
N	Folha	23	24	31	24	31	28
	Caule	8	9	13	8	11	13
	Raiz	14	16	20	15	15	19
P	Folha	0,5	0,7	1	0,8	0,8	1,1
	Caule	0,3	0,6	0,6	0,6	0,5	0,7
	Raiz	0,7	0,8	0,7	0,9	0,8	1
K	Folha	17	15	15	17	13	18
	Caule	12	13	13	11	11	13
	Raiz	19	22	22	15	17	24
Ca	Folha	8	6	8	8	7	10
	Caule	2	2	2	3	3	2
	Raiz	4	4	6	5	4	9
Mg	Folha	1,9	2,3	2,6	2,2	1,7	2,8
	Caule	1,3	1,3	1,3	1,2	1,2	1,3
	Raiz	6,3	6	6,1	6,8	6,7	8,5
S	Folha	0,8	0,8	0,9	0,8	0,8	0,9
	Caule	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
	Raiz	1,7	2,3	2,5	2	1,8	2,4
Micro (mg kg ⁻¹ MS)	Órgão vegetal	Tratamentos-Ensaio de verão (2016-2017)					
		Controle Obatã	DHM Obatã	DHS Obatã	Controle Catucaí	DHM Catucaí	DHS Catucaí
B	Folha	28	21	18	15	29	26
	Caule	14	11	11	11	12	15
	Raiz	57	52	52	41	52	71
Cu	Folha	14	12	18	7	8	7
	Caule	9	7	8	7	8	7
	Raiz	17	15	17	15	15	17
Fe	Folha	163	114	99	96	106	108
	Caule	87	59	45	37	72	59
	Raiz	4657	4508	2937	7439	3755	3862
Mn	Folha	120	88	94	194	191	140
	Caule	27	32	22	35	70	37
	Raiz	112	103	92	328	396	290
Zn	Folha	22	16	19	13	16	22
	Caule	10	9	15	10	15	15
	Raiz	57	27	58	48	106	90

4.3.5 Avaliação de parâmetros fisiológicos das plantas

4.3.5.1 Trocas gasosas-inverno

4.3.5.1.1 Atividade fotossintética: Assimilação líquida de CO₂ (A)

Para a assimilação líquida de CO₂, as plantas de cafeeiro desenvolvidas durante o inverno (Figura 15a), antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT) apresentaram variações entre cultivares, sendo a cv. Obatã que apresentou A em média de 12 enquanto que na cv. Catucaí registraram-se valores da A em média de 10. Essa diferença na atividade fotossintética foi evidenciada mesmo sem a imposição dos tratamentos hídricos o que pode ser característico de cada cultivar, pois materiais genéticos distintos tendem a se desempenhar de maneira fisiológica diferente. Já no ciclo 1 de DH (120 DAT) os efeitos sobre a fotossíntese líquida foram evidentes, principalmente nas plantas da cv. Catucaí independentemente da severidade do estresse. As plantas da cv. Obatã apresentaram maiores taxas de A, no entanto, o comportamento foi similar às plantas da cv. Catucaí. Ressalta-se que as plantas sob DHM tanto na cv. Obatã quanto na cv. Catucaí apresentaram a maior assimilação de CO₂ quando comparadas ao tratamento controle. Provavelmente, os efeitos da DH e as baixas temperaturas noturnas (5-8 °C) registradas nesse período geraram a queda na eficiência fotossintética do cafeeiro, sendo também as plantas do controle que apresentaram diminuição considerável na A. Entretanto, no período de recuperação (135 DAT) as plantas da DHM aparentemente se recuperaram alcançando taxas fotossintéticas semelhantes às plantas do controle. As plantas da DHS de ambas cultivares responderam à reidratação, porém a A foi menor quando comparada aos demais tratamentos. Da mesma forma, entre as cultivares, a cv. Obatã apresentou melhor adaptação frente à DH, quando confrontado com a cv. Catucaí.

No ciclo 2 (165 DAT) observou-se que a DH apresentou efeito drástico e gradual, conforme a severidade do estresse (Figura 15a). As plantas sob DHM apresentaram diminuição da fotossíntese (com maior severidade para a cv. Obatã), reduzindo-se, maiormente no tratamento DHS, sendo este último que ocasionou a maior queda na atividade fotossintética das plantas.

Estes resultados são semelhantes ao acontecido em plantas de pinhão manso oriundas de duas regiões diferentes da Indonésia, as quais foram submetidas à DH durante 28 dias com período de reidratação por 7 dias. A partir dos 23 até 28

dias, a A diminuiu consideravelmente para as duas espécies, independentemente da sua procedência. Da mesma forma, a resposta das espécies à reidratação foi positiva, alcançando valores similares às plantas do tratamento controle (SAPETA et al., 2013).

Tendências similares foram encontradas por Brito et al, (2014), ao submeterem 12 genótipos de algodão à DHM (-1.5 MPa) e DHS (-3.0 MPa) aos 45 dias após emergência, os quais reportaram uma queda na taxa fotossintética já nas plantas sob DHM, sendo as plantas do tratamento DHS que apresentaram a menor taxa de assimilação líquida de CO_2 para todos os genótipos em relação às plantas bem irrigadas. Da mesma forma, plantas de pimenta doce sob deficiência hídrica, apresentaram redução na assimilação líquida de CO_2 já nos primeiros 25 DAT por efeito da DH, mostrando-se a maior diminuição da A quando as plantas se encontravam entre 60-80 DAT e coincidindo com o final da temporada (DELFINE et al., 2000). Neste sentido, nota-se que a eficiência fotossintética em plantas submetidas à DH durante longos períodos de tempo, diminui consideravelmente.

4.3.5.1.2 Atividade fotossintética: Condutância estomática (g_s)

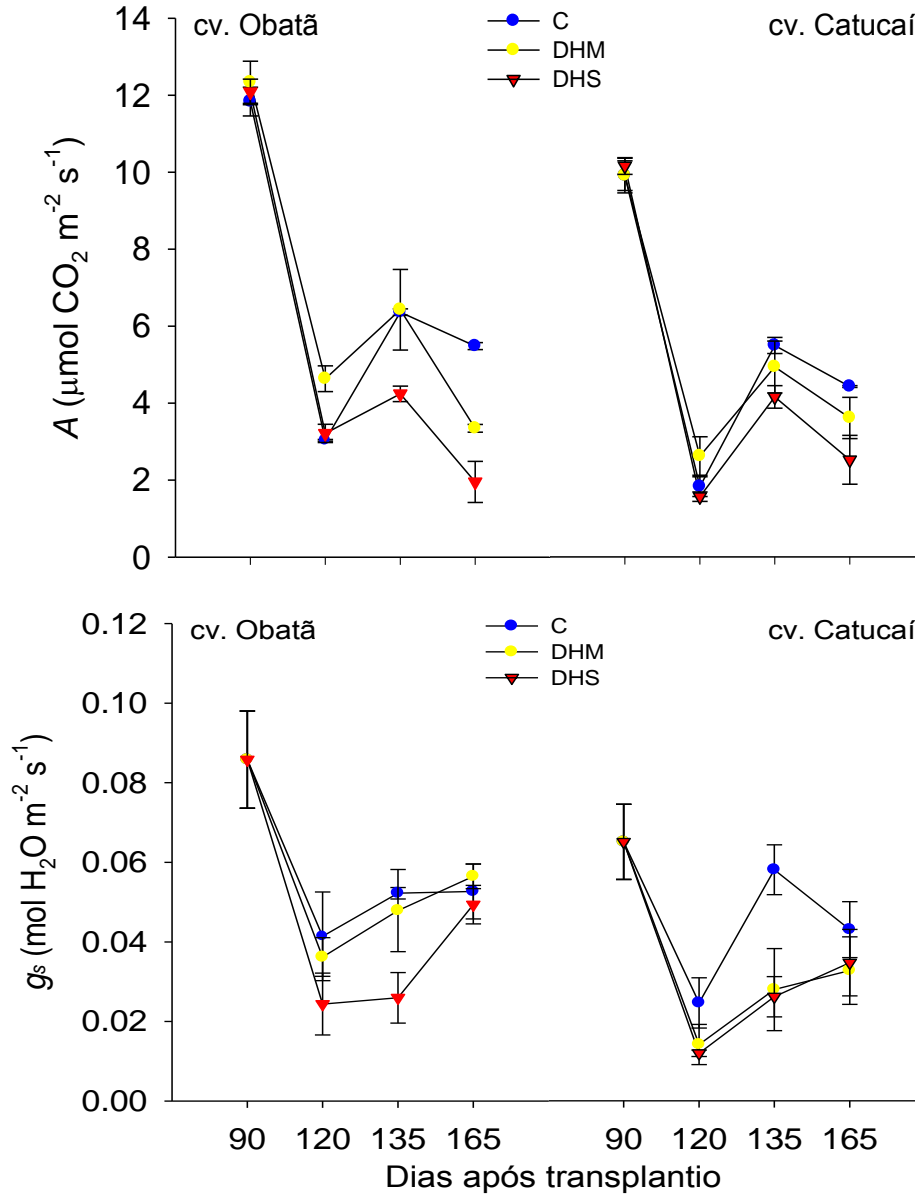
A condutância estomática reflete o comportamento das plantas frente à deficiência hídrica. Normalmente este parâmetro é resultante da ação do ácido abscísico (ABA) formado nas raízes como resposta a restrição hídrica. O controle foliar da transpiração através do movimento estomático é um processo que sofre grande influência do potencial hídrico. EAMUS (1999) aponta que o déficit hídrico reduz o suprimento de água para as células guarda dos estômatos promovendo a redução do poro estomático. Assim, sob DH, para evitar a perda excessiva de água e a desidratação, as plantas precisam utilizar diversos mecanismos de adaptação para regular o seu status hídrico, entre eles está o controle da abertura e fechamento dos estômatos (SÁNCHEZ-ROMERA et al., 2014).

No experimento de inverno (Figura 15a), antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT) as plantas apresentaram pequenas variações em g_s , mostrando-se a maior abertura estomática nas plantas da cv. Obatã. No ciclo 1 de DH (120 DAT), registrou-se diferenças entre os tratamentos hídricos, apresentando-se diminuição considerável da g_s conforme a severidade do estresse (Figura 15a), sendo que na comparação entre as cultivares, a cv. Obatã manteve g_s maior que a cv. Catucaí. Quando as plantas entraram em recuperação (135 DAT), as plantas do

tratamento controle da cv. Catucaí apresentaram abertura estomática maior quando comparada a cv. Obatã e, apenas as plantas da cv. Obatã sob DHM mantiveram desempenho similar ao controle. Já as plantas da DHS cv. Obatã e DHM, DHS cv. Catucaí induziram ao fechamento de estômatos, quando comparados ao controle na etapa de reidratação. Estes resultados parecem indicar que a fase de recuperação restabeleceu os efeitos da DH nas plantas da cv. Obatã sob DHM e nas da cv. Catucaí sob DHM e DHS, observados anteriormente. Pela imposição do segundo ciclo de DH (165 DAT), as plantas da cv. Obatã sob DHM foram superiores ao controle e apenas as plantas da DHS apresentaram a menor g_s . Para a cv. Catucaí, as plantas sob DHM e DHS apresentaram valores similares e menores quando comparados ao tratamento controle. Já entre as cultivares, a cv. Obatã sempre obteve o melhor desempenho que a cv. Catucaí, para este parâmetro.

Estes efeitos do fechamento estomático, em resposta à deficiência hídrica, também foram observados em 12 genótipos de algodão que estiveram submetidos à DHM (-1.5 MPa) e DHS (-3.0 MPa). Mostrando-se a menor condutância estomática em plantas estressadas a partir de -1.5 Mpa com variações entre os genótipos e com efeitos mais acentuados nas plantas que atingiram -3.0 Mpa, sendo estas últimas com valores similares entre genótipos, porém com valores g_s quase nulos quando comparadas às plantas bem irrigadas (BRITO et al., 2014).

Figura 15a. Trocas gasosas: Assimilação líquida de CO_2 (A) e Condutância estomática (g_s) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 dias após transplântio (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=4$).



4.3.5.1.3 Atividade fotossintética: Concentração intercelular de CO₂ (C_i)

Para o experimento de inverno, as plantas apresentaram variações em relação à concentração intercelular de CO₂, conforme se mostra na Figura 15b. Segundo Bodribo, (1996) a restrição hídrica pode levar a queda de g_s , A , e C_i . Antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT) não houve variação de C_i analisada pelos testes estatísticos, havendo comportamento semelhante entre as duas cultivares de cafeeiro avaliadas. Com a imposição do primeiro ciclo de DH (120 DAT), as plantas da cv. Obata sob DHM mostraram C_i maior que as do tratamento controle, porém a menor concentração intercelular de CO₂ ocorreu nas plantas da DHS. Para a cv. Catucaí, as plantas do controle e DHM tiveram C_i semelhante, sendo a DHS que causou a maior diminuição da C_i . Na fase de recuperação (135 DAT), somente as plantas da DHS cv. Obatã, controle e DHS cv. Catucaí alcançaram valores superiores, seguido pelo tratamento controle e DHM da cv. Obatã, porém este último similar à resposta da DHM cv. Catucaí. No ciclo 2 da DH (165 DAT) a C_i foi maior nas plantas sob DHS para a cv. Catucaí e Obatã, respectivamente. Já para as plantas da DHM, a cv. Obatã mostrou maior concentração de C_i quando comparada a cv. Catucaí, sendo o tratamento controle que apresentou a menor concentração intercelular de CO₂ independentemente da cultivar em estudo (Figura 15b).

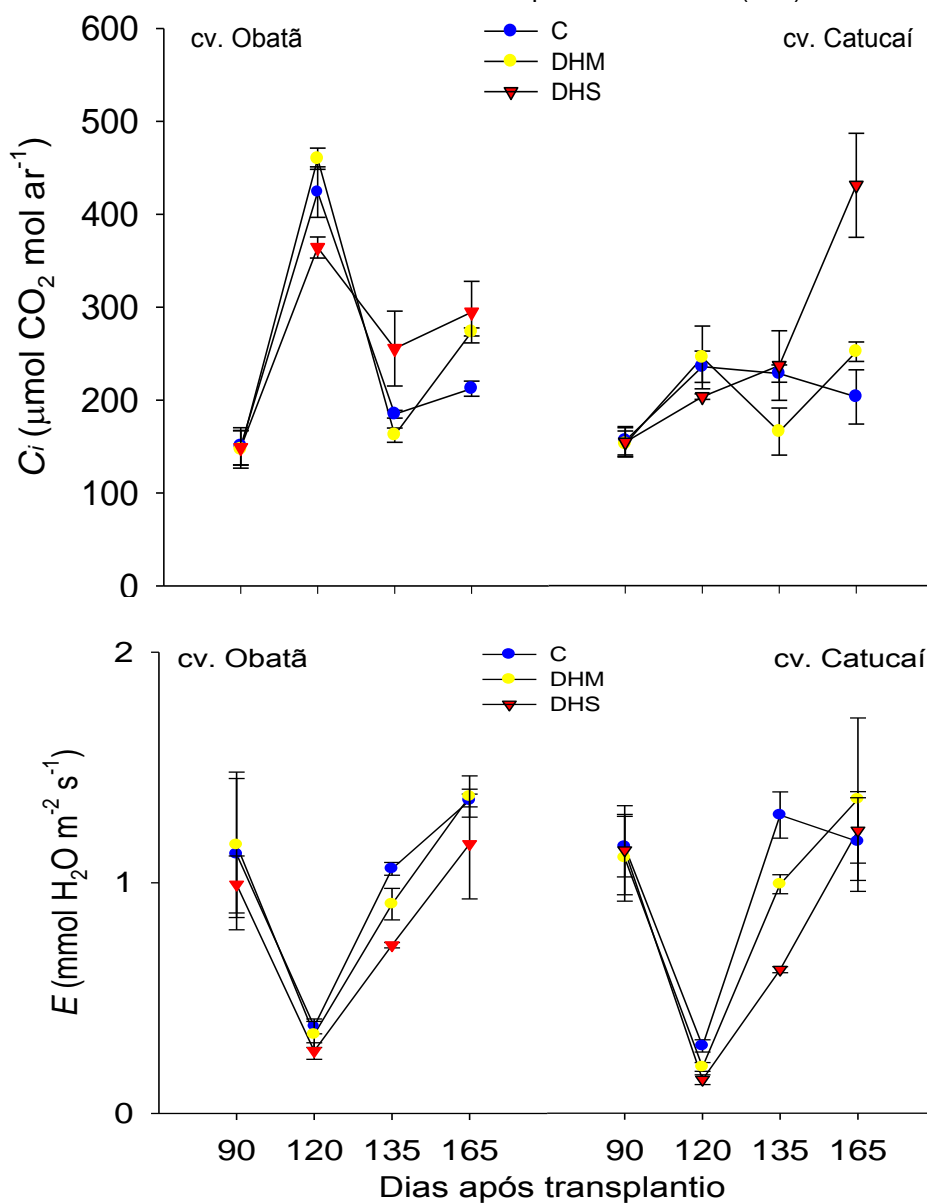
Resultados diferentes aos deste estudo (165 DAT) foram reportados por Nakayama et al. (2007), trabalhando com duas cultivares de soja em condições de deficiência hídrica, observaram que aos 3 dias após a imposição do estresse (DAIE), as plantas apresentaram leve diminuição da concentração intercelular de CO₂ tanto na cv. Shin-Tanbakuro quanto na cv. Midori. Já aos 7 DAIE, a C_i se reduziu drasticamente por efeito da falta de água, não havendo diferenças entre as cultivares por efeito da DH para este parâmetro.

4.3.5.1.4 Atividade fotossintética: Transpiração (E)

Durante o ensaio de inverno (Figura 15b), poucas variações foram registradas em relação à transpiração (E). Estes resultados de certa forma acompanham aqueles avaliados na condutância estomática, considerando-se a relação direta entre estes dois parâmetros de trocas gasosas. Conforme resultados do Ciclo 1 de DH (120 DAT), não houve diferenças consideráveis entre os tratamentos assim como não há diferença importante de comportamento entre as cultivares. Na etapa de recuperação (135 DAT), houve alterações em E , apresentando-se diminuição deste parâmetro conforme a severidade do estresse. Nesse sentido, as plantas da cv. Catucaí apresentaram maiores taxas de E nos tratamentos controle e DHM, respectivamente, quando comparadas com a cv. Obatã. Já por efeito da DHS, as plantas da cv. Catucaí diminuíram a transpiração, maiormente quando comparadas a cv. Obatã. No ciclo 2 (165 DAT), houve algumas alterações em E . A menor transpiração foi registrada nas plantas dos tratamentos controle e DHS da cv. Catucaí, sendo semelhante à transpiração das plantas sob DHS da cv. Obatã, fato que ocorre quando a disponibilidade de água no solo é praticamente limitada (Figura 15b). Desta forma, as plantas dos tratamentos controle e DHM da cv. Obatã e as plantas sob DHM da cv. Catucaí apresentaram de maneira similar a maior taxa de E .

Diferente ao acontecido neste ensaio, plantas de cafeeiro da cv. Siriema (tolerante à DH) e cv. Catucaí (sensível à DH) desenvolvidas sob deficiência hídrica durante 60 dias, ambas as cultivares apresentaram redução na transpiração, mostrando o maior uso eficiente da água a cv. Siriema (DIAS et al., 2007). Em outro trabalho, mudas de *Hancornia speciosa* que foram submetidas à deficiência hídrica e etapa de recuperação, apresentaram valores semelhantes às plantas do tratamento controle durante os primeiros 14 dias sob DH, a partir desse período a taxa transpiratória se reduziu consideravelmente atingindo os mínimos valores aos 42 dias após a imposição do estresse hídrico. As plantas responderam rapidamente à reidratação, mostrando taxas de E similares às do tratamento controle após 5 dias do restabelecimento da irrigação (SCALON et al., 2015).

Figura 15b. Trocas gasosas: Concentração intercelular de CO_2 (C_i) e Transpiração (E) em plantas de café cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 dias após transplante (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



4.3.5.2 Trocas gasosas-verão

4.3.5.2.1 Atividade fotossintética: Assimilação líquida de CO₂ (A)

As avaliações de assimilação líquida de carbono (A) no ensaio de verão (Figura 16a) demonstraram efeito muito mais drástico em resposta à falta de água, quando comparado ao ensaio de inverno. Provavelmente, este efeito foi causado pela soma de fatores ambientais como a DH, as altas temperaturas e baixa umidade relativa registradas na estufa. Antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT) verificou-se maior assimilação de carbono por parte das plantas da cv. Catucaí dos blocos preparados para DHM e DHS respectivamente, embora nessa fase todas as plantas foram mantidas em capacidade de campo. No primeiro ciclo de estresse (120 DAT), as plantas da cv. Catucaí apresentaram maior assimilação líquida de carbono quando comparadas às plantas da cv. Obatã, ambas cultivares apresentando diferenças entre os tratamentos com DH, sempre paralelo à severidade (C > DHM > DHS). Já na etapa de reidratação (135 DAT), houve recuperação das taxas de fotossíntese líquida para ambas cultivares, sendo apenas os blocos dos tratamentos com DHM e DHS da cv. Obatã que apresentaram valores de A maiores que o controle de ambas cultivares. Já as plantas do tratamento controle apresentaram assimilação líquida de carbono de maneira similar entre as cultivares, sendo registrados os menores valores de A nos blocos das plantas que haviam passado por DHS, igualmente para as duas cultivares. Assim, conforme a efetivação da etapa de recuperação entre os ciclos de estresse, esta prática alterou os padrões de resposta das plantas.

Os resultados do ciclo 2 (165 DAT), aparentemente indicam maior severidade do estresse físico com efeito cumulativo (Figura 16a). Nesta etapa houve uma leve diminuição da taxa fotossintética para ambas as cultivares no tratamento controle, porém o desempenho foi similar. No entanto, a queda da assimilação líquida de carbono ocorreu de forma gradual conforme a severidade do estresse, sendo a cv. Obatã que sofreu os maiores efeitos pela falta de água. Ressalta-se que, as lâminas de DH provocaram diminuição evidente das taxas de fotossíntese líquida nas plantas de cafeeiro. Damatta (2007) argumenta que em curto prazo, a DH afeta negativamente a variável A em cafeeiro assim como bem como a condutância estomática (g_s). Por outro lado, quando o período de DH é mais longo, outras estratégias podem ser utilizadas pelas plantas para limitar a perda de água, como a

redução da área foliar. Dias et al. (2007) citam que a redução de A esta interligada as taxas de g_s , sendo variável conforme a variabilidade entre genótipos de cafeeiro quanto a sensibilidade de g_s a DH. Esta diminuição na A também foi comprovada na cultura de algodoeiro, onde 12 genótipos foram submetidos à deficiência hídrica moderada (-1.5 Mpa) e severa (-3.0 Mpa), reduzindo-se a taxa fotossintética paralelamente com a severidade do estresse e apresentando taxas semelhantes de A entre os genótipos unicamente no tratamento sob DHS (BRITO et al., 2014).

4.3.5.2.2 Atividade fotossintética: Condutância estomática (g_s)

No experimento de verão (Figura 16a), para os 90 DAT houve apenas pequenas variações entre as cultivares as quais poderiam ser atribuídas às condições ambientais, considerando-se que neste período, todas as plantas estavam bem hidratadas (capacidade de campo). No primeiro ciclo de DH (120 DAT), as plantas da cv. Obatã sob DHM e DHS apresentaram diminuição da g_s de maneira similar às plantas sob DHM da cv. Catucaí, registrando valores semelhantes independentemente dos tratamentos com restrição hídrica e menores quando comparados ao controle. Já nas plantas da cv. Catucaí houve uma diminuição drástica devido ao tratamento com DHS. Entre as cultivares, apenas pode-se destacar que a cv. Obatã mostrou capacidade de manter a abertura estomática, mesmo em condições de falta de água.

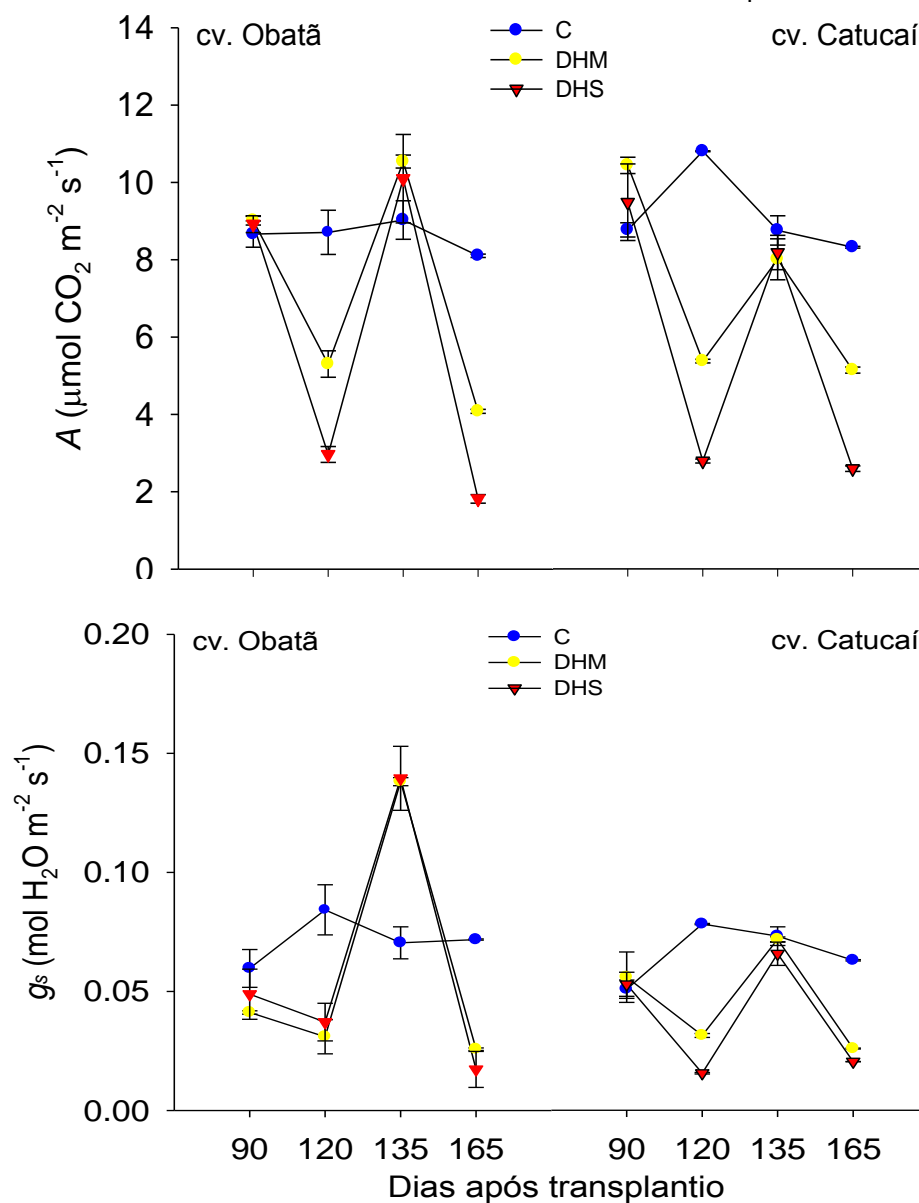
Na etapa de recuperação (135 DAT), apenas as plantas da cv. Obatã sob DHM e DHS atingiram valores de g_s maiores às plantas do controle de ambas cultivares. Portanto, as plantas sob DHM e DHS da cv. Catucaí, alcançaram valores similares as plantas do tratamento controle. Esse desempenho em resposta ao estresse hídrico-reidratação é fundamental para compreender e caracterizar as possíveis capacidades de adaptação das plantas.

No segundo ciclo (165 DAT), repetiu-se um padrão entre as cultivares quando a DH modulou a resposta de g_s , independentemente da intensidade e sempre com o tratamento Controle > DHM e DHS (Figura 16a).

Os resultados deste ensaio de certa forma concordam com o reportado por Delfine et al, (2000), trabalhando com plantas de pimenta doce sob DH, onde a condutância estomática diminuiu quando a água foi suprimida, ocasionando reduções consideráveis deste parâmetro nas plantas a partir dos 20 e até os 80 DAT. Em outro estudo e de maneira semelhante ao ocorrido neste ensaio, plantas

de algodão de 12 diferentes genótipos foram submetidas à deficiência hídrica moderada e DHS, apresentando uma diminuição por efeito da DHM e com diferenças entre materiais genéticos, ocasionando a máxima queda da g_s apenas por efeito da DHS sem diferenças entre os genótipos (BRITO et al., 2014). Resultados semelhantes foram verificados em duas cultivares de amêndoa, as quais permaneceram durante 28 dias sob condições de estresse hídrico (potencial matricial do solo -80 kPa) e em seguida reidratadas durante 8 dias, apresentando redução na g_s em ambas as cultivares aos 5 dias após o início dos tratamentos e reduzindo-se gradativamente ao longo do período de estresse. A resposta à reidratação também foi manifesta tanto para a cv. Garrigues quanto para a cv. Ramillete (TORRECILLAS et al., 1996).

Figura 16a. Trocas gasosas: Assimilação líquida de CO_2 (A) e Condutância estomática (g_s) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 dias após transplante (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



4.3.5.2.3 Atividade fotossintética: Concentração intercelular de CO₂ (C_i)

No verão, antes da diferenciação dos tratamentos, as plantas de cafeeiro apresentaram valores similares de C_i, independentemente da cultivar (Figura 16b). Com a aplicação do primeiro ciclo de DH (120 DAT), as plantas da cv. Obatã sob DHS apresentaram valores similares ao tratamento controle da cv. Catucaí, sendo estes superados pelo tratamento controle da cv. Obatã. Os demais tratamentos hídricos se comportaram de maneira semelhante, porém com a concentração intercelular de CO₂ menor e idêntica entre as cultivares.

Com a reidratação, as plantas da cv. Obatã sob DHM e DHS atingiram os valores máximos de C_i, seguidos pelos tratamentos DHM e controle da cv. Catucaí, sendo as plantas de essa cultivar sob DHS e as do controle Obatã que apresentaram os menores valores para este parâmetro. Quando se efetivou o segundo ciclo de DH (165), apenas inverteram-se os valores de C_i entre as cultivares, apresentando-se a maior concentração intercelular de CO₂ nos tratamentos controle e DHS da cv. Obatã e DHS e controle da cv. Catucaí. Em resposta à DHM, a menor C_i ocorreu nas plantas da cv. Obatã e nas da cv. Catucaí, respectivamente (Figura 16b).

Ao término da avaliação deste parâmetro, constatou-se que houve comportamento comparável, com o resultado já apresentado da condutância estomática (g_s), principalmente para o ensaio de verão, quando as temperaturas mais altas registradas na estufa provavelmente exerceram efeito sinérgico com a falta de água, refletindo assim nas variações de C_i, para os tratamentos com DH. De maneira similar ao constatado neste ensaio, plantas de soja da cv. Shin-Tanbakuro e cv. Midori foram submetidas à DH, apresentando ligeira redução na C_i aos 3 dias após a imposição do estresse em ambas as cultivares. Os efeitos drásticos na diminuição da concentração intercelular de CO₂ em resposta à DH, ocorreram aos 7 DAIE, apresentando-se concentrações semelhantes entre as cultivares (NAKAYAMA et al., 2007).

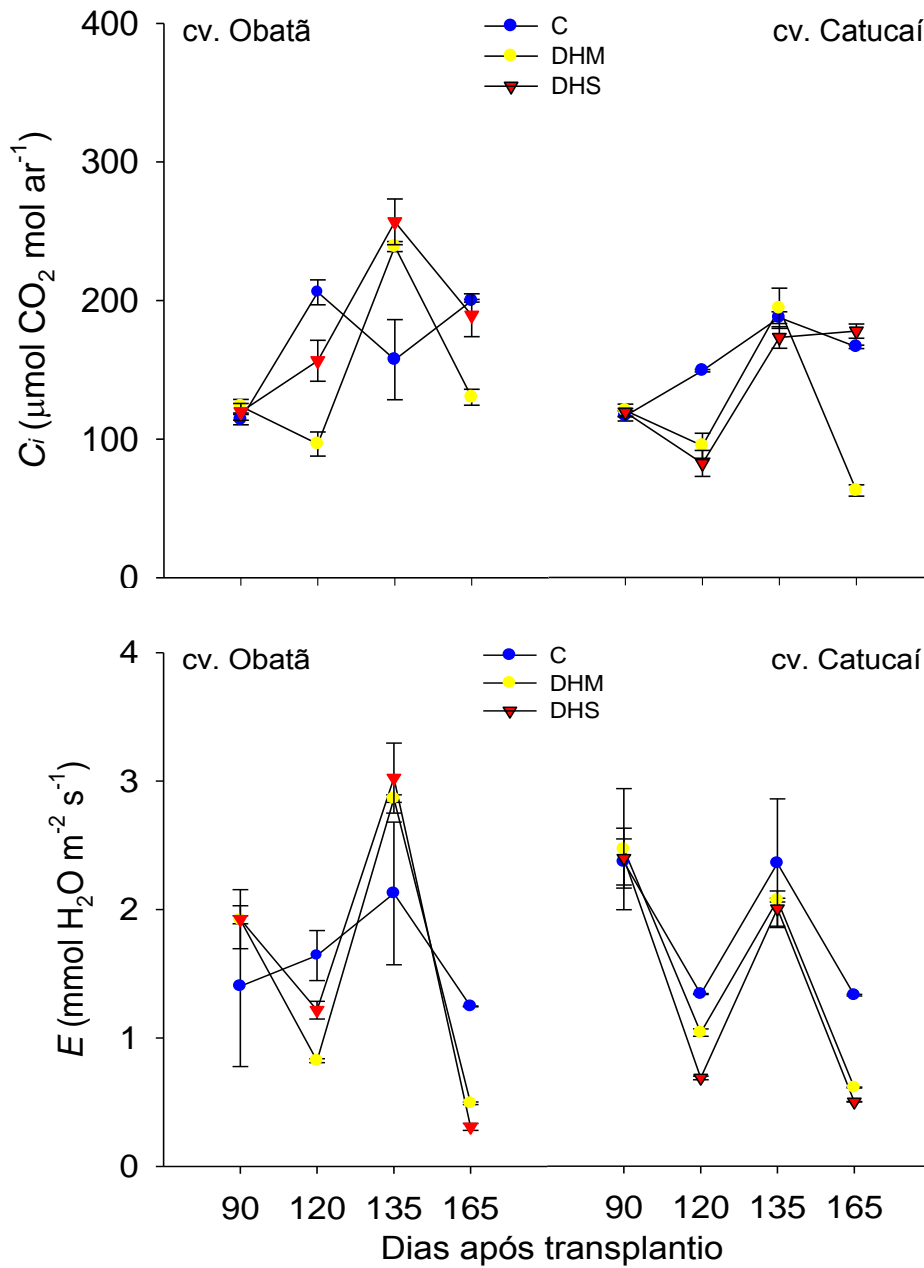
4.3.5.2.4 Atividade fotossintética: Transpiração (E)

No ensaio de verão, a E sofreu interferências conforme a severidade da deficiência hídrica assim como entre cultivares. Antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT), somente as plantas da cv. Catucaí apresentaram maiores taxas transpiratórias, em relação às plantas da cv. Obatã, as quais induziram diminuição da transpiração (Figura 16b). Já no ciclo 1 da deficiência hídrica (120 DAT), as plantas dos tratamentos controle apresentaram os máximos valores de E , sendo a cv. Obatã que apresentou os valores máximos. Para as plantas da cv. Catucaí houve diminuição de E proporcional à severidade ($C > DHM > DHS$). Entretanto, os valores de E nas plantas da cv. Obatã inverteram-se, obtendo a mínima taxa transpiratória as plantas da DHM quando comparada às plantas da DHS, ambas sempre menores ao tratamento controle.

Na etapa de reidratação (135 DAT), houve recuperação geral, no entanto os resultados não indicam claramente as diferenças com o controle, principalmente das plantas da cv. Catucaí sob DH (Figura 16b). Já as plantas da cv. Obatã evidenciaram o efeito da reidratação sobre a transpiração, apresentando-se a máxima E nas plantas que passaram por um período de estresse sob DHS e DHM respectivamente, porém menores quando comparados ao controle. Esse comportamento na transpiração, possivelmente é uma estratégia das plantas que ajuda a amenizar os efeitos negativos causados pela DH, sendo talvez modulada pela g_s (JONES, 1998). Resultados similares aos deste ensaio também foram reportados por Brito et al., (2014), ao submeterem plantas de 12 genótipos de algodão à DHM (-1.5 Mpa) e DHS (-3.0 Mpa), sendo as plantas sob estresse hídrico as que apresentaram as menores taxas transpiratórias conforme a severidade do estresse, havendo diferenças entre os materiais vegetais estudados.

Segundo Jones, (1998) g_s é capaz de modular A e transpiração (E), os quais, por sua vez, podem contra regular g_s . Em caso de E elevado, a disponibilidade de água nas células guarda dos estômatos é reduzida promovendo o fechamento, o que pode reduzir a transpiração (EAMUS, 1999). Por outro lado, quando A mantém-se reduzido haverá condição para que a concentração intercelular de CO_2 siga elevada devido ao seu baixo consumo pela fotossíntese, propiciando o fechamento estomático. Ao contrário quando A mantém-se elevado, os valores de C_i serão aumentados. Nestas condições, quando a concentração intercelular de CO_2 for reduzida haverá favorecimento para a abertura dos estômatos (JONES, 1998).

Figura 16b. Trocas gasosas: Concentração intercelular de CO_2 (C_i) e Transpiração (E) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 dias após transplantio (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



4.3.5.3 Teor de pigmentos

4.3.5.3.1 Clorofila a

No ensaio de inverno, de acordo com o desdobramento da interação para os 90 DAT, anterior ao início dos ciclos de estresse (Tabela 37), pode se observar que aparentemente as plantas do tratamento DHS da cv. Obatã tiveram uma queda considerável da clorofila a quando comparadas ao controle. Do mesmo modo, é importante destacar que as diferenças apresentadas não foram ocasionadas por restrição hídrica alguma. Por conseguinte, entre cultivares, apenas no tratamento controle as plantas da cv. Catucaí apresentaram o valor mínimo para este parâmetro.

Tabela 37. Desdobramento da interação para clorofila a em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Cultivar (cv)	Clorofila a ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha) - 90 DAT			
	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	19,05 Aa	13,43 ABa	12,83 Ba	L = 0,412 cv = 0,455 L x cv= 0,030
Catucaí	13,14 Ab	15,10 Aa	14,51 Aa	

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Da mesma forma, plantas de cafeeiro cultivadas no inverno e crescendo sobre estresse hídrico (120 e 165 DAT) não apresentaram mudanças quanto ao teor de clorofila a (Tabela 38). No entanto, entre cultivares houve diferença significativa aos 120 e 135 DAT, sendo a cultivar Obatã a melhor adaptada. Inesperadamente, quando se efetivou o segundo ciclo de DH, a concentração de clorofila a em plantas de ambas as cultivares não sofreu alterações.

Tabela 38. Clorofila *a* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	120	135	165
C	13,75 a	13,77 a	10,68 a
DHM	16,58 a	16,27 a	16,38 a
DHS	14,58 a	15,64 a	16,79 a
Cultivar (cv)			
Obatã	17,27 a	17,31 a	14,88 a
Catucaí	12,67 b	13,14 b	14,36 a
	L = 0,410	L = 0,153	L = 0,139
<i>p</i>	cv = 0,008	cv = 0,004	cv = 0,672
	L x cv = 0,182	L x cv = 0,682	L x cv = 0,257

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O teor de clorofila *a* em plantas cultivadas no verão e submetidas à restrição hídrica, de forma similar ocorrida no inverno, não evidenciou alterações para este pigmento (Tabela 39). Esse comportamento foi notado no transcurso do experimento, desde os 90 DAT e conseqüentemente até o ciclo 2 da DH (fim do experimento).

Tabela 39. Clorofila *a* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	14,94 a	16,00 a	18,87 a	17,80 a
DHM	12,09 a	15,68 a	19,94 a	20,67 a
DHS	13,94 a	16,25 a	19,89 a	20,26 a
Cultivar (cv)				
Obatã	13,68 a	16,40 a	19,89 a	20,00 a
Catucaí	13,64 a	15,54 a	19,24 a	19,16 a
	L = 0,403	L = 0,957	L = 0,574	L = 0,125
<i>p</i>	cv = 0,971	cv = 0,407	cv = 0,549	cv = 0,476
	L x cv = 0,387	L x cv = 0,785	L x cv = 0,875	L x cv = 0,133

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.5.3.2 Clorofila *b*

As plantas de cafeeiro cultivadas no inverno apresentaram interação no conteúdo de clorofila *b* (Tabela 40), sendo as plantas da cv. Obatã quem mostrou o valor mínimo para este parâmetro avaliado.

Tabela 40. Desdobramento da interação para clorofila *b* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha) - 90 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	11,35 Aa	11,33 Aa	7,49 Ab	L = 0,196
Catucaí	10,17 Aa	13,85 Aa	13,54 Aa	cv = 0,036
				L x cv = 0,049

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O teor de clorofila *b* no cafeeiro cultivado na mesma estação do ano apresentou uma diminuição considerável (Tabela 41), curiosamente nas plantas do controle (120 DAT). Evidentemente, quando foi aplicado o ciclo de recuperação e o segundo ciclo da DH, não existiu diferença significativa entre tratamentos. Entretanto, houve diferenças entre cultivares, mostrando os valores máximos a cv. Obatã durante o período de reidratação (135 DAT).

Tabela 41. Clorofila *b* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	120	135	165
C	6,26 b	2,34 a	5,30 a
DHM	10,16 ab	2,77 a	8,42 a
DHS	13,52 a	2,62 a	9,94 a
Cultivar (cv)			
Obatã	10,61 a	2,97 a	8,13 a
Catucaí	9,36 a	2,19 b	7,64 a
	L = 0,020	L = 0,204	L = 0,164
<i>P</i>	cv = 0,430	cv = 0,003	cv = 0,638
	L x cv = 0,708	L x cv = 0,503	L x cv = 0,088

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Em plantas cultivadas no período de verão o teor de clorofila *b*, tanto no ciclo de recuperação (135 DAT) quanto na imposição do segundo ciclo de deficiência hídrica (165 DAT) não foi alterado. Ao mesmo tempo, não foi evidenciada mudança alguma entre as cultivares (Tabela 42), exceto aos 120 DAT que apresentou desdobramento da interação (Tabela 43).

Tabela 42. Clorofila *b* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)			
Tratamentos	Dias após o transplante (DAT)		
	90	135	165
C	6,37 a	8,34 a	8,60 a
DHM	5,82 a	9,88 a	10,73 a
DHS	7,63 a	9,80 a	10,18 a
Cultivar (cv)			
Obatã	6,70 a	9,71 a	10,20 a
Catucaí	6,52 a	8,98 a	9,48 a
	L = 0,277	L = 0,131	L = 0,218
<i>p</i>	cv = 0,859	cv = 0,352	cv = 0,513
	L x cv = 0,410	L x cv = 0,430	L x cv = 0,126

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

De acordo com o desdobramento da interação para o teor de clorofila *b* (Tabela 43), exclusivamente aos 120 DAT as plantas da cv. Catucaí no tratamento DHM apresentaram os valores mínimos no referente a esse parâmetro. Já nos tratamentos controle e DHS, a quantidade de clorofila *b* teve uma concentração equivalente.

Tabela 43. Desdobramento da interação para clorofila *b* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha) - 120 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	7,16 Aa	9,96 Aa	8,78 Aa	L = 0,798
Catucaí	8,90 Aa	6,96 Ab	7,11 Aa	cv = 0,151
				L x cv 0,032

DAT= Dias Após o Transplante; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Yin et al. (2016) trabalhando com plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas*) submetidas a três níveis de deficiência hídrica (80, 50 e 30 % CC), avaliaram o teor de carotenoides, clorofilas *a,b* e verificaram que paralelamente à diminuição do conteúdo volumétrico da água no solo os pigmentos aumentaram de forma significativa. Pereira et al. (2011) avaliando teores de clorofila em cafeeiros submetidos a diferentes ambientes obteve valores entre 53,36 e 58,02 de TRC em condição de seca e também observou que em cafeeiros em regime de seca, os valores de TRC aumentam à medida que se reduziu a água. Em adição, muitos

trabalhos buscam correlacionar o TRC com a concentração de nitrogênio nas plantas (SOUZA et al., 2011; GODOY et al., 2003; GÁBORCIK, 2003). Entretanto, para plantas de cafeeiro do presente ensaio e nas condições experimentais, de fato o TRC se correlacionou com as concentrações foliares de nitrogênio, as quais também não variaram em função da DH.

4.3.5.3.3 Carotenoides

No ensaio de inverno, o teor de carotenoides em plantas de cafeeiro submetidas a dois ciclos de DH não sofreu alterações (Tabela 44). No entanto, comparando as cultivares, exclusivamente no primeiro ciclo de estresse (120 DAT) e recuperação (135 DAT) as plantas da cv. Catucaí apresentaram os menores valores. Em outras palavras, as plantas da cultivar Obatã conseguiram se adaptar às condições hídricas limitadas no decorrer do experimento.

Tabela 44. Carotenoides em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Tratamentos	Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	4,14 a	3,70 a	0,23 a	3,21 a
DHM	3,84 a	4,84 a	0,28 a	5,53 a
DHS	3,37 a	3,91 a	0,25 a	5,24 a
Cultivar (cv)				
Obatã	4,16 a	4,93 a	0,29 a	5,06 a
Catucaí	3,40 a	3,37 b	0,21 b	4,26 a
<i>p</i>	L = 0,186 cv = 0,094 Lxcv = 0,124	L = 0,370 cv = 0,006 Lxcv = 0,101	L = 0,176 cv = 0,007 Lxcv = 0,604	L = 0,147 cv = 0,089 Lxcv = 0,600

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Para o teor de carotenoides não houve diferenças significativas entre cultivares no experimento realizado durante o verão (Tabela 45). Com relação aos tratamentos com DH, as plantas de cafeeiro mostraram diferenças significativas no teor de carotenoides após o primeiro ciclo de estresse (135 e 165 DAT), mostrando aumento desse fator nas plantas dos tratamentos com restrição hídrica.

Tabela 45. Carotenoides em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	4,01 a	4,11 a	4,80 b	4,60 b
DHM	3,26 a	4,21 a	5,52 a	5,76 a
DHS	3,99 a	4,12 a	5,31 ab	5,53 ab
Cultivar (cv)				
Obatã	3,78 a	4,22 a	5,40 a	5,31 a
Catucaí	3,73 a	4,08 a	5,02 a	5,28 a
	L = 0,371	L = 0,979	L = 0,032	L = 0,032
<i>p</i>	cv = 0,897	cv = 0,640	cv = 0,101	cv = 0,920
	Lxcv = 0,221	Lxcv = 0,513	Lxcv = 0,683	Lxcv = 0,302

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados similares aos encontrados neste estudo foram constatados por Santana (2012), trabalhando com pinhão manso sob DHM os teores de carotenoides e das clorofilas não foram significativos. Por outro lado, Pompelli et al. (2010) observaram uma diminuição desses pigmentos em plantas de *J. curcas* após a supressão da irrigação por 18 dias.

4.3.6 Discriminação isotópica de carbono e nitrogênio

4.3.6.1 Razão isotópica do carbono sequestrado ($\delta^{13}\text{C} / \delta^{12}\text{C}$)

Para o presente estudo, conduzido no inverno, as plantas de cafeeiro não apresentaram variação do $\delta^{13}\text{C}$, mostrando valores semelhantes tanto nos tratamentos com restrição hídrica quanto nas plantas irrigadas conforme a necessidade hídrica (Tabela 46). Em outras palavras, os resultados não evidenciaram qualquer relação nítida entre deficiência hídrica e a discriminação de $\delta^{13}\text{C}$. Entre cultivares, quando foi aplicado o primeiro ciclo de DH unicamente a cv. Catucaí obteve o menor $\delta^{13}\text{C}$ (mais negativo).

Tabela 46. Discriminação isotópica de Carbono em tecido foliar de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C} / \delta^{12}\text{C}$)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	-26,48 a	-25,57 a	-26,71 a	-27,27 a
DHM	-26,86 a	-25,11 a	-25,42 a	-26,02 a
DHS	-26,51 a	-25,58 a	-26,05 a	-26,78 a
Cultivar (cv)				
Obatã	-26,42 a	-24,86 a	-25,83 a	-26,13 a
Catucaí	-26,81 a	-25,98 b	-26,29 a	-27,25 a
	L = 0,688	L = 0,428	L = 0,165	L = 0,273
<i>p</i>	cv = 0,623	cv = 0,020	cv = 0,348	cv = 0,174
	Lxcv = 0,810	Lxcv = 0,337	Lxcv = 0,587	Lxcv = 0,645

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

As plantas cultivadas no verão manifestaram o mesmo comportamento como ocorrido na estação de inverno. Isto é, a DH em plantas de cafeeiro não discriminou o $\delta^{13}\text{C}$. Já entre cultivares, conforme os dados de $\delta^{13}\text{C}$ (Tabela 47) apenas a cv. Obatã foi discriminada em relação á cv. Catucaí, especificamente no ciclo 1 da DH.

Tabela 47. Discriminação isotópica de Carbono em tecido foliar de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C} / \delta^{12}\text{C}$)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	-28,86 a	-27,58 a	-28,06 a	-28,29 a
DHM	-28,62 a	-27,91 a	-27,46 a	-26,90 a
DHS	-27,97 a	-28,48 a	-27,35 a	-26,67 a
Cultivar (cv)				
Obatã	-28,26 a	-27,45 a	-27,55 a	-27,05 a
Catucaí	-28,70 a	-28,52 b	-27,69 a	-27,52 a
	L = 0,407	L = 0,579	L = 0,401	L = 0,065
<i>p</i>	cv = 0,396	cv = 0,023	cv = 0,802	cv = 0,320
	Lxcv = 0,133	Lxcv = 0,748	Lxcv = 0,958	Lxcv = 0,819

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados diferentes aos deste estudo foram encontrados por Brito et al., (2014) estudando diferentes fenótipos de algodoeiro sob deficiência hídrica verificaram uma diminuição da discriminação isotópica do ^{13}C em folhas de plantas crescendo em condições de restrição hídrica. Adiredjo et al., (2014), ao estudarem diferentes genótipos de girassol em duas estações climáticas diferentes e condições

distintas de umidade do solo, encontraram diferenças significativas em plantas cultivadas no experimento 2 (setembro-outubro 2012) em que a restrição hídrica foi mais rígida, isto é, conforme a severidade do estresse também diminui a discriminação isotópica do carbono. Outros autores têm encontrado esse comportamento similar em plantas submetidas à DH, por exemplo, em arroz (ZHAO et al., 2004) e centeio selvagem russo (FRANK e BERDAHL, 2001). De forma similar, Cui et al., (2009), avaliando a discriminação do isótopo estável de carbono em folhas (ΔL) de jujuba (*Ziziphus jujuba* Mill) submetidas à deficiência hídrica, constataram uma diminuição do ^{13}C conforme a severidade do estresse hídrico. Tendências similares também foram verificadas na cultura de videira (SOUZA et al., 2005).

4.3.6.2 Razão isotópica do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N} / \delta^{14}\text{N}$)

As plantas de cafeeiro cultivadas no inverno e submetidas à DH não sofreram efeitos quanto à eficiência do uso do nitrogênio quando aplicados os dois ciclos de DHM (120 e 165 DAT). Pelo contrário, o nitrogênio em plantas com DHS mostrou-se comprometido de maneira drástica aos 165 DAT (Ciclo 2) conforme resumido na Tabela 48. Possivelmente o tratamento da DHM permitiu manter intacto o teor do nitrogênio nas folhas das plantas, já que os valores foram similares quando comparados ao controle. Houve desdobramento da interação aos 120 DAT (ciclo 1 de estresse, Tabela 49).

Tabela 48. Discriminação isotópica do $\delta^{15}\text{N}$ em tecido foliar de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Tratamentos	Razão isotópica ($\delta^{15}\text{N} / \delta^{14}\text{N}$)		
	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	135	165
C	4,29 a	6,25 a	6,10 a
DHM	3,78 a	6,14 a	6,10 a
DHS	3,95 a	4,71 a	2,24 b
Cultivar (cv)			
Obatã	4,17 a	6,11 a	5,28 a
Catucaí	3,84 a	5,29 a	4,34 a
	L = 0,380	L = 0,118	L = 0,004
<i>p</i>	cv = 0,545	cv = 0,212	cv = 0,260
	L x cv = 0,591	L x cv = 0,633	L x cv = 0,807

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

De acordo com os resultados da interação para discriminação isotópica do $\delta^{15}\text{N}$, exclusivamente as plantas com DHS da cv. Catucaí evidenciaram uma ineficiência do uso do N, tendo somente o melhor desempenho de adaptação às condições hídricas limitadas as plantas da cv. Obatã para este período de estresse.

Tabela 49. Desdobramento da interação para discriminação isotópica do $\delta^{15}\text{N}$ em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Razão isotópica ($\delta^{15}\text{N} / \delta^{14}\text{N}$) - 120 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	5,88 aA	5,33 aA	5,98 aA	L = 0,242 cv = 0,001 L x cv = 0,0008
Catucaí	5,63 aA	5,37 aA	3,25 bB	

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Em plantas de cafeeiro crescidas no verão, evidentemente a absorção do nitrogênio não foi afetada pelos tratamentos com DH (Tabela 50). Provavelmente, as plantas, apesar das condições hídricas restritas conseguiram manter valores semelhantes ao tratamento controle, já que durante 90 DAT receberam os tratos culturais similares. Além disso, as plantas de ambos os experimentos foram avaliadas unicamente na etapa vegetativa (165 DAT). Por outro lado, houve divergência entre as cultivares ao se efetuar o ciclo 2 da DH, sendo a cv. Obatã melhor avaliada.

Tabela 50. Discriminação isotópica do Nitrogênio em tecido foliar de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Razão isotópica ($\delta^{15}\text{N} / \delta^{14}\text{N}$)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
C	5,07 a	1,32 a	1,60 a	3,80 a
DHM	4,47 a	1,14 a	2,04 a	3,18 a
DHS	4,18 a	1,85 a	1,94 a	2,35 a
Cultivar (cv)				
Obatã	4,61 a	1,58 a	1,93 a	4,02 a
Catucaí	4,54 a	1,30 a	1,79 a	2,20 b
<i>p</i>	L = 0,059 cv = 0,947 Lxcv = 0,446	L = 0,336 cv = 0,568 Lxcv = 0,261	L = 0,481 cv = 0,797 Lxcv = 0,216	L = 0,174 cv = 0,001 Lxcv = 0,801

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados semelhantes aos obtidos nestes ensaios foram observados por Medina et al., (2016) em quatro genótipos de trigo duro, os quais foram submetidos a DHM e DHS em condições de CO₂ ambiental e CO₂ elevado (concentrado), onde não houve diferença significativa na composição isotópica do ¹⁵N entre tratamentos.

Já em outro trabalho, dez cultivares de trigo duro foram avaliadas durante três anos consecutivos sob ambiente de sequeiro e irrigação suplementar (IS) obtendo diferenças marcantes principalmente entre os anos, regimes hídricos e cultivares, ressaltando que o tratamento com IS apresentou o valor maior de $\delta^{15}\text{N}$ (ARAUS et al., 2013).

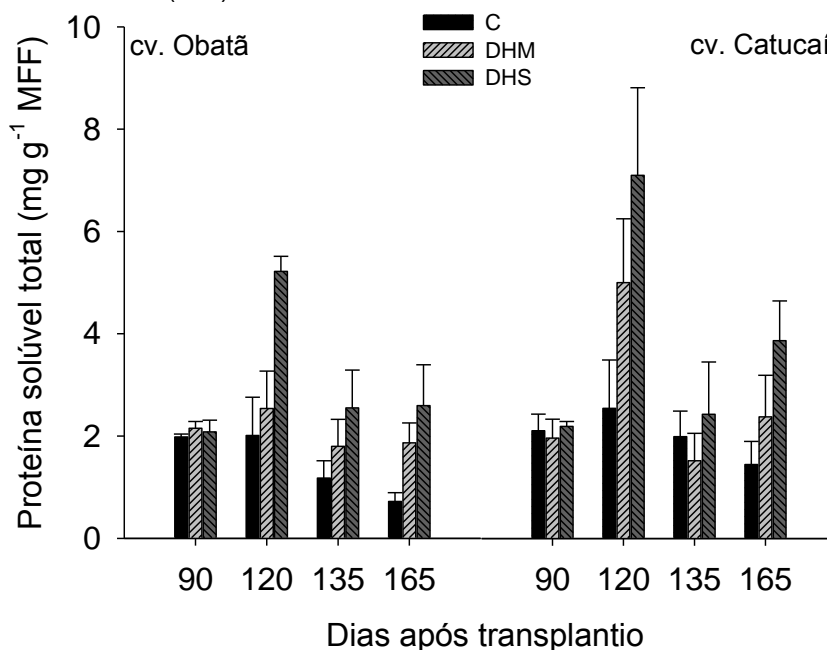
Conforme os resultados de diferentes estudos, provavelmente, a eficiência do uso do N nos vegetais depende das condições ambientais e da espécie. Estruturas ou morfologia radiculares desiguais, características genótípicas específicas, atividade enzimática do metabolismo do N, também podem influenciar na habilidade para discriminar o ¹⁵N (COQUE et al., 2006; EVANS, 2001). Além disso, a idade da planta e tipo de órgão vegetal possivelmente são os responsáveis das alterações na discriminação isotópica do ¹⁵N.

4.3.7 Análises bioquímicas

4.3.7.1 Determinação do teor de proteína solúvel total (TPST)

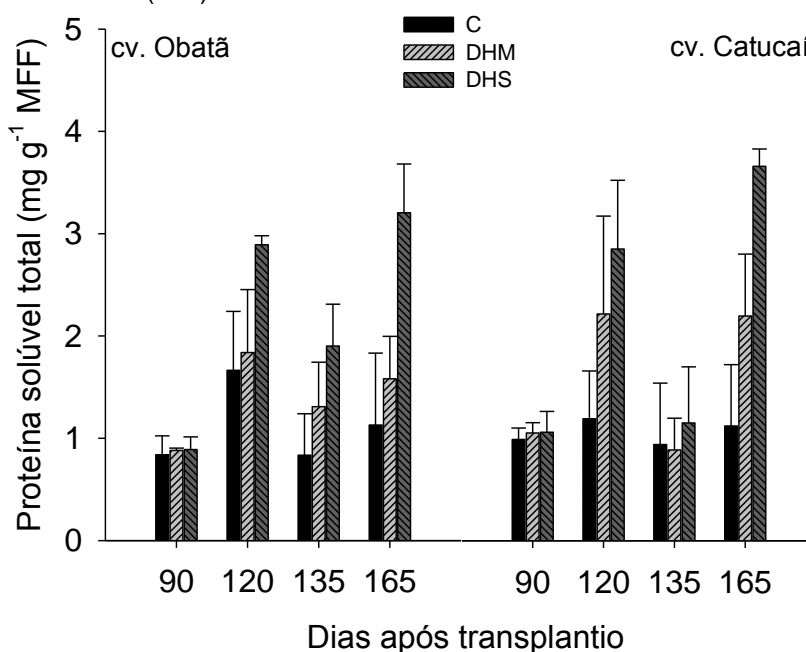
Plantas de cafeeiro manifestaram diferença significativa (Figura 17) entre os tratamentos com DH (120 DAT), bem como, quando aplicado o ciclo de recuperação. Dessa forma, no ciclo 1 de estresse, a concentração de proteína solúvel total (PST) aumentou drasticamente com a severidade da restrição hídrica. Por outro lado, na etapa de reidratação, somente as plantas da DHS diferiram dos demais tratamentos e de maneira idêntica mantiveram o mesmo comportamento (concentração maior) no segundo ciclo da DH. Entre cultivares, similarmente a cv. Obatã apresentou a maior concentração de PST em ambos os ciclos de estresse hídrico.

Figura 17. Concentração de proteína solúvel total (mg g^{-1} MFF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=4$).



Em contraste, as plantas de cafeeiro cultivadas no verão não demonstraram diferenças significativas entre tratamentos hídricos no ciclo 1 (Figura 18). Plantas submetidas ao segundo ciclo de estresse (DHM e DHS) acumularam mais proteínas solúveis totais. Já entre as cultivares, a cv. Obatã apresentou a maior concentração de PST para o ciclo de reidratação.

Figura 18. Concentração de proteína solúvel total (mg g^{-1} MFF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=4$).



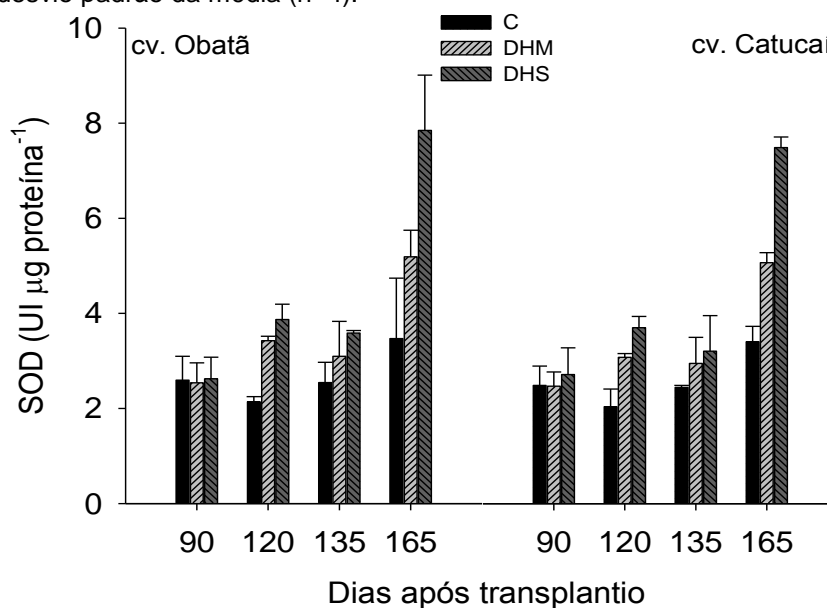
Sabe-se que as plantas acumulam moléculas como fonte de reservas (aminoácidos e PST), portanto a concentração varia entre as espécies vegetais (MELONI et al., 2008). Por exemplo, resultados diferentes aos obtidos no ensaio de inverno, Mafakheri et al. (2011) avaliando três cultivares de *Cicer arietinum* sob deficiência hídrica e posterior recuperação, constataram uma diminuição na concentração de proteínas solúveis nas plantas submetidas a DH. Este comportamento coincide com o apontado por Meloni et al. (2008). Entretanto, plantas de pimenta doce desenvolvida sob condições de deficiência hídrica apresentaram aumento no teor de proteínas a partir dos 43 DAT, manifestando-se a maior concentração aos 65 dias após o transplântio (DELFINE et al., 2000).

Segundo Moran et al. (1994); Seel et al. (1992), a diminuição no teor de PST está relacionada ao estresse oxidativo em vegetais que têm sido submetidos à DH.

4.3.7.2 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

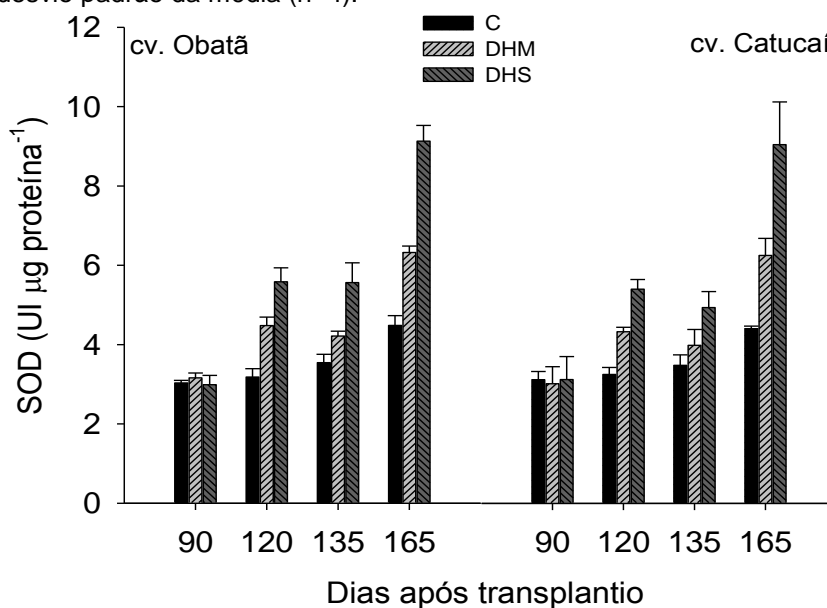
A atividade enzimática da SOD em plantas de cafeeiro crescidas no inverno sofreu alterações significativas (Figura 19), resultado da deficiência hídrica. As plantas dos tratamentos DHM e DHS demonstraram defesa antioxidativa ocasionada pela restrição hídrica (120 DAT), embora no ciclo de reidratação (135 DAT) o comportamento desses tratamentos tenha sido similar, porém, diferentes quando comparados ao controle (Figura 19). O efeito ocasionado aos 120 DAT foi manifestado no segundo ciclo da DH (165 DAT). Não houve diferença significativa alguma entre as cultivares durante a temporada avaliada.

Figura 19. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD; UI $\mu\text{g proteína}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno) C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



No estudo de verão, as plantas de cafeeiro aumentaram a atividade enzimática da SOD paralelamente com a severidade da DH (Figura 20). De maneira idêntica, a defesa antioxidativa das plantas dos tratamentos da DHM e DHS aumentou de forma gradual tanto no ciclo 1 de estresse quanto nos ciclos de reidratação e segundo ciclo de DH. Assim como no ciclo de inverno e de acordo com os resultados deste ensaio não houve diferenças significativas entre cultivares.

Figura 20. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD; UI $\mu\text{g proteína}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão) C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



A SOD é uma enzima do sistema antioxidativo das plantas que atua para dismutar o superóxido a peróxido de hidrogênio (GILL e TUTEJA, 2010), ambos prejudiciais quando acumulados na planta. Esta enzima auxilia as plantas para conseguirem tolerar o estresse oxidativo, neste caso, causado pela DH. A tendência dos resultados observados nestes ensaios (inverno e verão) são similares aos encontrados por Fries et al. (2007) avaliando mudas de café submetidas à DH, onde as plantas que estavam com suspensão gradativa da irrigação e suspensão total, consecutivamente, aumentaram a atividade da SOD. Outro ensaio realizado com *Vicia faba* submetida à DHM e DHS confirma o acréscimo na atividade dessa enzima, aumentando conforme a severidade do estresse e independentemente dos genótipos avaliados (ABID et al., 2017).

4.3.7.3 Atividade da enzima catalase (CAT)

Em plantas cultivadas na estação de **inverno** houve diferenças significativas ocasionadas pelos tratamentos com DH (Tabela 51). Os tratamentos DHM e DHS tiveram a maior atividade da CAT (165 DAT), tendo um comportamento exponencial conforme a severidade do estresse. Houve desdobramento da interação entre as cultivares e tratamentos com DH (Tabela 52).

Tabela 51. Atividade da enzima Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obat\u00e3 e Catuca\u00ed em estufa aos 90 e 165 DAT (Ensaio de Defici\u00eancia H\u00eddrica-Inverno).

Tratamentos	Enzima Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$)	
	Dias ap\u00f3s o transplantio (DAT)	
	90	165
C	115,47 a	118,97 c
DHM	114,82 a	186,03 b
DHS	113,22 a	212,34 a
Cultivar (cv)		
Obat\u00e3	118,23 a	175,03 a
Catuca\u00ed	110,78 b	169,86 a
	L = 0,445	L = 0,0001
<i>p</i>	cv = 0,005	cv = 0,081
	L x cv= 0,796	L x cv= 0,257

C= Controle; DHM= Defici\u00eancia H\u00eddrica Moderada; DHS= Defici\u00eancia H\u00eddrica Severa; L= L\u00e2mina de \u00e1gua. M\u00e9dias seguidas da mesma letra na coluna n\u00e3o diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Segundo os resultados da interação (Tabela 52), para o primeiro ciclo de DH aos 120 DAT, a atividade enzimática aumentou paralelamente com a intensidade do estresse. Conseqüentemente, as plantas da cv. Obatã apresentaram os valores mínimos da ativação da CAT nos tratamentos controle e DHM. Diferente do observado no ciclo 1 de DH, no ciclo de recuperação (135 DAT), as plantas do tratamento DHS se recuperaram evidenciando redução na atividade da CAT. Já as plantas do tratamento DHM mostraram a maior atividade enzimática.

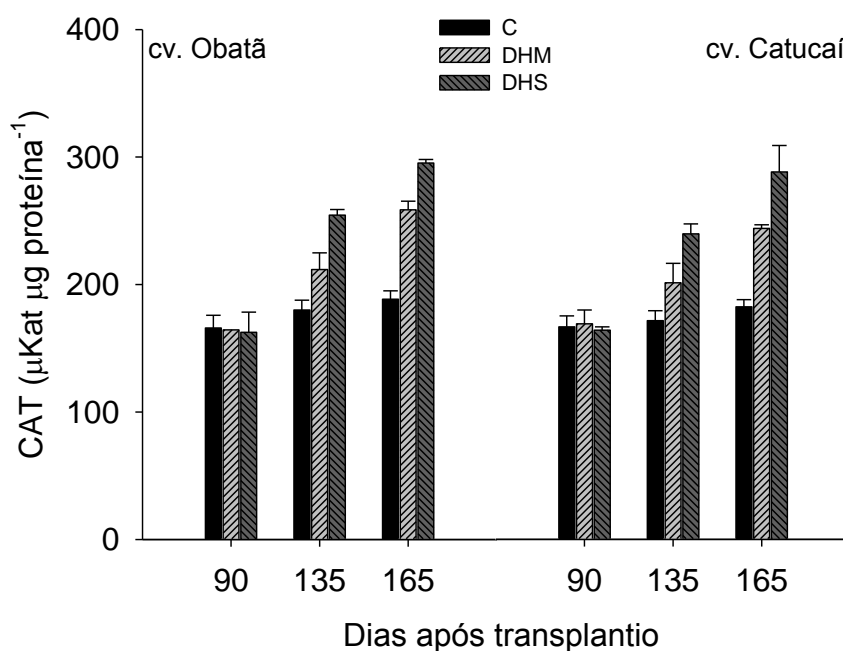
Tabela 52. Desdobramento da interação para atividade da enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120 e 135 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Enzima Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$) - 120 DAT				
Tratamentos				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	100,37 Cb	150,62 Bb	159,66 Aa	L = 0,0001
Catucaí	118,06 Ca	153,22 Ba	157,72 Aa	cv = 0,0001
Lxcv = 0,0001				
Enzima Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$) - 135 DAT				
Tratamentos				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	108,63 Cb	219,39 Ab	139,57 Ba	L = 0,0001
Catucaí	121,15 Ca	250,49 Aa	141,25 Ba	cv = 0,0001
Lxcv = 0,0001				

DAT= Dias Após o Transplante; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

As plantas de cafeeiro cultivadas no verão não reverteram os efeitos graduais causados pela DH (Figura 21), mesmo efetivando-se a reidratação (135 DAT). Do mesmo modo, aos 165 DAT em que foi aplicado o ciclo 2 de estresse, aparentemente os mecanismos antioxidativos da CAT foram ativados mostrando a maior atividade enzimática no tratamento da DHM seguido da DHS. Houve diferença significativa entre as cultivares, mantendo-se melhor adaptada a cv. Catucaí durante o período avaliado neste estudo, com desdobramento da interação aos 120 DAT (Tabela 53).

Figura 21. Atividade da enzima Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obat\u00e3 e Catuca\u00ed em estufa aos 90, 135 e 165 DAT (Ensaio de Defici\u00eancia H\u00eddrica-Ver\u00e3o) C=Controle; DHM=Defici\u00eancia H\u00eddrica Moderada; DHS=Defici\u00eancia H\u00eddrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padr\u00e3o da m\u00e9dia (n=4).



A atividade enzim\u00e1tica da CAT foi afetada pelos tratamentos com defici\u00eancia h\u00eddrica e pelas cultivares quando aplicado o primeiro ciclo de estresse (Tabela 53). As plantas do tratamento com DHS e DHM estiveram comprometidas quando comparadas ao controle. Portanto, somente as plantas da cv. Catuca\u00ed apresentaram a m\u00ednima atividade enzim\u00e1tica da CAT.

Tabela 53. Desdobramento da intera\u00e7\u00e3o para atividade da enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obat\u00e3 e Catuca\u00ed em estufa aos 120 DAT (Ensaio de Defici\u00eancia H\u00eddrica-Ver\u00e3o).

Enzima Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) - 120 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			<i>p</i>
	C	DHM	DHS	
Obat\u00e3	173,80 Ca	239,83 Ba	293,47 Aa	L = 0,0001
Catuca\u00ed	168,32 Cb	199,37 Bb	243,16 Ab	cv = 0,0001
L x cv = 0,0001				

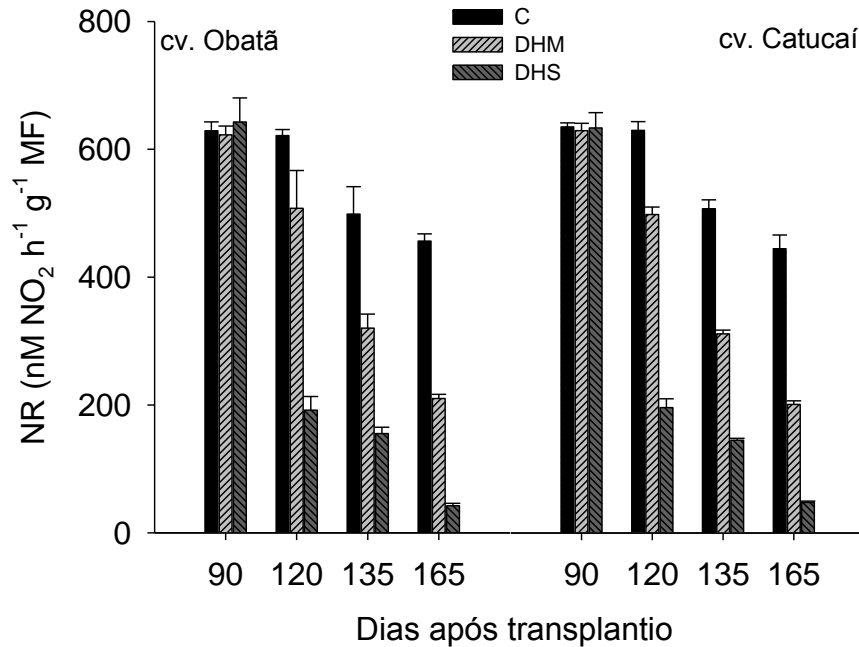
DAT= Dias Ap\u00f3s o Transpl\u00e2ntio; C= Controle; DHM= Defici\u00eancia H\u00eddrica Moderada; DHS= Defici\u00eancia H\u00eddrica Severa; L= L\u00e2mina de \u00e1gua. M\u00e9dias seguidas da mesma letra min\u00fascula nas colunas ou mai\u00fascula nas linhas n\u00e3o diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

De maneira similar aos resultados destes experimentos, Deuner et al. (2011) trabalhando com mudas de cafeeiro sob três regimes hídricos, notaram que a atividade enzimática da catalase é incrementada de forma paralela com a severidade da DH, apresentando os valores maiores as plantas do tratamento com supressão gradativa da irrigação e seguido pelo tratamento com supressão total da irrigação. Esta tendência é característica da CAT, pois possui a capacidade de oxidação-redução do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, composto gerado em condições de estresse (H_2O_2). Isto torna muito importante as CAT'S para remover e desintoxicar espécies reativas de oxigênio (ROS em inglês) quando existe alguma condição de estresse, como o estresse hídrico (GARG e MANCHANDA, 2009).

4.3.7.4 Atividade enzimática da nitrato redutase (NR)

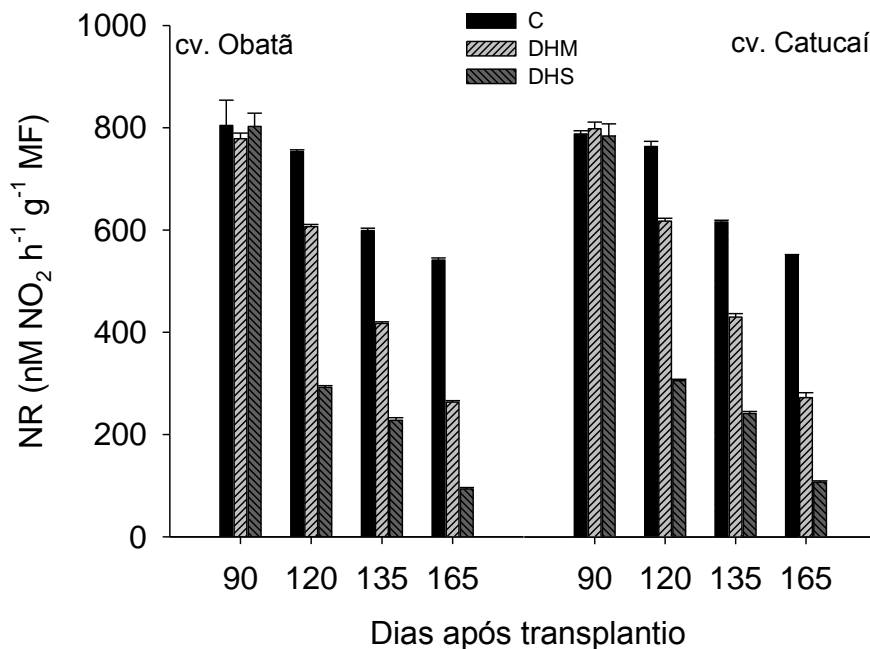
No referente ao ensaio de inverno, a atividade da NR em plantas de cafeeiro teve variações aos 90 DAT (Figura 22), mostrando a menor atividade com o valor de $626 \text{ nM NO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$. Portanto, a partir da imposição do primeiro ciclo de estresse (120 DAT), recuperação e segundo ciclo de DH, consecutivamente a atividade enzimática diminuiu de forma gradual. Evidentemente, as plantas do tratamento DHS apresentaram a mínima atividade do nitrato redutase quando comparadas ao controle e DHM. Do mesmo modo, a atividade enzimática da NR entre as cultivares não apresentou diferença significativa. Em resumo, a tendência da atividade desta enzima foi diminuir no transcurso do período avaliado, provavelmente acompanhando a diminuição da atividade fotossintética verificada nas mesmas condições experimentais. Diferentemente ao ocorrido neste ensaio, Shaner e Boyer (1976), trabalhando com plantas de milho (8 dias de idade) notaram que na etapa de recuperação a atividade da NR em plantas que passaram por um período de estresse aumentou de maneira similar às plantas controle.

Figura 22. Atividade da enzima Nitrato redutase em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



De maneira idêntica, as plantas cultivadas no **verão**, evidenciaram mudanças da atividade do nitrato redutase (Figura 23). A atividade enzimática foi suprimida simultaneamente com a severidade dos tratamentos hídricos, isto é, em plantas com a imposição da DHS a NR sempre foi mínima, tanto no primeiro ciclo de DH quanto nos ciclos de reidratação e analogamente para o ciclo 2 de estresse. Deste modo, é apropriado destacar que entre cultivares houve diferenças na atividade da NR, permanecendo a cv. Obatã com os valores superiores no decorrer do experimento. Esta resposta da NR ao estresse hídrico comprova o encontrado por Hsiao (1979), onde uma ocorrência de estresse severo e/ou intenso nas plantas pode reduzir a atividade dessa enzima, diminuindo até 50%.

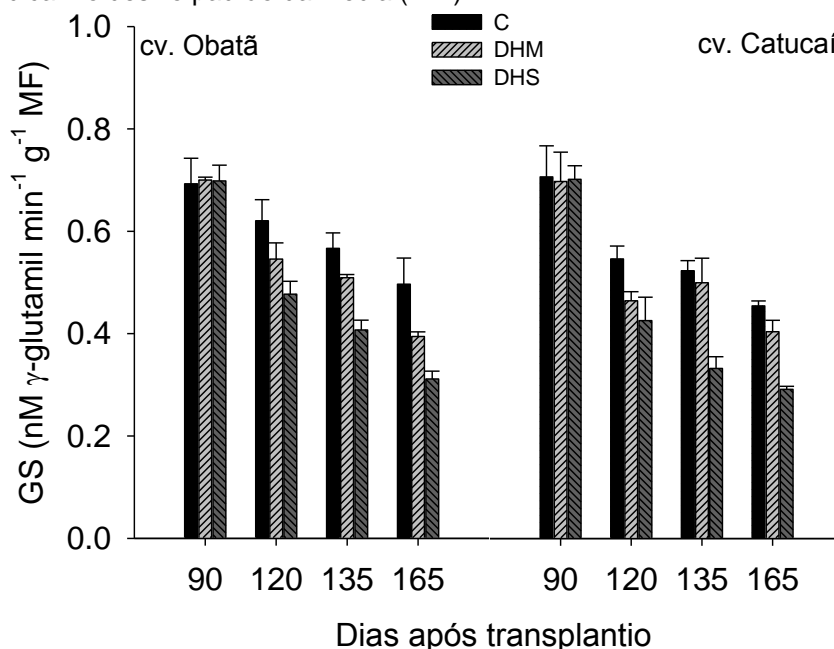
Figura 23. Atividade da enzima Nitrato Redutase em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



4.3.7.5 Atividade da enzima glutamina sintetase (GS)

As plantas de café cultivadas no **inverno** não mostraram interação entre cultivares e tratamentos hídricos para a atividade da glutamina sintetase (Figura 24). As plantas dos tratamentos da DHM e DHS apresentaram atividade da GS inferior ao controle no primeiro ciclo de estresse, enquanto ao ciclo de recuperação a atividade enzimática diminuiu conforme a restrição hídrica, assim também para o segundo período da DH (165 DAT). Em relação às cultivares, apenas nos ciclos de DH 1 e reidratação diferiram entre si, onde a cv. Catucaí apresentou atividade enzimática inferior. Por outro lado, Pompelli et al. (2010), trabalhando com pinhão-manso sob deficiência hídrica encontraram aumento da atividade da GS após 18 dias da imposição do estresse.

Figura 24. Atividade da enzima Glutamina Sintetase (GS) ($\text{nM } \gamma\text{-glutamil min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno). C=Controle; DHM=Deficiência Hídrica Moderada; DHS=Deficiência Hídrica Severa. Barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=4$).



O ensaio conduzido no verão apresentou interação entre cultivares e tratamentos hídricos em plantas de cafeeiro para a atividade da GS (Tabela 55). Com a imposição do primeiro ciclo de estresse houve evidente diminuição da atividade desta enzima unicamente em plantas com DHS (Tabela 54). As plantas do tratamento DHM possivelmente originaram mecanismos de adaptação que permitiram manter estável a atividade enzimática quanto como nas plantas do controle ou talvez esse grau de intensidade do estresse não foi suficiente para ocasionar efeitos evidentes.

Tabela 54. Atividade da enzima Glutamina sintetase (GS; $\text{nM } \gamma\text{-glutamyl min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e 120 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Tratamentos	Glutamina sintetase ($\text{nM } \gamma\text{-glutamyl min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$)	
	Dias após transplantio (DAT)	
	90	120
C	0,70 a	0,54 a
DHM	0,71 a	0,47 ab
DHS	0,70 a	0,40 b
Cultivar (cv)		
Obatã	0,71 a	0,48 a
Catucaí	0,71 a	0,46 a
	Sal = 0,888	Sal = 0,004
<i>p</i>	cv = 0,948	cv = 0,387
	Sal x cv = 0,564	Sal x cv = 0,074

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

De maneira geral, conforme a interação para atividade da GS, as plantas de cafeeiro diminuíram a atividade dessa enzima em resposta a DH, quando aplicados os ciclos de recuperação e no segundo ciclo de estresse (Tabela 55). Aos 135 DAT, as plantas de ambas as cultivares diferiram entre si, mostrando a Obatã com valor máximo para o tratamento DHM. No tratamento DHS, as plantas da cv. Catucaí apresentaram maior atividade enzimática neste momento. Por outro lado, ao se efetuar o segundo ciclo da DH (165 DAT), apesar de manter a mesma tendência da diminuição gradual na atividade enzimática, unicamente as plantas da cv. Catucaí do tratamento DHS apresentaram a maior atividade dessa enzima.

Em plantas de arroz índica cv. 'Zhongzheyong 1' submetidas à deficiência hídrica leve e moderada, não foi encontrado efeito significativo para a atividade da GS. Entretanto, em plantas de arroz japônica cv. 'Jiayou 5' a atividade dessa enzima foi significativamente maior quando submetidas à deficiência hídrica moderada (ZHONG et al., 2018).

Tabela 55. Desdobramento da interação para atividade da enzima Glutamina Sintetase (GS; nM γ -glutamil $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Glutamina sintetase (nM γ-glutamil $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) - 135 DAT				
Tratamentos				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	0,54 Aa	0,44 Ba	0,30 Cb	L = 0,0001
Catucaí	0,51 Aa	0,39 Bb	0,35 Ba	cv = 0,286
				L x cv = 0,009
Glutamina sintetase (nM γ-glutamil $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) - 165 DAT				
Lâmina (NHC)				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	0,64 Aa	0,37 Ba	0,26 Cb	L = 0,0001
Catucaí	0,66 Aa	0,35 Ba	0,29 Ca	cv = 0,166
				L x cv = 0,031

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3.7.6 Determinação do teor de L-prolina

As plantas de cafeeiro cultivadas no período de inverno não sofreram alteração alguma enquanto ao teor de prolina durante os 90 DAT. Também não houve diferenças significativas entre as cultivares (Tabela 56), pois o acúmulo deste aminoácido ocorre principalmente quando as plantas passam por um período de estresse físico.

Tabela 56. Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)
	90
C	19,08 a
DHM	19,51 a
DHS	19,59 a
Cultivar (cv)	
Obatã	19,44 a
Catucaí	19,35 a
	L = 0,471
<i>p</i>	cv = 0,793
	L x cv = 0,632

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No entanto, quando as plantas foram submetidas aos tratamentos com DH, a concentração de prolina foi aumentando simultaneamente (120 e 165 DAT) assim como na etapa de recuperação, sendo o tratamento com DHS o que apresentou os máximos valores (Tabela 57). Do mesmo modo, entre as cultivares, unicamente a cv. Obatã foi superior no acúmulo deste aminoácido.

Tabela 57. Desdobramento da interação para concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Inverno).

Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 120 DAT				
Tratamentos				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	26,00 Ca	52,45 Ba	60,80 Aa	L = 0,0001
Catucaí	25,40 Ca	43,12 Bb	54,42 Ab	cv = 0,0001
				Lxcv = 0,0001
Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 135 DAT				
Tratamentos				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	31,93 Ca	58,06 Ba	64,55 Aa	L = 0,0001
Catucaí	29,92 Cb	47,03 Bb	59,93 Ab	cv = 0,0001
				Lxcv = 0,0001
Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 165 DAT				
Tratamentos				
Cultivar (cv)	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	38,96 Ca	95,05 Ba	127,89 Aa	L = 0,0001
Catucaí	35,52 Cb	84,51 Bb	115,68 Ab	cv = 0,0001
				Lxcv = 0,0005

DAT= Dias Após o Transplante; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

As plantas de cafeeiro cultivadas no verão apresentaram desdobramento da interação para a concentração de prolina aos 120 e 165 DAT (Tabela 59). Da mesma forma, as plantas que passaram o primeiro ciclo de estresse, embora tenham sido submetidas ao ciclo de recuperação aos 135 DAT não conseguiram se recuperar, isto é, de acordo com o grau de estresse hídrico a concentração de prolina foi cada vez maior (Tabela 58). Assim, entre cultivares, a cv. Obatã apresentou máximo acúmulo de prolina. Diante disso, esse acúmulo é característico em plantas que sofreram algum tipo de estresse físico e conseqüentemente auxilia a proteção celular e ajuste osmótico.

Tabela 58. Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e 135 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)		
Tratamentos	Dias após transplântio (DAT)	
	90	135
C	23,24 a	40,13 c
DHM	23,03 a	65,58 b
DHS	23,09 a	80,42 a
Cultivar (cv)		
Obatã	24,14 a	65,03 a
Catucaí	22,09 b	59,05 b
	Sal = 0,759	Sal = 0,0001
<i>p</i>	cv = 0,0001	cv = 0,0001
	Sal x cv = 0,333	Sal x cv = 0,264

C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Conforme desdobramento da interação para a concentração de prolina, as diferenças significativas foram ocasionadas entre os tratamentos hídricos e entre as cultivares. Inclusive, a dinâmica no acúmulo deste aminoácido acompanhou a severidade do estresse (120 e 165 DAT). Em outras palavras, as plantas dos tratamentos DHM e DHS, consecutivamente obtiveram a máxima concentração de prolina quando comparadas ao controle. Consequentemente, entre cultivares a cv. Catucaí conseguiu os mínimos valores para este parâmetro no transcurso deste ensaio, sugerindo maior tolerância em relação a cv. Obatã.

Tabela 59. Desdobramento da interação para concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120 e 165 DAT (Ensaio de Deficiência Hídrica-Verão).

Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 120 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	31,43 Ca	64,79 Ba	78,05 Aa	L = 0,0001
Catucaí	29,26 Ca	58,06 Bb	69,03 Ab	cv = 0,0001
				L x cv = 0,030
Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 165 DAT				
Cultivar (cv)	Tratamentos			
	C	DHM	DHS	<i>p</i>
Obatã	53,36 Ca	105,19 Ba	147,06 Aa	L = 0,0001
Catucaí	48,36 Cb	97,10 Bb	135,13 Ab	cv = 0,0001
				L x cv = 0,0002

DAT= Dias Após o Transplântio; C= Controle; DHM= Deficiência Hídrica Moderada; DHS= Deficiência Hídrica Severa; L= Lâmina de água. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O aminoácido prolina funciona como osmoprotetor em plantas que passam por um estresse físico y a tendência no acúmulo é aumentar conforme a severidade do estresse seja por falta de água ou por excesso de sais. Neste sentido e de forma similar aos resultados observados nestes estudos, Abid et al. (2016) trabalhando com duas cultivares de *V. faba* submetidas à DH encontraram que o teor de prolina aumentou paralelamente com a severidade do estresse hídrico, sendo apenas a cv. Giza 3 quem tolerou a DHM, já a cultivar Hara foi sensível aos regimes hídricos aplicados (acúmulo do aminoácido).

Resultados diferentes foram encontrados por César et. al. (2010), onde ao diminuir a intensidade luminosa nas plantas de cafeeiro, a concentração deste aminoácido foi diminuída.

Experimento II: Salinidade

Serão apresentados resultados e discussões dos experimentos realizados no inverno e verão, do ensaio relacionado à Salinidade. Serão expostas as variáveis como relações hídricas, biometria, parâmetros de crescimento, biomassa, índices de crescimento, avaliação nutricional (raiz, caule e folha), trocas gasosas, teor de pigmentos, discriminação isotópica do ^{13}C e ^{15}N e análises bioquímicas.

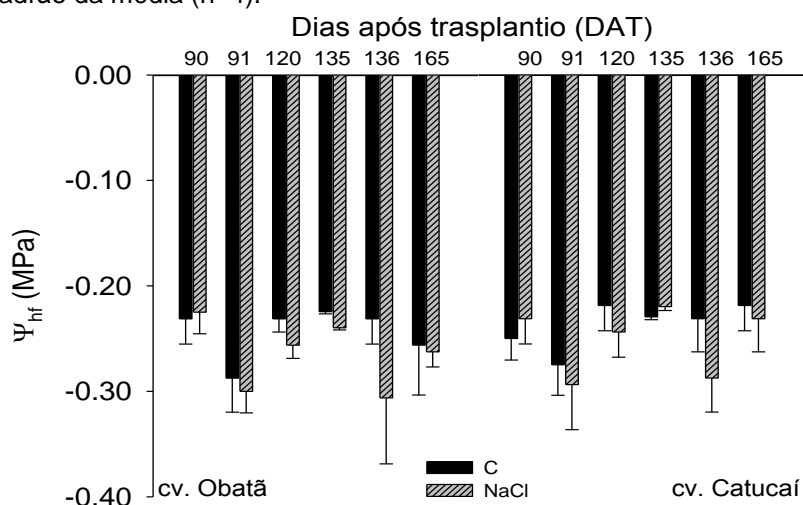
4.4 Relações hídricas

4.4.1 Potencial hídrico foliar

No ensaio de inverno, antes da imposição dos tratamentos as plantas de cafeeiro foram irrigadas com água deionizada (90 DAT) e em seguida submetidas a dois ciclos de salinidade (91-120 e 136-165 DAT), os quais foram intercalados por um ciclo de recuperação (135 DAT). As plantas de ambos os tratamentos (com e sem sais) foram monitoradas com o objetivo de detectar possíveis diferenças no estado hídrico das mesmas (Figura 25). Assim, o potencial hídrico foliar (Ψ_{hf}) apresentou alterações, principalmente nas plantas tratadas com NaCl. Conseqüentemente, antes da diferenciação dos tratamentos e na etapa de recuperação o Ψ_{hf} das plantas foi semelhante. Em contrapartida, valores de potencial hídrico foram mais negativos ao se impor o primeiro (91-120 DAT) e segundo ciclo de salinidade (136-165 DAT). Embora estes valores não possam ser considerados dentro da faixa usual de estresse hídrico, pondera-se que o efeito da salinidade não pode ser assumido como sinérgico ao efeito da deficiência hídrica, isolando-se o efeito osmótico e iônico como causa do impacto fisiológico. Lima et al., (2006) relata que, a salinidade provoca desidratação na planta independentemente do teor de água no solo.

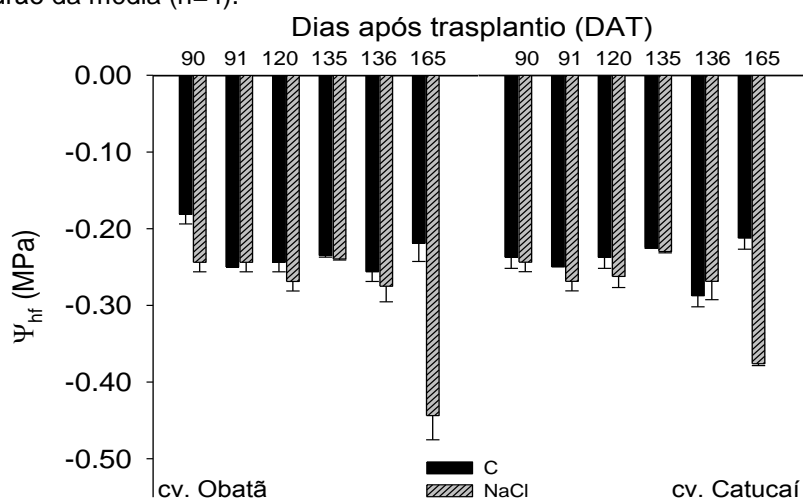
Temóteo (2012), trabalhando com cultivares de café conilon (*Coffea canephora*) sob estresse salino-hídrico encontrou valores entre 0,01 e 0,02 MPa em função da salinidade e estresse hídrico de 25% da necessidade da cultura.

Figura 25. Potencial hídrico foliar (MPa) analisado em *predawn* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 DAT, ao início (91 DAT) e ao final (120 DAT) do ciclo 1 de estresse salino, ao final da etapa de recondicionamento (135 DAT) e ao início (136 DAT) e ao final (165 DAT) do ciclo 2 de estresse salino. (Ensaio de salinidade-Inverno). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



Do mesmo modo, no período de verão as plantas de cafeeiro receberam os mesmos tratamentos culturais e tratamentos estudados no inverno. Também neste ensaio, foram feitas leituras de potencial hídrico antes do amanhecer em plantas de todos os tratamentos com a finalidade de conhecer o estado hídrico das mesmas. Observou-se (Figura 26), que Ψ_{hf} comportou-se de maneira similar entre tratamentos, com exceção das medidas realizadas no segundo ciclo de ES (136-165 DAT). Não obstante, os valores tenham sido bem mais negativos (165 DAT), o potencial hídrico das folhas nessa faixa não pode ser considerado como indicador de deficiência hídrica.

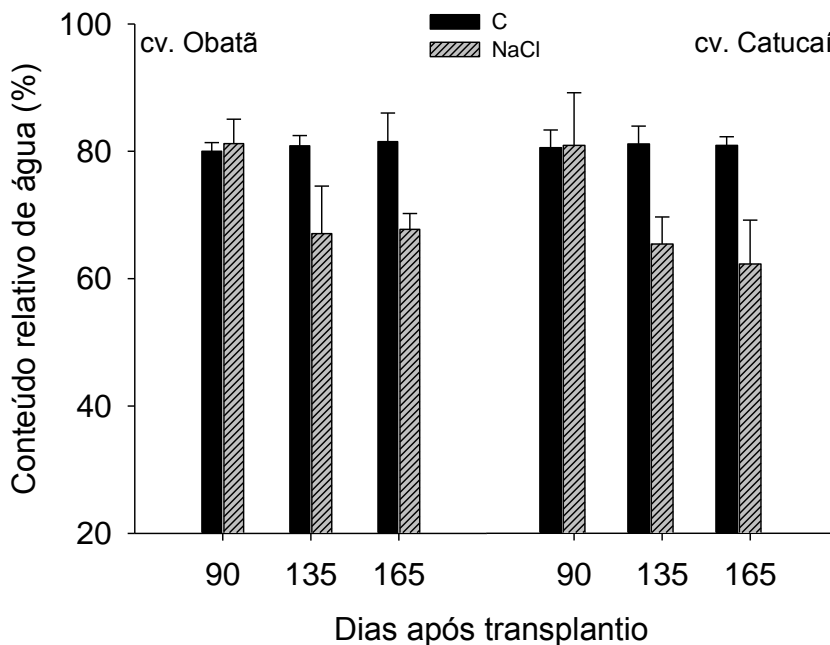
Figura 26. Potencial hídrico foliar (Mpa) analisado em *predawn* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 DAT, ao início (91 DAT) e ao final (120 DAT) do ciclo 1 de estresse salino, ao final da etapa de recondicionamento (135 DAT) e ao início (136 DAT) e ao final (165 DAT) do ciclo 2 de estresse salino. (Ensaio de salinidade-Verão). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



4.4.2 Conteúdo relativo de água (CRA)

O conteúdo relativo de água (CRA) em plantas cultivadas no inverno desde o primeiro ciclo de indução da salinidade com NaCl tendeu a diminuir quando comparado com as plantas controle (Tabela 60). Embora tenha sido aplicado o ciclo de recuperação, esse efeito não foi revertido (Figura 27). Conseqüentemente, com a imposição do ciclo 2 de ES, o CRA permaneceu baixo ao se comparar com as plantas do tratamento controle. Não houve diferenças significativas entre as cultivares.

Figura 27. Conteúdo relativo de água (%) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



De acordo com o desdobramento da interação, o CRA foi alterado pelo tratamento salino apenas nas plantas da cv. Catucaí, as quais obtiveram o conteúdo relativo de água menor comparando-se ao controle (Tabela 60). Sendo que nesse ciclo 1 (120 DAT), a cv. Obatã foi mais eficiente na manutenção do estado hídrico das plantas.

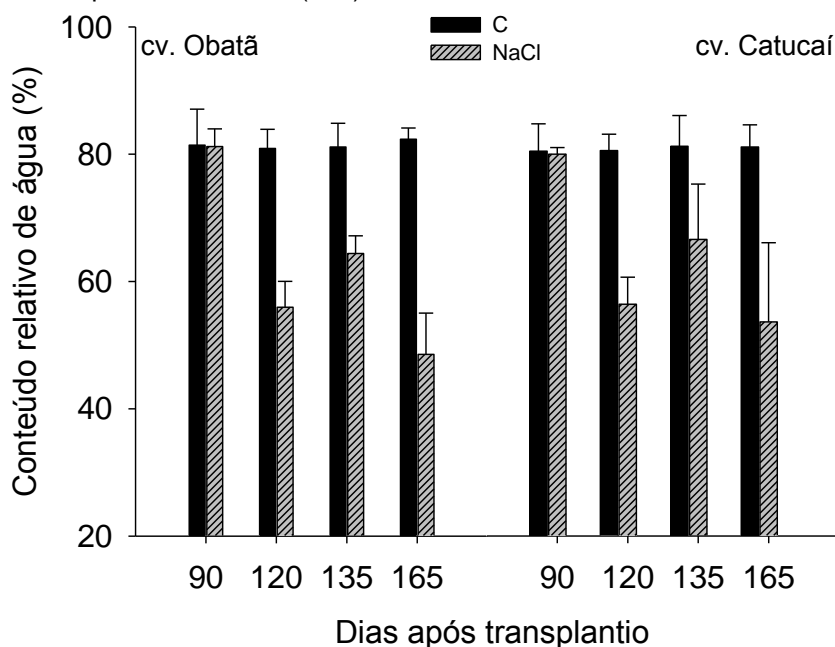
Tabela 60. Desdobramento da interação para conteúdo relativo de água (%) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 120 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Conteúdo relativo de água (%) - 120 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	84,69 Aa	80,81 Aa	Sal = 0,004
Catucaí	81,04 Ab	63,96 Bb	cv = 0,0001
			Sal x cv = 0,0001

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal; Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

O conteúdo relativo de água das plantas de cafeeiro cultivadas no verão, não apresentou diferença significativa no bloco proposto para o tratamento salino aos 90 DAT, mostrando-se valores similares tanto para a cv. Obatã quanto para a cv. Catucaí (Figura 28). É importante ressaltar que o tecido foliar não apresentou alterações referentes ao CRA devido a que nessa etapa ainda não existia diferenciação dos tratamentos. Já quando as plantas foram expostas ao ES, o CRA foi modificado. Logo após da diferenciação dos tratamentos, no primeiro ciclo de estresse (120 DAT) o CRA diminuiu consideravelmente (Figura 28), apresentando os valores mínimos as plantas do tratamento com NaCl quando comparado com o controle. Da mesma forma, no período de recuperação e ciclo 2 de ES o CRA manteve o mesmo comportamento (Figura 28), isto é, apesar do período de recuperação com água deionizada entre os dois ciclos de ES não foi possível reverter a perda de água dos tecidos foliares, em resposta clara a ação dos sais como forma de efeito iônico.

Figura 28. Conteúdo relativo de água (%) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



Esses resultados para ambos os ensaios são similares aos reportados por Karasawa et al. (2003) ao estudarem mudas de cafeeiro arábica cv. Acaia sob condições de salinidade (0,3, 0,9, 1,2 e 1,5 dS m⁻¹) registraram uma redução gradativa no CRA conforme o aumento da concentração salina e permanência do estresse, ressalta-se que a menor turgescência foliar ocorreu nas plantas do

tratamento com 1.5 dS m^{-1} . Freitas, (2006) trabalhando com feijão caupi cv. Pérola e Pitiúba submetidas à salinidade (100 mM NaCl) constatou redução em 25% do CRA em plantas salinizadas quando comparadas ao controle, obtendo diminuição da turgescência similarmente para ambas as cultivares.

4.4.3 Perda de eletrólitos

Estas medidas foram realizadas para monitorar possível efeito da salinidade sobre a integridade de membranas, com escape ou perda de eletrólitos (PE). As plantas de cafeeiro cultivadas no inverno não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos para PE, com exceção das plantas da cv. Catucaí, no primeiro ciclo de ES (desdobramento, Tabela 62). Similarmente, entre as cultivares não foram evidentes alterações significativas para este parâmetro avaliado (Tabela 61). Houve desdobramento da interação para o ciclo 1 de ES (Tabela 62).

Tabela 61. Perda de eletrólitos (% C.E. total) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Perda de eletrólitos (% C.E. total)			
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	135	165
Controle	51,80 a	28,10 a	43,45 a
NaCl	46,15 a	33,79 a	39,86 a
Cultivar (cv)			
Obatã	53,09 a	31,84 a	44,96 a
Catucaí	44,86 a	30,05 a	38,35 a
	Sal = 0,117	Sal = 0,313	Sal = 0,505
<i>p</i>	cv = 0,089	cv = 0,629	cv = 0,153
	Sal x cv = 0,349	Sal x cv = 0,773	Sal x cv = 0,115

C.E.= Condutividade elétrica; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

Os dados da interação para PE mostram diferenças significativas entre tratamentos, somente nas plantas da cv. Catucaí (Tabela 62). Surpreendentemente, as plantas do controle (Controle) manifestaram uma queda na condutividade elétrica total (120 DAT). Entre cultivares, as plantas da Catucaí do tratamento salino apresentaram o máximo valor da C.E total.

Tabela 62. Desdobramento da interação para perda de eletrólitos (% C.E. total) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 120 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Perda de eletrólitos (% C.E. total) - 120 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	41,69 Aa	35,98 Ab	Sal = 0,051
Catucaí	27,49 Bb	49,53 Aa	cv = 0,932
			Sal x cv = 0,009

C.E.= Condutividade elétrica; DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal; Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No verão, PE apresentou desdobramento da interação (Tabela 64) aos 120 DAT (ciclo 1 ES). Na etapa de recuperação, houve diferença significativa entre tratamentos, elevando-se a C.E total nas plantas tratadas com sais (Tabela 63). Já no segundo ciclo de ES não foram evidenciadas diferenças significativas. Aparentemente, entre os tratamentos salinos, houve apenas diferenças numéricas, sendo que entre as cultivares não houve diferenças estatísticas significativas.

Tabela 63. Perda de eletrólitos (% C.E. total) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Perda de eletrólitos (% C.E. total)			
Tratamentos	Dias após o trasplântio (DAT)		
	90	135	165
Controle	16,38 a	17,95 b	23,70 a
NaCl	16,35 a	33,74 a	40,40 a
Cultivar (cv)			
Obatã	17,39 a	27,34 a	32,91 a
Catucaí	15,34 a	24,36 a	31,20 a
	Sal = 0,981	Sal = 0,026	Sal = 0,055
<i>p</i>	cv = 0,430	cv = 0,274	cv = 0,631
	Sal x cv = 0,912	Sal x cv = 0,528	Sal x cv = 0,100

C.E.= Condutividade elétrica; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Conforme os dados do desdobramento da interação para PE (Tabela 64), embora não haja diferenças estatísticas significativas, as plantas do tratamento salino numericamente apresentaram os maiores valores, tanto para a cv. Obatã quanto para Catucaí. Entre as cultivares, apenas no tratamento controle houve diferenças significativas, sendo as plantas da cv. Catucaí as mais afetadas pelo sal.

Tabela 64. Desdobramento da interação para perda de eletrólitos (% C.E. total) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 120 DAT (Ensaio de salinidade-Verão).

Perda de eletrólitos (% C.E. total) - 120 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	17,83 Bb	30,78 Aa	Sal = 0,028
Catucaí	23,85 Aa	28,14 Aa	cv = 0,269
			Sal x cv = 0,020

C.E.= Condutividade elétrica; DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

A C.E. é uma estimativa indireta que permite avaliar a PE, provocada principalmente por efeito do sal, ocasionando possíveis danos à permeabilidade da membrana (BLUM e EBERCON, 1981).

Resultados diferentes aos constatados nestes ensaios (inverno e verão) foram reportados por Da Silva et al. (2017), os quais trabalharam com plantas de *Moringa oleifera* sob quatro níveis de salinidade com NaCl (0, 40, 80 e 120 mM) e verificaram que aos 15 dias após o início dos tratamentos (DAIT) o acréscimo da PE ocorreu apenas nas plantas do tratamento com 120 mM, assim como aumentos consideráveis por efeito do tempo de exposição (30 DAIT) em todos os níveis salinos.

Sabe-se que o sódio (Na^+) é o íon que ocasiona graves danos na membrana plasmática quando concentrado em níveis elevados e pode provocar alterações na seletividade da mesma (PACHECO et al., 2013). Aparentemente, conforme os resultados reportados em outras culturas crescendo em ambientes salinos, as plantas de cafeeiro a pesar de lidar com dois ciclos de estresse durante 60 dias, não apresentaram danos prejudiciais para o desenvolvimento vegetativo. Neste sentido, os resultados obtidos serão úteis como recomendações a curto e mediano prazo para a utilização destas cultivares em áreas salinizadas.

4.5 Variáveis do solo

4.5.1 Extração de solução do solo

Condutividade elétrica

A condutividade elétrica (C.E.) da solução foi medida com condutivímetro portátil (Modelo AK51, AKSO Produtos eletrônicos, LTDA). As medidas apresentadas nas Figuras 29 e 31 indicam claramente que a C.E. da solução do solo acompanhou a cinética proposta para os tratamentos, onde os picos de C.E. medidos aos 120 e 165 DAT correspondem aos tratamentos salinos do primeiro e segundo ciclos de salinidade, respectivamente. Ressalta-se que nesses pontos, a salinidade alcançou a concentração de 360 mM de NaCl aplicados de forma parcelada, via água de irrigação. Igualmente, está indicada nessas Figuras, a fase citada como de recuperação, aos 135 DAT, quando todas as plantas passaram a ser irrigadas com água destilada. Comparando-se as duas Figuras da C.E. medida no inverno e verão (Figuras 29 e 31) observa-se que a salinização do solo no inverno alcançou condutividades ligeiramente menores (cerca de 10 dS m⁻¹), quando comparado as mesmas medidas no experimento de verão, as quais atingiram valores próximos a 12 dS m⁻¹). Provavelmente esta diferença se deu pela maior taxa de evapotranspiração ocorrida no ensaio de verão, devido ao aumento da temperatura ambiente e aumento da transpiração das plantas, o que pode ter contribuído para a maior concentração salina na solução do solo.

pH da solução do solo

O pH foi mensurado com potenciômetro de bancada (Modelo MA 522, Marconi, LTDA). Essas medidas, registradas ao longo dos dois ensaios, apresentou apenas pequenas variações em torno de valores próximos a pH 6,0 (Figuras 30 e 32). Desta forma, isolou-se o efeito salino apenas ao sal acrescentado via irrigação, já que o pH da solução permaneceu estável para todos os tratamentos e estações climáticas.

Figura 29. Condutividade elétrica (C.E.) da solução do solo medida antes da imposição dos tratamentos (85 DAT), ao início (90 DAT) e ao final (120 DAT) do ciclo 1 de salinidade, ao final (135 DAT) do condicionamento, ao início (136 DAT) e ao final (165 DAT) do ciclo 2 de salinidade para o ensaio de inverno.

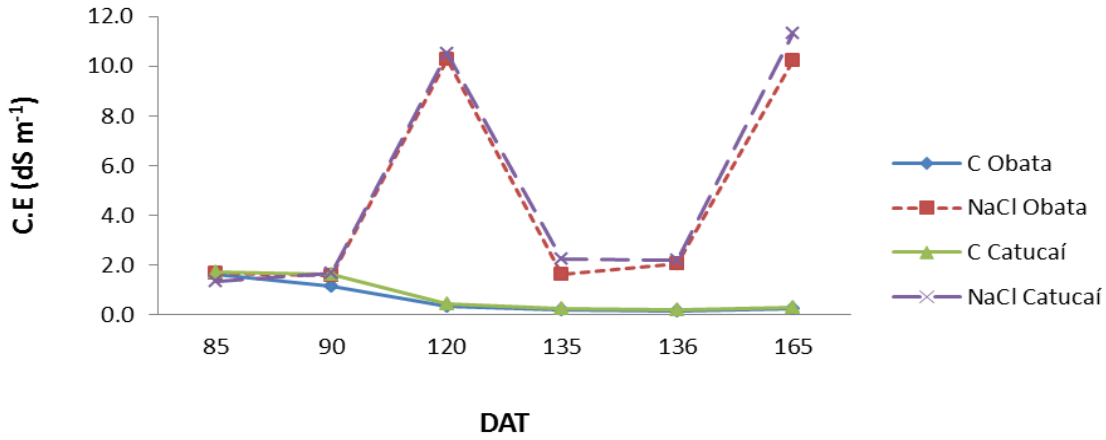


Figura 30. Monitoramento do pH da solução do solo medido antes da imposição dos tratamentos (85 DAT), ao início (90 DAT) e ao final (120 DAT) do ciclo 1 de salinidade, ao final (135 DAT) do condicionamento, ao início (136 DAT) e ao final (165 DAT) do ciclo 2 de salinidade para o ensaio de inverno.

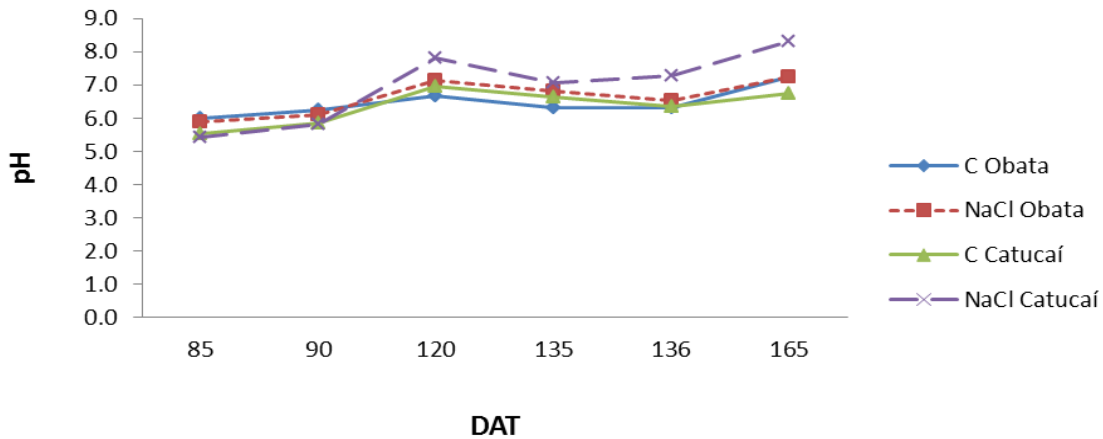


Figura 31. Condutividade elétrica (C.E.) da solução do solo medida antes da imposição dos tratamentos (85 DAT), ao início (90 DAT) e ao final (120 DAT) do ciclo 1 de salinidade, ao final (135 DAT) do condicionamento, ao início (136 DAT) e ao final (165 DAT) do ciclo 2 de salinidade para o ensaio de verão.

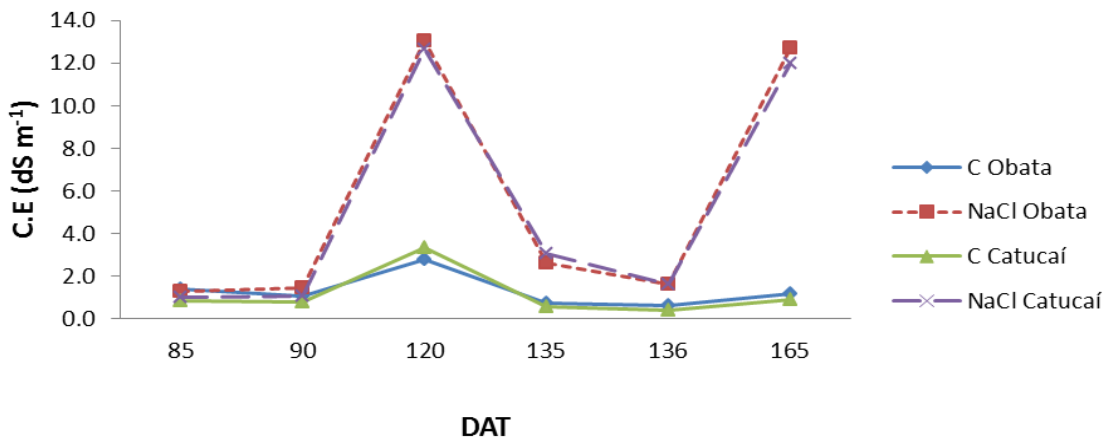
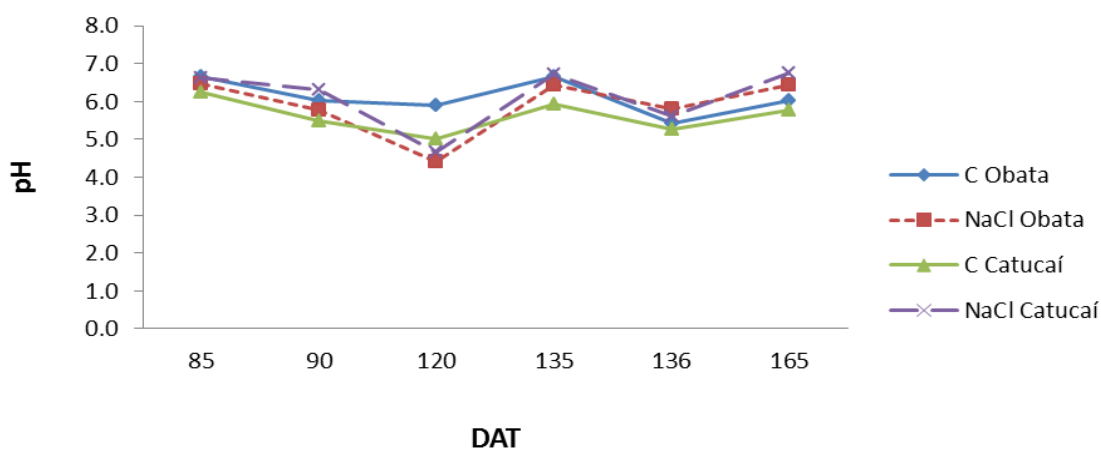


Figura 32. Monitoramento do pH da solução do solo medido antes da imposição dos tratamentos (85 DAT), ao início (90 DAT) e ao final (120 DAT) do ciclo 1 de salinidade, ao final (135 DAT) do recondicionamento, ao início (136 DAT) e ao final (165 DAT) do ciclo 2 de salinidade para o ensaio de verão.



4.6 Biometria

4.6.1 Parâmetros de crescimento

4.6.1.1 Diâmetro de caule

O DC das plantas crescidas no inverno não alterou devido ao ciclo 1 de ES. No entanto, no segundo ciclo de indução da salinidade, o caule das plantas apresentou considerável retração quando comparado ao das plantas controle (Tabela 65). Já entre as cultivares, não houve diferenças estatísticas para este parâmetro.

Tabela 65. Diâmetro de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Tratamentos	Diâmetro de Caule (mm)			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	6,21 a	6,38 a	6,19 a	9,39 a
NaCl	5,91 b	6,26 a	6,57 a	7,96 b
Cultivar (cv)				
Obatã	6,13 a	6,32 a	6,48 a	8,95 a
Catucaí	5,99 a	6,32 a	6,28 a	8,40 a
p	Sal = 0,003 cv = 0,515 Salxcv=0,894	Sal = 0,672 cv = 0,974 Salxcv=0,283	Sal = 0,230 cv = 0,421 Salxcv=0,967	Sal = 0,003 cv = 0,051 Salxcv=0,091

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

Similarmente ao observado no inverno, o DC das plantas de cafeeiro cultivadas no verão (Tabela 66) não sofreu efeito algum pela salinidade no ciclo 1. Especialmente, com a imposição do segundo ciclo de ES, o DC de plantas tratadas com NaCl registrou uma contração sendo as plantas do tratamento controle as que tiveram a máxima expansão do caule. As diferenças entre cultivares foram evidentes nos ciclos de recuperação e ciclo 2 do ES, mostrando-se menos afetada a cv. Obatã.

Tabela 66. Diâmetro de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Tratamentos	Diâmetro de Caule (mm)			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	5,17 a	6,62 a	6,35 a	7,84 a
NaCl	5,45 a	6,30 a	6,05 a	6,11 b
Cultivar (cv)				
Obatã	5,41 a	6,66 a	6,60 a	7,27 a
Catucaí	5,21 a	6,25 a	5,80 b	6,68 b
	Sal = 0,233	Sal = 0,130	Sal = 0,255	Sal = 0,001
<i>p</i>	cv = 0,376	cv = 0,063	cv = 0,005	cv = 0,016
	Salxcv=0,297	Salxcv=0,603	Salxcv= 0,209	Salxcv=0,190

NaCl= Sal; Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Similarmente aos resultados observados nestes estudos, Lopes et al. (2007) trabalhando com mudas de *Caesalpinia pyramidalis* notaram que quando a condutividade elétrica (C.E) atingiu 2 dS.m^{-1} os parâmetros biométricos (número de folhas, diâmetro de caule, altura de planta) se desenvolveram rapidamente. Por outro lado, resultados diferentes aos constatados nestes ensaios foram encontrados em plantas de cafeeiro cv. Catucaí submetidas à salinidade onde observaram desde a primeira avaliação (57 DAE) que o diâmetro de caule diminuiu a expansão, apresentando uma redução gradual conforme a magnitude da salinização (FIGUÊIREDO et al., 2006).

4.6.1.2 Altura de plantas

A altura de plantas de cafeeiro cultivadas no inverno e submetidas à salinidade apresentaram diferenças significativas ao se aplicar o primeiro ciclo de ES (Tabela 67), com menor altura quando comparadas às plantas controle (120 DAT). Na recuperação (irrigação com água deionizada), as plantas salinizadas reativaram taxas de crescimento as quais foram similares às plantas do tratamento controle. Por

ocasião das medidas do ciclo 2, esta recuperação no crescimento parece ter se mantido, já que os resultados observados não apresentaram diferenças significativas entre as plantas.

Tabela 67. Altura de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Altura de plantas (cm)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	42,62 a	49,81 a	52,93 a	52,50 a
NaCl	41,31 a	46,56 b	52,18 a	50,12 a
Cultivar (cv)				
Obatã	42,62 a	48,37 a	52,62 a	51,62 a
Catucaí	41,31 a	48,00 a	52,50 a	51,00 a
	Sal = 0,289	Sal = 0,008	Sal = 0,590	Sal = 0,209
<i>p</i>	cv = 0,182	cv = 0,705	cv = 0,909	cv = 0,477
	Salxcv=0,268	Salxcv=0,330	Salxcv=0,379	Salxcv=0,147

NaCl= Sal; Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No verão, a altura de plantas de cafeeiro sofreu alterações tanto no primeiro quanto no segundo ciclo de salinidade (Tabelas 68 e 69). Conforme esperado, nas plantas do tratamento com NaCl foi registrada a menor altura quando comparadas às do tratamento controle (120 DAT) e recuperando-se com a imposição da etapa de recuperação (135 DAT). Não houve diferença significativa entre as cultivares.

Tabela 68. Altura de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Altura de planta (cm)			
Tratamentos	Dias após o trasplântio (DAT)		
	90	120	135
Controle	38,12 a	48,37 a	52,12 a
NaCl	37,25 a	44,12 b	49,43 a
Cultivar (cv)			
Obatã	38,37 a	46,75 a	51,75 a
Catucaí	37,00 a	45,75 a	49,81 a
	Sal = 0,367	Sal = 0,024	Sal = 0,231
<i>p</i>	cv = 0,303	cv = 0,477	cv = 0,391
	Salxcv=0,921	Salxcv=0,590	Salxcv=0,452

NaCl= Sal; Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os dados do desdobramento da interação para AP mostram evidentemente uma diminuição marcante como consequência da salinidade (Tabela 69). No entanto, entre as cultivares houve diferenças inesperadas no tratamento controle,

sendo as plantas da cv. Obatã significativamente maiores em altura quando comparadas com a Catucaí.

Tabela 69. Desdobramento da interação para altura de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Altura de planta (cm) - 165 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	59,62 Aa	50,50 Ba	Sal = 0,0006
Catucaí	56,50 Ab	51,12 Ba	cv = 0,145
			Sal x cv = 0,046

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Conforme esses resultados, os efeitos negativos pelo sal evidentemente acarretam redução no desenvolvimento das plantas. De acordo com os efeitos verificados tanto no inverno quanto no verão e de maneira similar, Karasawa et al., (2003) ao trabalharem com mudas de *Coffea arábica* e irrigadas com água salina, constataram que as plantas tratadas com 0.3 e 0.9 dS.m⁻¹ sofreram pequenas alterações para a variável altura de plantas (AP), já o tratamento com 1.5 dS.m⁻¹ ocasionou a maior redução da AP.

Resultados semelhantes foram reportados por Simões et al., (2016) avaliando os efeitos da salinidade em 10 cultivares (cv's) de cana de açúcar, havendo diferenças entre as cv's e reduzindo-se até 37.2% a altura das plantas tratadas com a maior concentração (8.0 dS.m⁻¹) de sais quando comparadas às do tratamento controle.

4.6.1.3 Número de folhas por planta

Conforme os resultados (Tabela 70), o número de folhas em plantas de cafeeiro cultivadas no inverno não foi alterado em função da salinidade. Embora tenham sido aplicados dois ciclos de ES, este parâmetro teve um comportamento inalterado no decorrer do ensaio. Unicamente, entre cultivares houve diferenças significativas ao se impor o segundo ciclo de salinidade (165 DAT), sendo a cv. Obatã a melhor adaptada à concentração salina.

Tabela 70. Numero de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Numero de folhas / planta⁻¹				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	20 a	30 a	34 a	38 a
NaCl	20 a	27 a	33 a	37 a
Cultivar (cv)				
Obatã	20 a	29 a	35 a	42 a
Catucaí	19 a	28 a	32 a	32 b
<i>p</i>	Sal = 0,637 cv = 0,207 Salxcv=,,,	Sal = 0,299 cv = 0,758 Salxcv=0,245	Sal = 0,493 cv = 0,317 Salxcv=0,669	Sal = 0,772 cv = 0,006 Salxcv=0,103

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

De maneira similar ao acontecido no inverno, o número de folhas (NF) em plantas de feeiro crescidas no verão também não foi alterado quando efetivados ambos os ciclos de ES (Tabela 71). O número de folhas aumentou paralelamente com o tempo, porém o NF entre as plantas dos tratamentos controle e salinidade não diferiram entre si. Semelhantemente, não se encontraram diferenças estatísticas significativas entre as cultivares.

Tabela 71. Numero de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Numero de folhas / planta⁻¹				
Tratamentos	Dias após o trasplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	16 a	23 a	32 a	43 a
NaCl	15 a	21 a	29 a	33 a
Cultivar (cv)				
Obatã	16 a	23 a	31 a	40 a
Catucaí	15 a	21 a	31 a	37 a
<i>p</i>	Sal = 0,808 cv = 0,549 Salxcv=0,549	Sal = 0,659 cv = 0,231 Salxcv=0,137	Sal = 0,361 cv = Salxcv=0,544	Sal = 0,063 cv = 0,468 Salxcv=0,231

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

De maneira semelhante aos resultados destes ensaios, Andréo-Souza et al. (2010) avaliando os efeitos da salinidade no crescimento inicial de mudas de *Jatropha curcas* verificaram que o número de folhas e a biomassa das mesmas não sofreram alterações apesar dos níveis de salinidade aplicados, ou seja, o desenvolvimento ocorreu de forma normal. Este comportamento também foi reportado em plantas de cana de açúcar, as quais foram submetidas à salinidade e

que, apesar do acréscimo nas concentrações do sal o número de folhas praticamente foi inalterado (SIMÕES et al., 2016).

Já em outros trabalhos realizados, o número de folhas tem sido reduzido, por exemplo, em *Phaseolus acutifolius* L., *Vigna unguiculata*, *Phaseolus filiformis* L. (RAUL et al., 2003) e *Cicer arietinum* L. (KAREN et al., 2002).

4.6.1.4 Área foliar total

No inverno, plantas de cafeeiro apresentaram menor AF total devido ao tratamento salino já no primeiro ciclo de estresse (Tabela 72). Entre cultivares não houve diferenças significativas tanto para os 90 DAT quanto para os 120 DAT (primeiro ciclo de ES). Houve desdobramento da interação aos 135 e 165 DAT (Tabela 73).

Tabela 72. Área foliar total de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Tratamentos	Área foliar total (cm ² planta ⁻¹)	
	Dias após o transplântio (DAT)	
	90	120
Controle	574,93 a	976,81 a
NaCl	549,00 a	752,88 b
Cultivar (cv)		
Obatã	569,47 a	918,24 a
Catucaí	554,46 a	811,46 a
	Sal = 0,441	Sal = 0,017
<i>p</i>	cv = 0,569	cv = 0,206
	Sal x cv = 0,860	Sal x cv = 0,511

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Através da análise do desdobramento para AFT (Tabela 73), registrou-se diferença significativa somente entre cultivares (135 DAT), apresentando o máximo valor de AFT a cv. Obatã em plantas do tratamento salino. Assim, a fase de recuperação cumpriu o objetivo de readaptar as plantas salinizadas. Entretanto, por ocasião do segundo ciclo de ES, detectou-se que este padrão só foi mantido pela cv. Obatã. Por outro lado, a cv. Catucaí sofreu efeito do sal, com diminuição significativa da AFT. Assim, as cultivares diferiram entre si aos 135 DAT, expondo valores inferiores as plantas da Catucaí. Inesperadamente, as plantas da cv. Obatã no tratamento controle apresentaram os valores mínimos de AFT (165 DAT).

Tabela 73. Desdobramento da interação para área foliar total em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Área foliar total (cm² planta⁻¹) - 135 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	1082,42 Aa	1102,67 Aa	Sal = 0,393
Catucaí	1134,59 Aa	971,30 Ab	cv = 0,283
			Sal x cv = 0,034
Área foliar total (cm² planta⁻¹) - 165 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	1141,23 Ab	1096,47 Aa	Sal = 0,067
Catucaí	1337,29 Aa	1032,06 Ba	cv = 0,231
			Sal x cv = 0,038

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No cultivo de verão, o primeiro ciclo de salinidade não alterou AFT (Tabela 74), assim como não houve diferenças na recuperação (135 DAT). No segundo ciclo, a salinidade alterou drasticamente AFT sendo que este efeito foi notado igualmente entre as cultivares.

Tabela 74. Área foliar total de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Área foliar total (cm² planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o trasplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	412,66 a	730,44 a	1058,66 a	1559,29 a
NaCl	371,36 a	640,11 a	912,27 a	1027,52 b
Cultivar (cv)				
Obatã	410,27 a	691,50 a	1006,60 a	1367,57 a
Catucaí	373,76 a	679,04 a	964,32 a	1219,24 a
	Sal = 0,102	Sal = 0,339	Sal = 0,268	Sal = 0,014
<i>p</i>	cv = 0,164	cv = 0,836	cv = 0,602	cv = 0,381
	Salxcv=0,556	Salxcv=0,652	Salxcv=0,121	Salxcv=0,553

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Figueirêdo et al. (2006) avaliando plantas de cafeeiro (*Coffea arábica* L.) na etapa de crescimento inicial e tratadas com água salina (NaCl), observaram uma diminuição da área foliar (AF) a partir de 1.2 dS.m⁻¹, sendo reduzida paralelamente com o aumento da salinidade (1.8, 2.4, 3.0 dS.m⁻¹).

Tendências similares foram verificadas em plantas de *Vicia faba* ao serem irrigadas com diferentes concentrações de NaCl (0, 60, 120 e 240 mM), sendo as plantas dos tratamentos 120 e 240 mM que apresentaram diminuição da AF em

função da concentração salina quando comparados com os tratamentos controle e 60 mM (ABDUL QADOS, 2010). Esse comportamento na diminuição da AF causado pelo aumento na concentração de sais tem sido constatado em outras espécies de leguminosas, por exemplo, em *Vigna aconitifolia* (MATHUR et al., 2006).

4.6.2 Biomassa

4.6.2.1 Matéria fresca e matéria seca de folhas

A MFF em plantas de cafeeiro cultivadas no inverno sofreu modificações significativas devido ao primeiro ciclo de ES (Tabela 75), apresentando diminuição considerável nas plantas salinizadas (120 DAT). Este efeito, aparentemente foi revertido ao se aplicar o ciclo de recuperação durante 15 dias, mantendo valores similares às plantas do controle. Entre as cultivares, houve alteração significativa aos 135 DAT, apresentando a máxima MFF na cv. Obatã. Também se verificou desdobramento da interação aos 165 DAT (Tabela 99).

Tabela 75. Massa fresca de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120 e 135 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Tratamentos	Massa fresca de folhas (g planta ⁻¹)		
	Dias após o transplântio (DAT)		
	90	120	135
Controle	15,28 a	25,34 a	28,06 a
NaCl	14,38 a	20,05 b	25,99 a
Cultivar (cv)			
Obatã	14,87 a	24,05 a	28,32 a
Catucaí	14,79 a	21,34 a	25,73 b
<i>p</i>	Sal = 0,412	Sal = 0,019	Sal = 0,334
	cv = 0,913	cv = 0,211	cv = 0,019
	Sal x cv = 0,540	Sal x cv = 0,484	Sal x cv = 0,126

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

De acordo com os dados da interação (Tabela 76), a MFF no cafeeiro foi afetada pelo tratamento salino no segundo ciclo de salinidade (165 DAT), obtendo o valor mínimo as plantas da cv. Catucaí quando comparadas ao controle. No referente às cultivares, não houve diferenças estatísticas significativas entre estas.

Tabela 76. Desdobramento da interação para massa fresca de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Massa fresca de folhas (g planta⁻¹) - 165 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	26,68 Aa	26,23 Aa	Sal = 0,138
Catucaí	30,06 Aa	23,19 Ba	cv = 0,895
			Sal x cv = 0,041

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Em relação à matéria seca de folhas (MSF) houve efeito da salinidade. No ciclo 1, as plantas que receberam a solução com NaCl diminuíram significativamente a MSF quando comparadas às plantas controle (Tabela 77). No ciclo de recuperação, as plantas afetadas conseguiram se readaptar, alcançando valores homólogos ao das plantas controle. No segundo ciclo de ES o efeito do sal foi evidenciado, apresentando novamente redução da MSF nas plantas do tratamento salino. Já entre cultivares, o comportamento foi similar e não houve diferenças significativas para esta variável.

Tabela 77. Massa seca de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Massa seca de folhas (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	4,84 a	7,35 a	8,47 a	10,02 a
NaCl	4,61 a	6,12 b	7,89 a	8,46 b
Cultivar (cv)				
Obatã	4,82 a	6,95 a	8,42 a	9,53 a
Catucaí	4,63 a	6,52 a	7,94 a	8,94 a
<i>p</i>	Sal = 0,333	Sal = 0,034	Sal = 0,292	Sal = 0,039
	cv = 0,316	cv = 0,419	cv = 0,117	cv = 0,218
Salxcv=0,411 Salxcv=0,600 Salxcv=0,087 Salxcv=0,282				

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No ensaio de verão, as plantas de cafeeiro produziram biomassa foliar de maneira semelhante e independentemente da imposição do primeiro estresse salino (120 DAT). Houve diferença entre tratamentos ao se impor o segundo ciclo de ES, com diminuição significativa da MFF nas plantas salinizadas (Tabela 78). Para a MSF (Tabela 101), o comportamento foi idêntico, sendo as plantas que passaram por um segundo ciclo de salinidade as que mostraram os menores valores para este parâmetro. Assim, entre as cultivares não houve diferenças significativas.

Tabela 78. Massa fresca e seca de folhas em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Massa fresca de folha (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	9,13 a	16,85 a	24,61 a	33,78 a
NaCl	8,05 a	14,37 a	21,12 a	21,92 b
Cultivar (cv)				
Obatã	9,03 a	15,79 a	23,93 a	29,08 a
Catucaí	8,15 a	15,43 a	21,80 a	26,62 a
<i>p</i>	Sal = 0,108	Sal = 0,288	Sal = 0,284	Sal = 0,018
	cv = 0,147	cv = 0,812	cv = 0,255	cv = 0,519
	Salxcv=0,610	Salxcv=0,638	Salxcv=0,109	Salxcv=0,841
Massa seca de folha (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	2,73 a	4,86 a	7,87 a	12,62 a
NaCl	2,45 a	4,04 a	6,26 a	6,91 b
Cultivar (cv)				
Obatã	2,79 a	4,53 a	7,31 a	10,23 a
Catucaí	2,38 a	4,37 a	6,82 a	9,30 a
<i>p</i>	Sal = 0,178	Sal = 0,286	Sal = 0,109	Sal = 0,005
	cv = 0,082	cv = 0,680	cv = 0,337	cv = 0,478
	Salxcv=0,548	Salxcv=0,573	Salxcv=0,119	Salxcv=0,906

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Conforme resultados obtidos nestes ensaios (inverno e verão), a massa fresca e seca em plantas de cafeeiro submetidas à salinidade tiveram um comportamento similar ao observado por Giuffrida et al. (2014), ao trabalharem com plantas de pimenta submetidas a salinidade induzida com NaCl e salinidade por nutrientes, descobriram que até os 77 DAT houve efeitos negativos na biomassa da parte aérea e no final do ensaio (104 DAT) os efeitos pelo NaCl foram ainda mais evidentes.

A diminuição na massa fresca da parte aérea em mudas que passam por períodos de estresse salino tem sido comprovada, por exemplo, em batata (RAHNAMA e EBRAHIMZADEH., 2005) e cafeeiro (GIUFFRIDA et al., 2014). Esses efeitos negativos na biomassa das plantas podem se manifestar de formas diferentes, principalmente quando se avaliam cultivares tolerantes à salinidade.

4.6.2.2 Matéria fresca e matéria seca de caule

No inverno a MFC sofreu modificações significativas no ciclo 1 (120 DAT), sendo o tratamento salino o que apresentou a mínima MFC das plantas (Tabela 79), efeito causado pela indução da salinidade. Para este parâmetro não houve diferenças significativas entre as cultivares. Curiosamente, a MSC foi modificada apenas no segundo ciclo de salinidade (165 DAT). Entre as cultivares o efeito salino foi nulo, apresentando valores similares de MFC entre ambas.

Tabela 79. Massa fresca e seca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Massa fresca de caule (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	6,87 a	10,37 a	11,62 a	14,71 a
NaCl	6,04 a	8,65 b	12,00 a	12,58 a
Cultivar (cv)				
Obatã	6,82 a	9,62 a	12,50 a	14,38 a
Catucaí	6,10 a	9,41 a	11,12 a	12,91 a
<i>p</i>	Sal = 0,098 cv = 0,081 Salxcv=0,878	Sal = 0,049 cv = 0,841 Salxcv=0,538	Sal = 0,793 cv = 0,104 Salxcv=0,620	Sal = 0,215 cv = 0,411 Salxcv=0,352
Massa seca de caule (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	2,73 a	3,59 a	4,19 a	7,17 a
NaCl	2,37 a	3,22 a	4,47 a	5,46 b
Cultivar (cv)				
Obatã	2,81 a	3,60 a	4,69 a	6,39 a
Catucaí	2,29 b	3,21 a	3,97 a	6,25 a
<i>p</i>	Sal = 0,146 cv = 0,001 Salxcv=0,889	Sal = 0,242 cv = 0,331 Salxcv=0,817	Sal = 0,432 cv = 0,063 Salxcv=0,513	Sal = 0,007 cv = 0,596 Salxcv=0,608

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os efeitos causados pela indução da salinidade em plantas de cafeeiro no verão foram demonstrados ao se efetuar o segundo ciclo de ES (Tabela 80), já que a MFC apresentou uma queda significativa quando comparada ao controle. Neste período, não foram encontradas diferenças significativas entre as cultivares.

Tabela 80. Massa fresca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Massa fresca de caule (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	3,60 a	7,77 a	11,47 a	19,55 a
NaCl	3,26 a	7,38 a	10,47 a	11,79 b
Cultivar (cv)				
Obatã	3,72 a	7,95 a	11,96 a	16,81 a
Catucaí	3,13 b	7,21 a	9,98 a	14,52 a
<i>p</i>	Sal = 0,282	Sal = 0,593	Sal = 0,544	Sal = 0,042
	cv = 0,038	cv = 0,398	cv = 0,075	cv = 0,191
	Salxcv=0,188	Salxcv=0,465	Salxcv=0,212	Salxcv=0,949

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Conforme desdobramento da interação (Tabela 81), a MSC aos 90 DAT apresentou diferenças apenas entre cultivares, embora neste período ainda não havia se iniciado o tratamento salino, sendo esta diferença atribuída aos materiais genéticos utilizados.

Tabela 81. Desdobramento da interação para massa seca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Massa seca de caule (g planta⁻¹) - 90 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	Bloco NaCl	
Obatã	1,36 Aa	1,55 Aa	Sal = 0,808
Catucaí	1,32 Aa	1,07 Ab	cv = 0,030
			Sal x cv = 0,048

DAT= Dias Após o Transplante; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Similar ao observado no inverno, MSC das plantas cultivadas no verão foi modificada apenas no segundo ciclo do estresse salino (Tabela 82). Neste ciclo houve diminuição da MS, para as plantas do tratamento salino. Entre cultivares, houve diferenças significativas aos 135 DAT, mostrando a maior MSC a cv. Obatã.

Tabela 82. Massa seca de caule em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Tratamentos	Massa seca de caule (g planta ⁻¹)		
	Dias após o trasplante (DAT)		
	120	135	165
Controle	3,01 a	4,08 a	7,85 a
NaCl	2,58 a	3,66 a	4,55 b
Cultivar (cv)			
Obatã	2,98 a	4,32 a	6,66 a
Catucaí	2,62 a	3,42 b	5,74 a
	Sal = 0,328	Sal = 0,461	Sal = 0,032
<i>p</i>	cv = 0,236	cv = 0,016	cv = 0,223
	Sal x cv = 0,610	Sal x cv = 0,270	Sal x cv = 0,565

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4.6.2.3 Matéria fresca e matéria seca de raízes

No experimento de inverno, a massa fresca de raiz (MFR) em plantas de cafeeiro submetidas à salinidade não foi modificada ao se impor o primeiro ciclo de estresse salino (120 DAT). Da mesma forma na recuperação (135 DAT) manteve-se intacta a massa das raízes. Observa-se, que no segundo ciclo de estresse salino (ES), a MFR apresentou diminuição por efeito da salinidade. Entre cultivares, apenas aos 90 e 120 DAT a cv. Catucaí foi inferior em relação à cv. Obatã para o parâmetro MFR (Tabela 83). A massa seca de raiz (MSR) no inverno, também não diferiu ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos, com exceção do segundo ciclo de salinidade. Similarmente, como observado na MFR, a cv. Catucaí foi inferior em relação ao parâmetro MSR, quando comparado com a CV. Obatã (90 e 120 DAT).

Tabela 83. Massa fresca e seca de raízes em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Massa fresca de raízes (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	16,59 a	17,72 a	20,39 a	15,67 a
NaCl	15,43 a	16,80 a	18,94 a	10,12 b
Cultivar (cv)				
Obatã	18,06 a	21,29 a	21,80 a	14,10 a
Catucaí	13,96 b	13,23 b	17,53 a	11,69 a
<i>p</i>	Sal = 0,486	Sal = 0,548	Sal = 0,266	Sal = 0,044
	cv = 0,002	cv = 0,0002	cv = 0,138	cv = 0,165
	Salxcv=0,540	Salxcv=0,444	Salxcv=0,560	Salxcv=0,495
Massa seca de raízes (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	3,37 a	4,72 a	4,64 a	6,54 a
NaCl	3,40 a	3,77 a	3,98 a	4,16 b
Cultivar (cv)				
Obatã	3,79 a	4,72 a	4,56 a	5,63 a
Catucaí	2,98 b	3,78 b	4,05 a	5,06 a
<i>p</i>	Sal = 0,905	Sal = 0,061	Sal = 0,146	Sal = 0,035
	cv = 0,014	cv = 0,032	cv = 0,193	cv = 0,245
	Salxcv=0,323	Salxcv=0,971	Salxcv=0,460	Salxcv=0,714

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No ensaio de verão, a MFR já apresentou diferenças significativas desde o primeiro ciclo da salinidade (Tabela 84), mostrando uma queda marcante da massa fresca nas plantas do tratamento com ES. Também, é importante ressaltar que as plantas responderam positivamente ao ciclo de recuperação, já que igualaram aos valores da MFR das plantas controle. Esta resposta foi modificada novamente ao se impor o ciclo 2, apresentando diminuição da massa de raízes aos 165 DAT, sendo as plantas controle que produziram a máxima MFR. A diferença entre as cultivares foi evidente unicamente aos 135 DAT com a cv. Obatã melhor avaliada. Para MSR, o ciclo 1 do ES não acarretou efeito algum. No entanto, com a aplicação do segundo ciclo de ES, as plantas desse tratamento evidenciaram uma queda importante da MFR quando comparadas ao controle. Raramente, entre as cultivares houve diferenças significativas aos 90 e 135 DAT, apresentando a maior MSR a cv. Obatã.

Tabela 84. Massa fresca e seca de raízes em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Massa fresca de raízes (g planta⁻¹)				
Tratamento	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	9,47 a	15,61 a	11,65 a	41,16 a
NaCl	9,05 a	9,44 b	9,83 a	23,12 b
Cultivar (cv)				
Obatã	10,78 a	13,41 a	12,62 a	34,25 a
Catucaí	7,73 a	11,64 a	8,86 b	30,03 a
<i>P</i>	Sal = 0,785	Sal = 0,006	Sal = 0,116	Sal = 0,017
	cv = 0,058	cv = 0,250	cv = 0,032	cv = 0,202
	Salxcv=0,295	Salxcv=0,246	Salxcv=0,310	Salxcv=0,416
Massa seca de raízes (g planta⁻¹)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	1,48 a	2,60 a	3,26 a	7,71 a
NaCl	1,56 a	2,46 a	2,76 a	4,17 b
Cultivar (cv)				
Obatã	1,77 a	2,77 a	3,44 a	6,37 a
Catucaí	1,27 b	2,29 a	2,58 b	5,52 a
<i>p</i>	Sal = 0,691	Sal = 0,220	Sal = 0,071	Sal = 0,011
	cv = 0,049	cv = 0,149	cv = 0,009	cv = 0,206
	Salxcv=0,454	Salxcv=0,276	Salxcv=0,286	Salxcv=0,712

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados similares aos destes ensaios foram encontrados por Giuffrida et al. (2014), trabalhando com plantas de pimenta sob salinidade induzida com NaCl mostraram que a biomassa seca das raízes diminuiu drasticamente no decorrer do tempo, isto é, quanto mais extenso é o período de exposição à salinidade, maior é a supressão no desenvolvimento da massa radicular.

4.6.3 Índices de crescimento

4.6.3.1 Área foliar específica (AFE)

A área foliar específica relaciona massa seca de folhas com sua área total. No ensaio de inverno, AFE foi menor apenas ao primeiro ciclo de salinidade (Tabela 85), sendo que este resultado não se repetiu até o final do cultivo. Notadamente as plantas salinizadas mostraram menor área foliar por grama de MS. Nos ciclos de recuperação e ciclo 2 de ES, possivelmente as plantas se adaptaram melhor a

presença do sal, já que a AFE não foi alterada. Entre as cultivares, houve diferenças apenas aos 90 e 120 DAT apresentando melhor desempenho as plantas da cv. Obatã.

Tabela 85. Área foliar específica (AFE) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Tratamentos	Área foliar específica (AFE; cm ² folhas g ⁻¹ MS _{folha})			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	118,43 a	132,75 a	130,87 a	123,60 a
NaCl	119,37 a	122,54 b	131,27 a	125,94 a
Cultivar (cv)				
Obatã	122,95 a	131,64 a	132,47 a	125,61 a
Catucaí	114,84 b	123,64 b	129,67 a	123,94 a
p	Sal = 0,460	Sal = 0,021	Sal = 0,860	Sal = 0,219
	cv = 0,012	cv = 0,010	cv = 0,366	cv = 0,649
	Salxcv=0,195	Salxcv=0,192	Salxcv=0,392	Salxcv=0,077

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

A AFE em plantas de cafeeiro cultivadas no verão não apresentou alteração no primeiro ciclo de salinidade. Curiosamente, na etapa de recuperação, as plantas com ES apresentaram a maior AFE e apesar do segundo ciclo de salinidade, o comportamento foi semelhante (Tabela 86). Entre cultivares, as plantas da cv. Catucaí obtiveram a mínima AFE aos 90 e 120 DAT quando comparadas às plantas da cv. Obatã.

Tabela 86. Área foliar específica (AFE) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Verão).

Tratamentos	Área foliar específica (AFE; cm ² folhas g ⁻¹ MS _{folha})			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	152,41 a	150,28 a	134,13 b	123,84 b
NaCl	152,79 a	159,14 a	145,95 a	147,59 a
Cultivar (cv)				
Obatã	157,46 a	158,70 a	142,08 a	137,91 a
Catucaí	147,74 b	150,71 b	138,00 a	133,52 a
P	Sal = 0,919	Sal = 0,124	Sal = 0,001	Sal = 0,002
	cv = 0,030	cv = 0,028	cv = 0,152	cv = 0,402
	Salxcv=0,564	Salxcv=0,451	Salxcv=0,642	Salxcv=0,134

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados similares aos observados no ciclo 1 de ES (120 DAT-Inverno) foram reportados por Murillo-Amador et al. (2015), ao avaliar o efeito de diferentes

níveis salinos com NaCl (0, 30, 60, 90 e 120 mM) aplicados aos 51 DAT em plantas de *Aloe vera*, observaram que houve diferenças expressivas entre tratamentos salinos, mostrando-se os valores mínimos de AFE nas plantas tratadas com 90 mM. Já as plantas do tratamento controle, apresentaram os máximos valores para este parâmetro avaliado.

Conforme o comportamento da AFE no cafeeiro e em outros vegetais, existe informação que demonstra que as espécies vegetais influenciam primariamente este parâmetro (CUNNINGHAM et al., 1999), assim como as condições ambientais às que estejam submetidas (LI et al., 2000).

4.6.3.2 Razão da massa foliar (RMF)

No experimento realizado no inverno e no verão, as plantas de cafeeiro submetidas à salinidade não sofreram alterações significativas da RMF (Tabela 87 e 88) em qualquer das épocas avaliadas. Evidentemente, os valores da RMF mantiveram-se similares entre os tratamentos. Já entre as cultivares, a cv. Obatã foi a melhor adaptada às condições de salinidade, apresentando os valores máximos da RMF aos 90, 120 e 135 DAT.

Tabela 87. Razão da massa foliar (RMF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Razão da massa foliar (RMF; g MS de folhas g⁻¹ MS total)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	0,44 a	0,47 a	0,49 a	0,42 a
NaCl	0,44 a	0,46 a	0,48 a	0,47 a
Cultivar (cv)				
Obatã	0,46 a	0,49 a	0,51 a	0,44 a
Catucaí	0,42 b	0,43 b	0,46 b	0,44 a
<i>p</i>	Sal = 0,637	Sal = 0,866	Sal = 0,861	Sal = 0,067
	cv = 0,022	cv = 0,0001	cv = 0,025	cv = 0,754
	Salxcv=0,813	Salxcv=0,113	Salxcv=0,828	Salxcv=0,274

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

Tabela 88. Razão de massa foliar (RMF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Verão).

Razão da massa foliar (RMF; g MS de folhas g⁻¹ MS total)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	0,49 a	0,46 a	0,51 a	0,44 a
NaCl	0,46 a	0,44 a	0,49 a	0,44 a
Cultivar (cv)				
Obatã	0,49 a	0,46 a	0,53 a	0,45 a
Catucaí	0,46 a	0,44 a	0,48 b	0,43 a
	Sal = 0,462	Sal = 0,504	Sal = 0,257	Sal = 0,872
<i>p</i>	cv = 0,443	cv = 0,217	cv = 0,040	cv = 0,363
	Salxcv=0,485	Salxcv=0,183	Salxcv=0,943	Salxcv=0,294

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados similares aos observados nestes ensaios (inverno e verão) foram reportados em plantas de tomateiro submetidas a seis níveis de salinidade (1.62, 2.40, 2.98, 3.48, 4.63 e 5.82 dS m⁻¹) e dois sistemas de manejo (fertilização pela curva de absorção e sem aplicação de nutrientes), não havendo alterações significativas na RMF por efeito dos níveis salinos e sim pelo manejo da fertirrigação; apresentando-se os máximos valores da RMF nas plantas sem fertilização (SILVA et al., 2015).

4.6.3.3 Razão de área foliar (RAF)

A RAF é um índice de crescimento utilizado em plantas para expressar a AF que é útil para os processos fotossintéticos (BENINCASA, 1998).

No experimento de inverno, é importante ressaltar que a RAF das plantas de cafeeiro não foi afetada pela aplicação dos tratamentos e fase de recuperação em nenhum dos ciclos estudados (Tabelas 89 e 90). Entre as cultivares houve diferenças significativas aos 90 DAT, obtendo a mínima RAF a cv. Catucaí, destacando que nessa etapa as plantas não receberam algum tipo de estresse físico. Houve desdobramento da interação da RAF aos 120 e 165 DAT (Tabela 90).

Tabela 89. Razão de área foliar (RAF) de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e 135 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Razão de área foliar (RAF; m² folhas g⁻¹ MS planta)		
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)	
	90	135
Controle	52,70 a	64,27 a
NaCl	53,37 a	63,58 a
Cultivar (cv)		
Obatã	57,60 a	66,35 a
Catucaí	48,47 b	61,50 a
	Sal = 0,367	Sal = 0,839
<i>p</i>	cv = 0,001	cv = 0,192
	Sal x cv = 0,340	Sal x cv = 0,601

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 90. Desdobramento da interação para Razão de área foliar (RAF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 120 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Razão de área foliar (RAF; m² folhas g⁻¹ MS planta) - 120 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	67,23 Aa	64,56 Aa	Sal = 0,151
Catucaí	58,12 Ab	50,46 Ab	cv = 0,0001
			Salx cv=0,045
Razão de área foliar (RAF; m² folhas g⁻¹ MS planta) - 165 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	49,98 Ba	61,96 Aa	Sal = 0,078
Catucaí	54,30 Aa	56,23 Aa	cv = 0,686
			Salx cv=0,024

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

As plantas crescidas no verão aparentemente tiveram um comportamento semelhante às plantas cultivadas no inverno com exceção da RAF calculado no Ciclo 2 de salinidade. No geral, a RAF das plantas de cafeeiro não comprovou alteração alguma por efeito da aplicação de sais (Tabela 91). No entanto, ao se comparar ambas as cultivares, principalmente aos 120 e 135 DAT as plantas da Obatã conseguiram a maior taxa de superfície foliar, o que pode corresponder a uma estratégia dessa cultivar para sobrepor o efeito iônico dos sais aplicados.

Tabela 91. Razão de área foliar (RAF) de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Razão de área foliar (RAF; m² folhas g⁻¹ MS planta)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	74,44 a	70,04 a	69,77 a	55,30 b
NaCl	70,96 a	70,14 a	72,98 a	65,43 a
Cultivar (cv)				
Obatã	77,02 a	73,95 a	75,63 a	60,46 a
Catucaí	68,38 a	66,24 b	67,12 b	60,26 a
<i>p</i>	Sal = 0,352	Sal = 0,976	Sal = 0,234	Sal = 0,009
	cv = 0,070	cv = 0,038	cv = 0,026	cv = 0,938
	Salxcv=0,281	Salxcv=0,297	Salxcv=0,957	Salxcv=0,646

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Similar aos resultados do ciclo 2 de ES (165 DAT-Verão), Neto e Nogueira (1999) comparando o crescimento de tomate e milho submetidos à salinidade (0 e 100 mM NaCl), reportaram aumento da razão de área foliar em resposta a salinidade apenas nas plantas de tomate. Já nas plantas de milho, houve redução da RAF por efeito do NaCl.

Diferentemente dos resultados constatados nestes ensaios, plantas de *Phaseolus vulgaris* foram tratadas com concentrações de 0, 48, 72 e 96 mM de NaCl, apresentando-se redução gradual da razão de área foliar devido aos níveis salinos e em função do decorrer do tempo (WIGNARAJAH et al., 1990). Nesse sentido, a diminuição da RAF, em resposta à salinidade, significa que as folhas apresentam espessura anatomicamente maior (WIGNARAJAH et al., 1975) e que esse comportamento faz parte dos mecanismos morfológicos de adaptação das plantas ao ES (JENNINGS et al., 1968). Entretanto, para ambos os ensaios do presente trabalho, a indução de salinidade em plantas de cafeeiro na fase vegetativa não apresentou alterações expressivas para este parâmetro calculado.

4.6.4 Avaliação nutricional (raiz, caule e folha)

4.6.4.1 Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro no ensaio de salinidade no inverno.

Macronutrientes: Ao final do segundo ciclo de Salinidade (165 DAT) foi realizada a análise dos teores de macro e micronutrientes em folhas, caule e raízes de plantas de cafeeiro (Quadro 5).

O teor de Nitrogênio e Fosforo (N, P) tiveram um leve aumento no tratamento salino tanto para a cv. Obatã quanto para a cv. Catucaí, unicamente para tecidos foliares. Entretanto, a concentração de Potássio (K) na folha, diminuiu para a cv. Catucaí no tratamento salino. Também, houve uma diminuição deste elemento no tecido radicular para ambas as cultivares do tratamento salino.

A concentração de Cálcio (Ca) foi maior na cv. Obatã, sendo as folhas que apresentaram o máximo acúmulo. Já o Magnésio (Mg) acumulou mais em tecidos radiculares na cv. Obatã. Por outro lado, o Enxofre (S) não apresentou alterações devido aos tratamentos, mostrando valores similares também entre as cultivares.

Micronutrientes: O teor de Boro (B) teve uma diminuição nos tecidos foliares da cultivar Catucaí. A concentração de Cobre (Cu) aumentou no tecido foliar, caule e raízes para a cv. Obatã. Da mesma forma, o teor de Ferro (Fe) apresentou a maior concentração em folhas, caule, e raízes para ambas as cultivares.

O Manganês (Mn) foi concentrado principalmente em tecido foliar em plantas da cv. Obatã. Já o Zinco (Zn) comportou-se de maneira similar, isto é, os teores deste elemento não diferiram entre tratamentos nem entre as cultivares estudadas (Quadro 5).

Por outro lado, o teor de Sódio (Na) foi acumulado em todos os órgãos da planta, sendo principalmente o tecido radicular que concentrou o máximo teor deste elemento. O Cloro (Cl) apresentou o maior acúmulo nos tecidos foliares, sendo maiormente concentrado em folhas e raízes consecutivamente da cv. Catucaí.

A capacidade de adaptação das plantas à salinidade está relacionada com a capacidade de regular internamente as concentrações de Na^+ e Cl^- (AMZALLAG et al., 1995). As plantas glicófitas, que incluem a maioria das espécies cultivadas e o café, possuem mecanismos de exclusão de sódio, porém não possuem a habilidade de compartimentalizar os sais nos vacúolos. Plantas halófitas possuem os dois

mecanismos, reduzindo a concentração de sais no citoplasma celular (MUNNS, 2002).

Resultados similares foram reportados por Giuffrida et al. (2014), ao submeterem plantas de pimenta à salinidade com NaCl e salinidade por nutrientes, os quais não encontraram alterações na concentração de macronutrientes (N, P, K) causadas pelos sais, obtendo valores similares desses elementos entre tratamentos salinos e o controle.

Quadro 5. Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí aos 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Macro-Nutrientes (g kg ⁻¹ MS)	Órgão vegetal	Tratamentos-Ensaio de inverno (2016)			
		C- Obatã	NaCl-Obatã	C- Catucaí	NaCl-Catucaí
N	Folha	21	22,5	21	24,5
	Caule	8	7,9	9	9,7
	Raiz	13	13,4	14	13,3
P	Folha	0,7	0,95	0,9	1,15
	Caule	0,5	0,6	0,5	0,7
	Raiz	0,8	0,7	0,8	0,7
K	Folha	22	23	27	24
	Caule	12	11,9	12	11,9
	Raiz	20	18,8	21	17,3
Ca	Folha	8	10,5	11	10,5
	Caule	2	3,2	3	3,0
	Raiz	4	4,9	5	5,6
Mg	Folha	3,7	3,75	3,8	3,55
	Caule	1,5	1,5	1,7	1,5
	Raiz	3,8	6,0	4,4	4,8
S	Folha	0,8	0,8	0,9	0,85
	Caule	0,7	0,7	0,7	0,7
	Raiz	0,9	1,0	1,0	1,1
Micro-Nutrientes (mg kg ⁻¹ MS)	Órgão vegetal	Tratamentos-Ensaio de inverno (2016)			
		C- Obatã	NaCl-Obatã	C- Catucaí	NaCl-Catucaí
B	Folha	110	101,5	178	123,5
	Caule	14	19,5	17	29,3
	Raiz	78	42,5	66	66,4
Cu	Folha	129	287	288	248,5
	Caule	12	33,5	43	33,0
	Raiz	8	20,5	17	17,5
Fe	Folha	160	322	336	425
	Caule	83	254	167	339
	Raiz	5313	7783	7241	8156
Mn	Folha	85	148	185	168,5
	Caule	27	30,5	39	39,0
	Raiz	37	40	39	37
Zn	Folha	25	22	23	23
	Caule	12	15,0	17	17,0
	Raiz	14	17,5	18	21,5
Na	Folha	474	4780	428	4245
	Caule	179	1325	177	1370
	Raiz	282	6600	306	6900
Cl	Folha	13000	13200	13100	18600
	Caule	500	1200	1000	1900
	Raiz	300	2700	2000	5500

4.6.4.2 Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro no ensaio de salinidade no verão.

Macronutrientes: Para este ensaio, houve leve aumento no teor de Nitrogênio (N) no tecido foliar tanto para a cv. Obatã quanto para a cv. Catucaí, já nos outros órgãos vegetais não houve diferença enquanto ao teor deste nutriente (Quadro 6). A concentração do Fosforo (P) ocorreu de maneira similar para as duas cultivares, porém o maior acúmulo apresentou-se somente nos tecidos foliares e caule. Houve leve aumento no teor de Cálcio (Ca) em folhas da cv. Catucaí e no caule da cv. Obatã.

A diferença dos elementos anteriormente mencionados, o teor de Potássio (K), Magnésio (Mg) e Enxofre (S) não apresentou diferenças devido aos tratamentos e/ou cultivares.

Micronutrientes: No ensaio de verão, a concentração de Boro (B) teve aumento nos tecidos foliares e caule devido à salinidade, isto ocorreu para ambas as cultivares. Da mesma forma, o teor deste elemento aumentou nos tecidos radiculares, exclusivamente para a cv. Catucaí.

O teor de Cobre (Cu) apresentou aumento considerável tanto nos tecidos foliares, caule e raízes, apenas para a cv. Catucaí. Já nos tecidos das plantas da cv. Obatã, aparentemente, o efeito da salinidade não ocasionou mudanças enquanto ao teor deste micronutriente. Similarmente, houve aumento da concentração de Ferro (Fe) em todos os tecidos das plantas da cv. Catucaí. Entretanto, este aumento foi encontrado na cv. Obatã, porém unicamente em caule e raízes. O teor de Manganês (Mn) aumentou no tecido foliar, caule e raízes nas plantas da cv. Obatã. Já nas plantas da cv. Catucaí, não houve alterações deste elemento. A concentração do Zinco (Zn) apresentou o maior acúmulo exclusivamente nas raízes das plantas para ambas as cultivares.

Referente ao Sódio (Na), a concentração apresentou-se em todos os tecidos das plantas salinizadas, sempre se apresentando a maior concentração em folhas, raízes e caules para ambas as cultivares. Aparentemente, o maior teor deste elemento foi concentrado fortemente em folhas da cv. Catucaí. A concentração do Cloro (Cl) ocorreu principalmente nas folhas para as plantas de ambas as cultivares. Este acúmulo foi evidenciado para todos os órgãos de plantas tratadas com sais.

Quadro 6. Teor de macro e micronutrientes em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí aos 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Macro-Nutrientes (g kg ⁻¹ MS)	Órgão vegetal	Tratamentos-Ensaio de verão (2016-2017)			
		C- Obatã	NaCl-Obatã	C- Catucaí	NaCl-Catucaí
N	Folha	23	26,5	24	25,5
	Caule	8	9,0	8	8,5
	Raiz	14	14,5	15	15,1
P	Folha	0,5	1,3	0,8	1,3
	Caule	0,3	0,9	0,6	0,9
	Raiz	0,7	1,0	0,9	0,9
K	Folha	17	16,5	17	17
	Caule	12	12,8	11	12,7
	Raiz	19	20,2	15	15,5
Ca	Folha	8	10,5	8	11
	Caule	2	3,6	3	3,7
	Raiz	4	4,7	5	5,8
Mg	Folha	1,9	2,5	2,2	2,6
	Caule	1,3	1,1	1,2	1,3
	Raiz	6,3	6,9	6,8	8,7
S	Folha	0,8	0,95	0,8	1
	Caule	0,6	0,7	0,7	0,7
	Raiz	1,7	2,1	2	2,1
Micro-Nutrientes (mg kg ⁻¹ MS)	Órgão vegetal	Tratamentos-Ensaio de verão (2016-2017)			
		C- Obatã	NaCl-Obatã	C- Catucaí	NaCl-Catucaí
B	Folha	28	39	15	34,5
	Caule	14	17,5	11	21,9
	Raiz	57	43,0	41	60,8
Cu	Folha	14	13	7	15
	Caule	9	11,0	7	13,0
	Raiz	17	18	15	19
Fe	Folha	163	142,5	96	216,5
	Caule	87	216,5	37	187,0
	Raiz	4657	7750	7439	7666
Mn	Folha	120	196	194	172
	Caule	27	59,0	35	54,5
	Raiz	112	224,5	328	275,5
Zn	Folha	22	15	13	16,5
	Caule	10	11,0	10	12,5
	Raiz	57	81,5	48	83,5
Na	Folha	669	7300	707	9385
	Caule	248	2225	240	2260
	Raiz	355	5790	375	4655
Cl	Folha	13400	20300	15200	20000
	Caule	300	1300	800	1200
	Raiz	900	2700	1100	3900

4.6.5 Avaliação de parâmetros fisiológicos das plantas

4.6.5.1 Trocas gasosas-inverno

4.6.5.1.1 Atividade fotossintética: Assimilação líquida de CO₂ (A)

Plantas de cafeeiro desenvolvidas no inverno (Figura 33a) e antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT) apresentaram diferenças na assimilação líquida de CO₂ entre as cultivares, registrando-se a maior taxa fotossintética nas plantas da cv. Obatã quando confrontada com as da cv. Catucaí. Com a imposição do primeiro ciclo de estresse salino (ES) com NaCl (120 DAT), houve diminuição drástica da A tanto nas plantas controle quanto nas plantas salinizadas, sendo que, esse período coincidiu com a diminuição das temperaturas noturnas e provavelmente ocasionaram uma redução considerável na atividade fotossintética das plantas. Para esse período de avaliação não foi possível atribuir totalmente a diminuição da A à salinidade, já que, apenas as plantas da cv. Obatã do tratamento salino apresentaram uma queda na assimilação do carbono e também com valores semelhantes às plantas da cv. Catucaí, independentemente do sal. Ao se efetivar a etapa de recuperação (135 DAT), as plantas de ambas cultivares responderam bem à aplicação de água sem sais, sempre apresentando os valores máximos de A as plantas controle da cv. Obatã e as da cv. Catucaí, respectivamente. No entanto, as plantas salinizadas apresentaram taxas de fotossíntese semelhantes entre cultivares, porém menores às do tratamento controle (Figura 33a).

Em resposta a aplicação do ciclo 2 de ES, houve diminuição da fotossíntese para ambas as cultivares, sendo afetadas maiormente as plantas da cv. Obatã. Já no tratamento controle, o comportamento da A foi semelhante como evidenciado desde o início do ensaio, apresentando-se a maior taxa fotossintética sempre em plantas da cv. Obatã.

De maneira similar ao ocorrido neste ensaio, duas cultivares do gênero *Lycium* foram avaliadas sob condições de salinidade em concentrações de 50, 100 e 200 mM de NaCl, mostrando-se diminuição na taxa fotossintética apenas nas plantas do tratamento 200 mM da cv. *Lycium barbarum* quando comparado as do controle. Já os maiores valores de A foram registrados em *Lycium chinense*, entretanto não apresentaram diferença significativa quando confrontados aos do tratamento controle (DIMITROVA et al., 2017). Em outro estudo, plantas de *Cucumis sativus* submetidas a diferentes níveis salinos (0, 50 e 100 mM NaCl), demonstraram

que todas as concentrações salinas ocasionaram redução acentuada na assimilação líquida de CO₂ por meio de fatores não estomáticos e à mínima abertura estomática, ambos ocasionados pelo NaCl (STĘPIEŃ E KŁBUS., 2006).

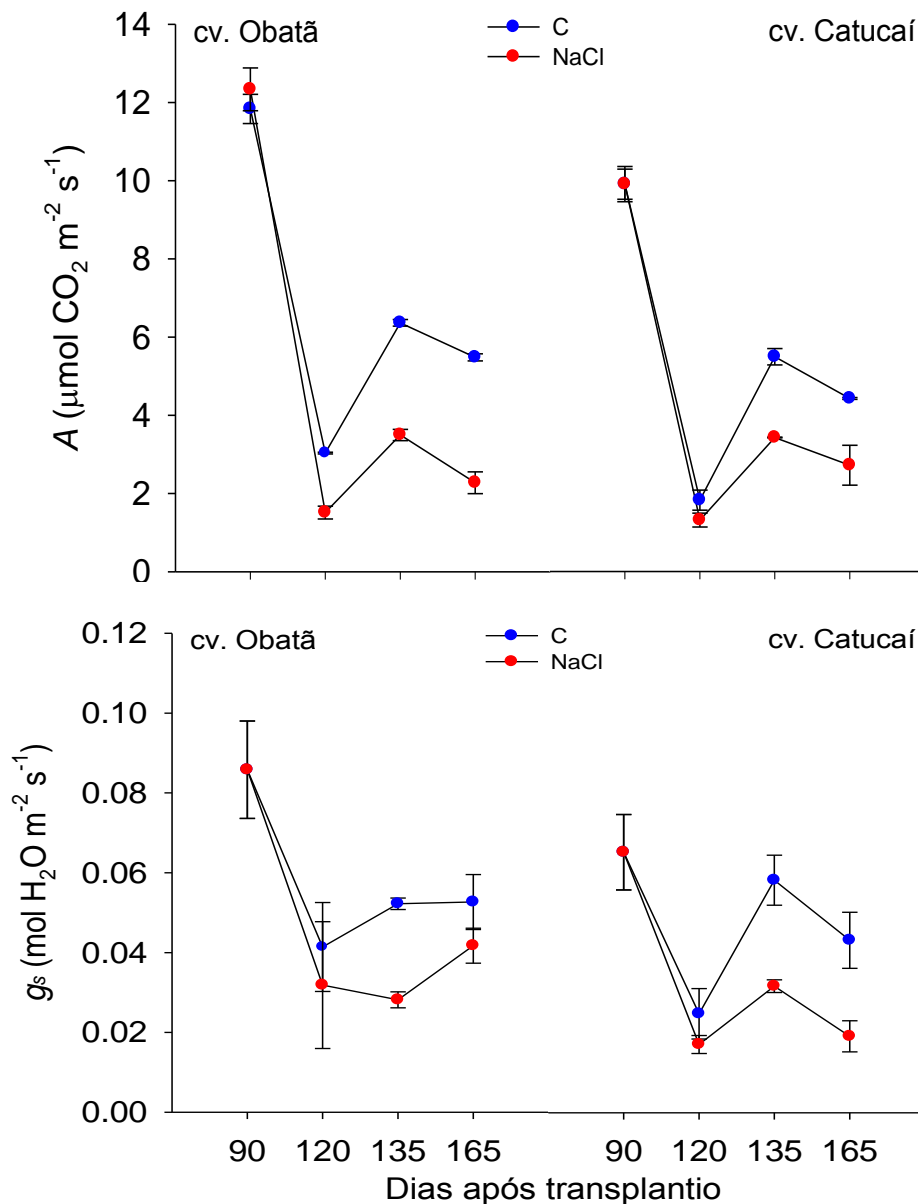
4.6.5.1.2 Atividade fotossintética: Condutância estomática (g_s)

Para o ensaio de inverno (Figura 33a), ainda antes da imposição dos tratamentos, houve diferenças entre as cultivares para a variável condutância estomática, apresentando-se valores máximos nas plantas da cv. Obatã. As alterações neste parâmetro foram evidenciadas claramente entre os tratamentos quando se efetivou o ciclo 1 de ES. As plantas da cv. Catucaí apresentaram a maior redução na g_s por efeito da salinidade, mostrando-se mais sensíveis do que as plantas da cv. Obatã. Diante disso, apesar da diminuição da g_s nas plantas da cv. Obatã, estas mostraram valores superiores às plantas controle da cv. Catucaí, ou seja, independentemente do ES a cv. Obata sempre apresentou a máxima condutância estomática. Aos 135 DAT, quando ocorreu a etapa de recuperação, as plantas do tratamento controle da cv. Catucaí tiveram a maior g_s , seguidas do controle Obatã, NaCl-Catucaí e NaCl-Obatã, respectivamente. Curiosamente, após o primeiro ciclo de ES, os valores de g_s para ambas cultivares se inverteram, apresentando-se maior condutância estomática exclusivamente nas plantas da cv. Catucaí. Já no ciclo 2 (165 DAT), ficou demonstrado que o sal induziu g_s ao fechamento estomático (Figura 33a), sendo as plantas da cv. Catucaí que evidenciaram os menores valores, independentemente do tratamento. Conforme estes resultados, pode se dizer que as plantas da cv. Obatã tiveram melhor desempenho perante as condições de salinidade às que foram submetidas.

As alterações na condutância estomática, também foram reportadas em duas cultivares de algodoeiro, as quais foram submetidas durante 21 dias a três concentrações de NaCl (50, 100 e 200 mol m⁻³), havendo diminuição considerável na g_s para ambas as cultivares. Na cv. Guanzuncho houve redução da g_s para as concentrações 50 e 200 mM em 27% e 37%, respectivamente. Já nas plantas da cv. Pora apresentaram-se reduções na condutância estomática em resposta às três concentrações salinas, existindo diminuição de 15, 33 e 42% quando comparadas ao controle (MELONI et al., 2003). Da mesma forma, Yousfi et al. (2010) trabalhando com diferentes espécies de trigo duro, triticale e tritordeum (cruzamento de *Triticum*

durum e *Hordeum chilense*) submetidas à salinidade, observaram leves diferenças da g_s entre as espécies. Já os tratamentos salinos e sem restrição hídrica, comprovaram diminuição drástica da condutância estomática quando a condutividade elétrica atingiu valores entre 12 e 17 dS.m⁻¹, respectivamente.

Figura 33a. Trocas gasosas: Assimilação líquida de CO₂ (A) e Condutância estomática (g_s) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 dias após transplântio (Ensaio de Salinidade-Inverno). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



4.6.5.1.3 Atividade fotossintética: Concentração intercelular de carbono (C_i)

Considerando-se os resultados expressivos de fechamento estomático, também a concentração intercelular de carbono apresentou variações significativas, devido à salinidade e/ou cultivares (Figura 33b). As plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí no ensaio de inverno não apresentaram diferenças na C_i antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT). No entanto, com a imposição do primeiro ciclo de ES (120), as plantas de ambas cultivares apresentaram concentrações de carbono superiores as do controle para cada cultivar, mostrando-se a maior C_i nas plantas da cv. Obatã. Esse comportamento foi alterado ao se impor o ciclo de recuperação (135 DAT), havendo uma queda maior da C_i principalmente nas plantas da cv. Obata (com e sem NaCl). Já nas plantas da cv. Catucaí, o tratamento controle teve um leve aumento quando comparado ao tratamento salino. Entre cultivares, aparentemente a cv. Catucaí teve a máxima concentração intercelular de carbono, entretanto não houve diferenças consideráveis. Com a aplicação do ciclo 2 de salinidade (165 DAT), apenas as plantas da cv. Obatã sob ES apresentaram a máxima C_i quando comparadas ao controle de ambas cultivares. Já em plantas da cv. Catucaí sob estresse salino, a C_i foi drasticamente diminuída (Figura 33b). Aparentemente, as implicações causadas pelos sais afetaram principalmente plantas da cv. Catucaí, indicando à cv. Obatã com melhor concentração de carbono.

4.6.5.1.4 Atividade fotossintética: Transpiração (E)

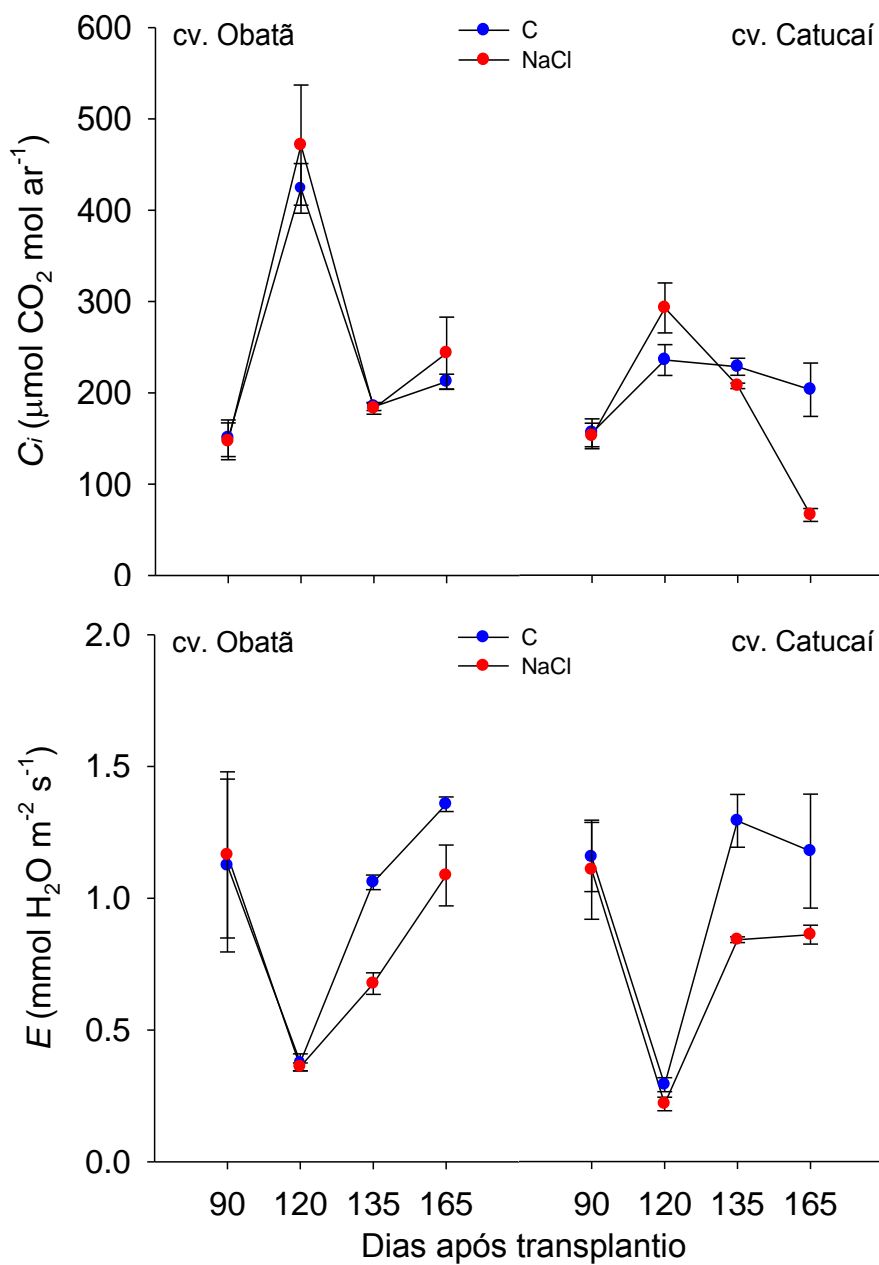
As taxas de transpiração (E) acompanharam de certa forma, o comportamento estomático em função do tratamento salino. Na fase inicial, ou antes, da imposição dos tratamentos (90 DAT), não houve diferenças de E para as plantas de ambas cultivares (Figura 33b). Também, no ciclo 1 de salinidade não houve variação considerável, sendo que apenas se observou leve diminuição na transpiração para Catucaí por efeito do tratamento salino. No período de recuperação (135 DAT), as plantas da cv. Catucaí apresentaram as maiores taxas de E , seguidas pelas plantas da cv. Obatã, em ambos os casos tanto para o tratamento controle quanto para o tratamento salino. Esses aumentos na transpiração seguiram o desempenho do acréscimo da temperatura, fato que foi confirmado no incremento da taxa fotossintética para essa própria avaliação.

Ao efetuar-se o segundo ciclo de ES (165 DAT), a diminuição da E devido à salinidade foi evidente (Figura 33b). Contudo, o efeito salino ocasionou diminuição da taxa transpiratória nas plantas de ambas cultivares, apresentando vantagem de menor E para a cv. Catucaí. Neste caso, ressalta-se que para o tratamento controle, as plantas da cv. Obatã foram superiores às da cv. Catucaí. Curiosamente, a cv. Catucaí do tratamento controle teve comportamento tão similar à cv. Obata desenvolvida sob condições de estresse salino.

De certa forma e semelhante aos resultados obtidos neste ensaio, Dimitrova et al. (2017) trabalhando com duas cultivares do gênero *Lycium* da família solanácea em condições de salinidade (50, 100 e 200 mM de NaCl), observaram que a diminuição da transpiração ocorreu apenas nas plantas da cv. *L. barbarum* tratadas com 200 mM. As maiores taxas transpiratórias foram medidas na cv. *L. chinense*, porém não apresentaram diferença expressiva quando comparadas às do tratamento controle.

De maneira distinta, Bem-Asher et al. (2006) estudaram o efeito de três níveis salinos (1.8, 3.3 e 4.8 dS m⁻¹) em plantas de videira (Cabernet Sauvignon enxertado em Roggeri) e, conforme os resultados obtidos, concluíram que não se detectou alteração alguma na E por efeito dos sais.

Figura 33b. Trocas gasosas: Concentração intercelular de CO_2 (C_i) e Transpiração (E) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 dias após transplântio (Ensaio de Salinidade-Inverno). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



4.6.5.2 Trocas gasosas-verão

4.6.5.2.1 Atividade fotossintética: Assimilação líquida de CO₂ (A)

No verão, as plantas de cafeeiro antes da diferenciação dos tratamentos (90 DAT), já apresentaram diferenças entre as cultivares, sendo as plantas da cv. Catucaí que atingiram a máxima taxa fotossintética (Figura 34a). Em resposta à aplicação do primeiro ciclo de estresse salino (120 DAT), houve evidente diminuição da *A* nas plantas, verificando-se comportamento similar entre as duas cultivares, porém menor às plantas do controle. Deste modo, os valores dos tratamentos controle foram superiores na cv. Catucaí quando comparados à cv. Obatã. Passada essa fase, as plantas foram submetidas à etapa de recuperação (135 DAT), sendo as plantas do tratamento salino da cv. Catucaí que conseguiram se recuperar e igualar-se com as plantas controle de ambas cultivares. Já as plantas da cv. Obatã, apesar de manifestar aumento na taxa fotossintética, não conseguiram reverter os efeitos do primeiro ES e mantiveram a mais baixa atividade fotossintética.

A imposição do ciclo 2 de ES provocou alterações na *A* com efeito acumulativo, apresentando-se primeiramente diminuição considerável da fotossíntese nas plantas da cv. Catucaí e de maneira mais drástica nas plantas da cv. Obatã. Conforme os resultados deste parâmetro (Figura 34a), aparentemente não houve clara diferença entre as cultivares.

Similar aos resultados deste ensaio, plantas de pepino enxertadas e não enxertadas foram submetidas à salinidade (27 mM e 40 mM de Na₂SO₄ e NaCl), ocasionando redução considerável nas taxas fotossintéticas principalmente por efeito do NaCl e com valores levemente superiores nas plantas enxertadas (COLLA et al., 2012). Essas consequências, em resposta a salinidade, têm sido constatadas nos processos bioquímicos dos vegetais, tanto na *A* quanto na síntese de pigmentos fotossintéticos (COLLA et al., 2010). A redução nos componentes das trocas gasosas tem sido proposta há algum tempo, atribuindo-a ao acúmulo ou concentração de sódio nos tecidos foliares (GARCÍA-LEGAZ et al., 1993; WALKER et al., 1993).

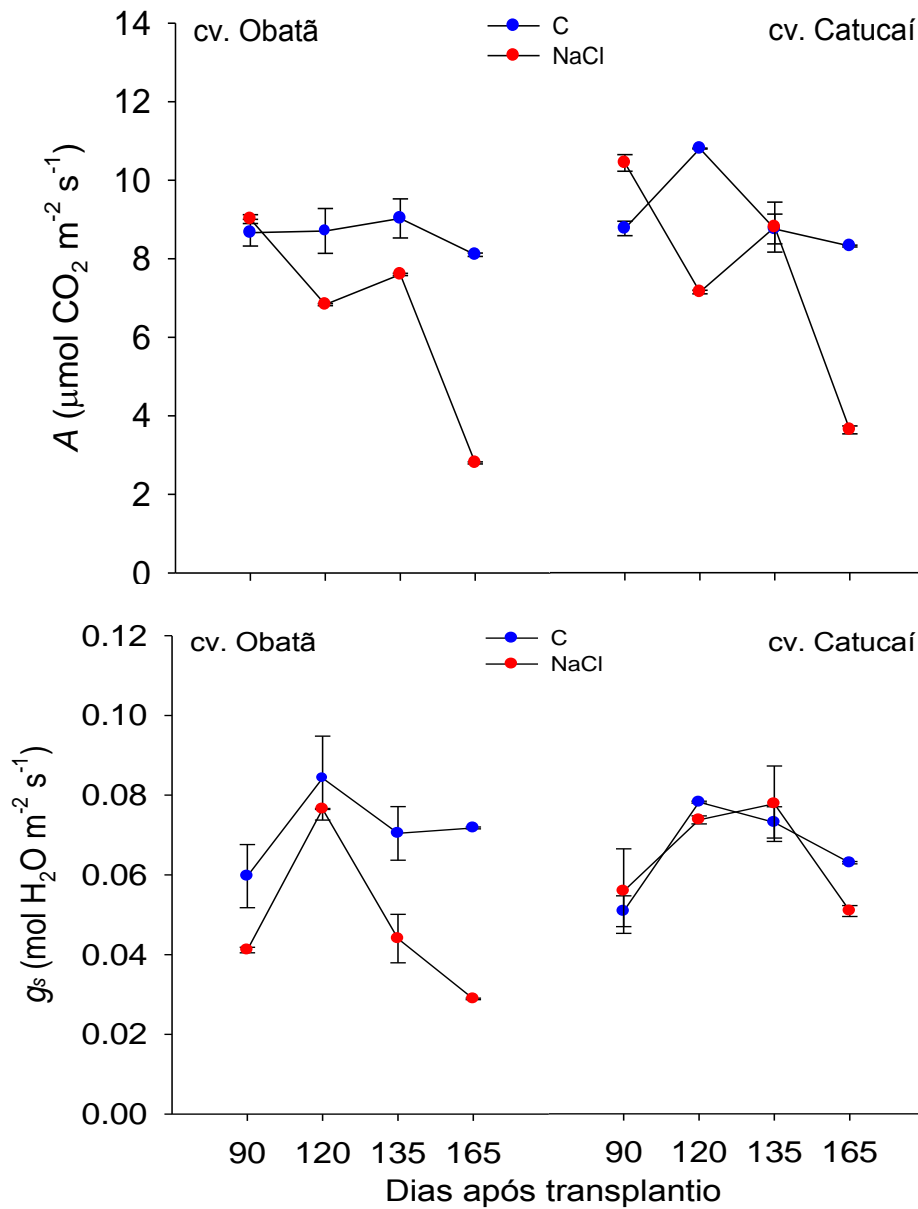
4.6.5.2.2. Atividade fotossintética: Condutância estomática (g_s)

As plantas de cafeeiro antes da imposição dos tratamentos (90 DAT) apresentaram diferenças da condutância estomática, no entanto inespecíficas, mostrando-se apenas com valores máximos as plantas da cv. Obatã (Figura 34a). Com a imposição do ciclo 1 de salinidade (120 DAT), não houve variação considerável, sendo que as plantas sob ES em ambas cultivares mantiveram a g_s similarmente às plantas do controle da cv. Catucaí. Unicamente, nas plantas do tratamento controle da cv. Obatã se observaram valores máximos da g_s . Contudo, os resultados apontam que o primeiro ciclo de salinidade não alterou a condutância estomática no cafeeiro. Uma vez que se efetuou a etapa de recuperação (135 DAT), apenas as plantas sob ES da cv. Obatã apresentaram vantagem de menor g_s . Os outros tratamentos apresentaram os maiores valores de abertura estomática.

As alterações na g_s foram evidenciadas ao efetivar-se o ciclo 2 de salinidade (165 DAT), mostrando-se os menores valores nas plantas da cv. Obatã sob ES quando comparadas às da cv. Catucaí (Figura 34a). Já em plantas do tratamento controle, a cv. Obatã apresentou a máxima abertura estomática.

Estes resultados de certa forma são similares aos reportados por Colla et al. (2012), os quais trabalhando com plantas de pepino (enxertadas e não enxertadas) sob salinidade induzida com Na_2SO_4 e NaCl , observaram que os menores valores da condutância estomática foram causados pelo NaCl e apresentando-se valores ligeiramente superiores nas plantas enxertadas. Alterações nas trocas gasosas também foram reportadas em árvores de *Citrus limon* (WALKER et al., 1993) e em diferentes cultivares de limão quando desenvolvidas em condições de salinidade (GARCÍA-LEGAZ et al., 1993).

Figura 34a. Trocas gasosas: Assimilação líquida de CO_2 (A) e Condutância estomática (g_s) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 dias após transplântio (Ensaio de Salinidade-Verão). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=4$).



4.6.5.2.3 Atividade fotossintética: Concentração intercelular de carbono (C_i)

As plantas de cafeeiro cultivadas no verão e que foram irrigadas sem sais (90 DAT), mostraram concentrações de carbono intercelular de maneira similar entre as cultivares (Figura 34b). Entretanto, quando as plantas foram submetidas ao primeiro ciclo de salinidade (120 DAT), tanto as do tratamento controle e ES da cv. Obatã quanto às do ES da cv. Obatã apresentaram a maior C_i , sendo unicamente as plantas do controle Catucaí que mostraram a menor concentração de carbono. Diante disso, não foi possível distinguir claramente os efeitos da salinidade entre as cultivares para este parâmetro avaliado no ciclo 1 (Figura 34b). Com a aplicação da fase de recuperação (135 DAT), as plantas da cv. Catucaí sob ES e as do controle, respectivamente, apresentaram as máximas concentrações de carbono intercelular. Mostrando-se em seguida a cv. Obatã com C_i menor para as plantas do controle e para as do tratamento salino, concomitantemente.

O segundo ciclo de estresse salino (165 DAT) já provocou efeitos evidentes, sendo as plantas sob salinidade da cv. Catucaí que apresentaram a máxima concentração intercelular de carbono e em seguida as da cv. Obatã. Referente as plantas do controle, o comportamento entre as cultivares foi similar ao acontecido no ciclo 1 de ES, sendo a cv. Catucaí que mostrou a menor C_i .

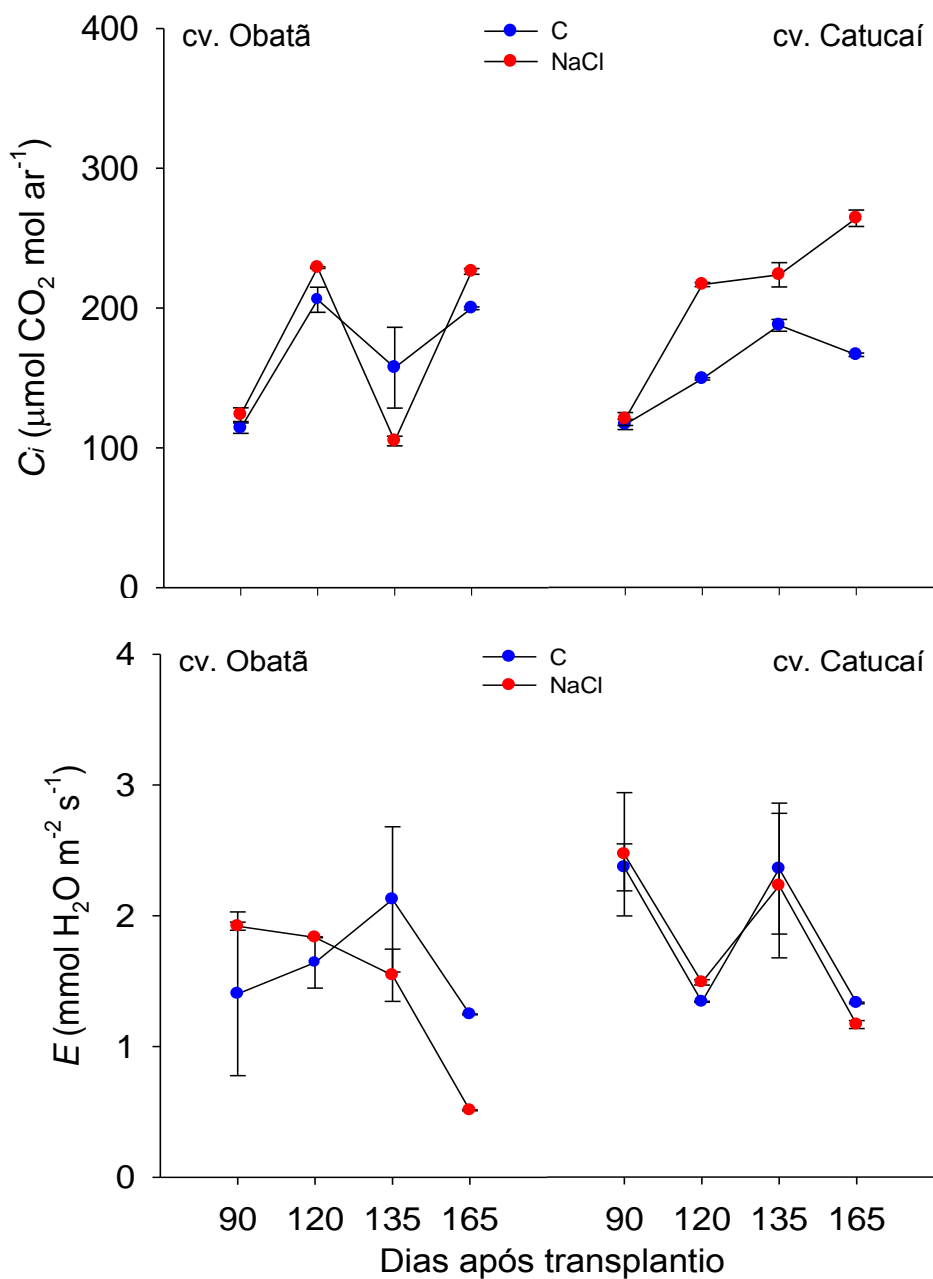
4.6.5.2.4 Atividade fotossintética: Transpiração (E)

A transpiração em plantas de cafeeiro antes da aplicação do sal (90 DAT) teve alterações, mesmo sem a diferenciação dos tratamentos (Figura 34b), havendo maior E nas plantas da cv, Catucaí. Com a exposição ao primeiro ciclo de ES (120 DAT), somente as plantas da cv. Obatã apresentaram taxas transpiratórias elevadas, sempre maiores no tratamento salino e no controle, respectivamente. Logo depois deste ciclo, ao se efetuar a etapa de recuperação (135) o efeito foi invertido, mostrando-se a mínima transpiração unicamente nas plantas da cv. Obatã sob ES. Já entre os demais tratamentos o comportamento foi semelhante, apresentando as taxas máximas de E .

Em resposta ao segundo ciclo de ES (165 DAT), o cafeeiro mostrou desempenho similar como ocorrido na fase de recuperação, porém com taxas de E inferiores, sendo unicamente as plantas da cv. Obatã que reduziram drasticamente a taxa transpiratória (Figura 34b). Conforme os resultados, apenas as plantas da cv. Obatã mostraram redução gradual na transpiração, desde o primeiro ciclo e até o segundo ciclo de estresse salino. Neste sentido, além das alterações geradas pela salinidade, também tem sido reportado que as variações significativas na transpiração dependem da umidade do ar, das mudanças na temperatura diurna (do ar e das folhas), disponibilidade de dióxido de carbono e outras condições meio ambientais (KRAMER E BOYER, 1995).

Por outro lado, resultados diferentes aos deste ensaio foram reportados por Pinheiro et al. (2008), os quais avaliando os efeitos da concentração 30 mM com NaCl (2g NaCl kg⁻¹ de solo) em plantas de *Ricinus communis*, constataram que aos 38 e 59 dias após germinação a taxa transpiratória não apresentou alterações por efeito do sal, isto é, a E foi similar tanto nas plantas do tratamento controle quanto nas do tratamento salino.

Figura 34b. Trocas gasosas: Concentração intercelular de CO_2 (C_i) e Transpiração (E) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 dias após transplântio (Ensaio de Salinidade-Verão). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



4.6.5.3 Teor de pigmentos

4.6.5.3.1 Clorofila *a*

Face aos resultados encontrados, o teor de pigmentos manteve-se em relação considerada padrão apenas para o ensaio realizado no inverno (Tabela 92). Neste experimento, a taxa de clorofila *a*/clorofila *b*, foi calculada em média próxima a 3, independentemente do tratamento aplicado e/ou cultivar. Entretanto, no verão, essa relação apresentou alteração devido a aparente diminuição das taxas de clorofila *a*, em função da salinidade (Tabela 93), mesmo que não tenha sido estatisticamente significativo. Assim, como a clorofila *a* sofreu diminuição, isto induziu a uma queda na relação entre as duas clorofilas, ficando abaixo dos valores de referência. As plantas de cafeeiro cultivadas no inverno não apresentaram diferenças significativas para este parâmetro avaliado no decorrer do ensaio. Evidentemente, apenas no segundo ciclo de salinidade (165 DAT), curiosamente nas plantas do tratamento controle houve uma queda no teor de clorofila *a*. Entre as cultivares não houve diferenças estatísticas significativas.

Tabela 92. Clorofila *a* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Tratamentos	Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)			
	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	16,09 a	13,75 a	13,77 a	10,68 b
NaCl	13,05 a	13,32 a	14,87 a	14,18 a
Cultivar (cv)				
Obatã	16,81 a	14,18 a	15,77 a	13,24 a
Catucaí	12,33 b	12,90 a	12,87 a	11,62 a
<i>p</i>	Sal = 0,083	Sal = 0,794	Sal = 0,298	Sal = 0,041
	cv = 0,012	cv = 0,495	cv = 0,183	cv = 0,379
	Salxcv=0,297	Salxcv=0,739	Salxcv=0,947	Salxcv=0,356

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 93. Clorofila *a* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	14,94 a	16,00 a	18,87 a	17,80 a
NaCl	11,49 a	13,38 a	16,13 a	14,81 b
Cultivar (cv)				
Obatã	14,63 a	15,76 a	18,45 a	17,32 a
Catucaí	11,80 a	13,62 a	16,54 a	15,29 a
<i>p</i>	Sal = 0,062	Sal = 0,371	Sal = 0,274	Sal = 0,042
	cv = 0,110	cv = 0,278	cv = 0,432	cv = 0,244
	Salxcv=0,239	Salxcv=0,140	Salxcv=0,411	Salxcv=0,191

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Conforme os resultados de verão (Tabela 93, 165 DAT) e de modo similar, plantas de *pigeonpea* cv. Caqui foram tratadas com concentrações 0; 20; 40; 60; 80 e 120 mM de NaCl, apresentando redução considerável da clorofila *a* em resposta à concentração salina (RHEIN et al., 2015).

4.6.5.3.2 Clorofila *b*

De maneira similar, para clorofila *b* das plantas cultivadas no inverno e verão, ao se aplicar dois ciclos de estresse salino, não foram encontradas diferenças significativas tanto para os tratamentos quanto para as cultivares (Tabela 94 e 96). Houve desdobramento da interação para esta variável aos 90 DAT (Tabela 95).

Tabela 94. Clorofila *b* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)			
Tratamentos	Dias após o transplante (DAT)		
	120	135	165
Controle	6,26 a	2,34 a	5,30 a
NaCl	7,68 a	2,56 a	6,68 a
Cultivar (cv)			
Obatã	7,54 a	2,71 a	6,96 a
Catucaí	6,40 a	2,19 a	5,02 a
<i>p</i>	Sal = 0,414	Sal = 0,245	Sal = 0,134
	cv = 0,499	cv = 0,178	cv = 0,158
	Sal x cv = 0,424	Sal x cv = 0,991	Sal x cv = 0,399

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

De acordo com os dados da interação para clorofila *b*, nota-se que apenas no bloco escolhido para o tratamento salino (90 DAT), as plantas da cv. Obatã apresentou os mínimos valores quando comparadas com às da Catucaí.

Godoy et al. (2003), observou que, à medida que as doses de N aumentavam o teor relativo de clorofilas (TRC) aumentava proporcionalmente; Já a medida que as plantas envelhecem, esse processo se inverte. Plantas submetidas à condição salina apresentaram redução na concentração de TRC, atribuída ao acréscimo da atividade enzimática que degrada a clorofila (SHARMA; HALL, 1991). Temóteo (2012) ressalta que o TRC diminuiu com o aumento da salinidade no solo em experimento com café conilon, efeito que não se repetiu para a presente condição experimental.

Tabela 95. Desdobramento da interação para clorofila *b* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 90 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Clorofila <i>b</i> - 90 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	11,35 Aa	7,87 Ab	Sal = 0,478
Catucaí	10,17 Ba	14,92 Aa	cv = 0,099
			Sal x cv = 0,034

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

Tabela 96. Clorofila *b* em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)				
Tratamentos	Dias após o trasplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	6,37 a	8,03 a	8,34 a	8,60 a
NaCl	6,09 a	7,29 a	9,46 a	6,41 a
Cultivar (cv)				
Obatã	7,03 a	8,23 a	10,28 a	8,12 a
Catucaí	5,44 a	7,08 a	7,52 a	6,89 a
	Sal = 0,847	Sal = 0,400	Sal = 0,201	Sal = 0,093
<i>p</i>	cv = 0,204	cv = 0,232	cv = 0,057	cv = 0,367
	Salxcv=0,395	Salxcv=0,521	Salxcv=0,225	Salxcv=0,108

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

Resultados diferentes aos observados nesses ensaios foram reportados por Rhein et al. (2005), os quais submeteram plantas de guandu cv. Caqui a diferentes níveis de salinidade e o teor de clorofila *b* tendeu a diminuir com o incremento na concentração de NaCl.

4.6.5.3.3 Carotenoides

Similarmente, como descrito para teor de clorofilas (*a* e *b*), o teor de carotenoides em plantas cultivadas no inverno não foi alterado nas plantas de cafeeiro (Tabela 97), embora hajam passado por dois ciclos de salinidade, os resultados não demonstraram diferenças significativas. Da mesma forma, entre as cultivares não houve diferenças evidenciadas.

De maneira similar, no ensaio de verão (Tabela 98) o teor de carotenoides teve comportamento idêntico ao acontecido no experimento de inverno, mantendo-se intactos os teores desse pigmento apesar da salinidade induzida durante 60 dias.

Tabela 97. Carotenoides em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)				
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	4,14 a	3,70 a	0,23 a	3,21 a
NaCl	3,45 b	3,70 a	0,25 a	4,14 a
Cultivar (cv)				
Obatã	4,68 a	3,79 a	0,26 a	3,95 a
Catucaí	2,91 b	3,60 a	0,21 a	3,40 a
<i>p</i>	Sal = 0,012	Sal = 0,998	Sal = 0,382	Sal = 0,063
	cv = 0,004	cv = 0,725	cv = 0,261	cv = 0,254
	Salxcv=0,472	Salxcv=0,940	Salxcv=1,000	Salxcv=0,764

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 98. Carotenoides em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$ folha)				
Tratamentos	Dias após o trasplântio (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	4,01 a	4,11 a	4,80 a	4,60 a
NaCl	3,23 b	3,89 a	4,11 a	4,30 a
Cultivar (cv)				
Obatã	4,09 a	4,41 a	4,83 a	4,66 a
Catucaí	3,15 a	3,59 a	4,08 a	4,24 a
<i>p</i>	Sal = 0,021	Sal = 0,748	Sal = 0,215	Sal = 0,208
	cv = 0,079	cv = 0,138	cv = 0,239	cv = 0,383
	Salxcv=0,559	Salxcv=0,144	Salxcv=0,314	Salxcv=0,701

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Por outro lado, Pinheiro et al. (2008) ao estudarem os efeitos da salinidade em mudas de *Ricinus communis* L notaram que aos 38 dias após germinação (DAG) os teores de carotenoides em plantas salinizadas foram similares às do tratamento controle, no entanto aos 59 DAG, as mudas de mamona apresentaram redução desse pigmento em 33% quando comparadas ao controle.

Sabe-se que os carotenoides podem atuar como protetores em condições de foto-oxidação (MITTLER, 2002; LAWLOR, 1995), no entanto é necessário análises adicionais para entender a inalteração desse pigmento ocorrido em mudas de cafeeiro sob salinidade.

4.6.6 Discriminação isotópica de carbono e nitrogênio

4.6.6.1 Razão isotópica do carbono sequestrado ($\delta^{13}\text{C} / \delta^{12}\text{C}$)

Nos experimentos conduzidos no inverno (Tabela 99) e no verão (Tabela 100), as plantas de cafeeiro não apresentaram variação importante do $\delta^{13}\text{C}$, encontrando-se valores análogos tanto nos tratamentos com estresse salino quanto nas plantas irrigadas regularmente. Os resultados da análise estatística não comprovaram qualquer relação clara entre a salinidade e a discriminação de $\delta^{13}\text{C}$, ou forma de sequestro de carbono. Por outro lado, entre as cultivares, quando foi aplicado o ciclo de recuperação (Tabela 99) sendo que exclusivamente para cv. Catucaí houve menor $\delta^{13}\text{C}$ (mais negativo). Diante disso, este parâmetro não confirmou a hipótese de relação direta com os dois fatores estudados (salinidade e/ou cultivares), nestes ensaios.

Tabela 99. Discriminação isotópica de Carbono em tecido foliar de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Tratamentos	Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C} / \delta^{12}\text{C}$)			
	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	-26,48 a	-25,57 a	-26,71 a	-27,27 a
NaCl	-26,76 a	-25,24 a	-25,94 a	-26,40 a
Cultivar (cv)				
Obatã	-26,22 a	-25,30 a	-25,99 a	-26,54 a
Catucaí	-27,03 a	-25,52 a	-26,66 b	-27,13 a
<i>p</i>	Sal = 0,770	Sal = 0,087	Sal = 0,069	Sal = 0,244
	cv = 0,317	cv = 0,529	cv = 0,016	cv = 0,329
	Salxcv=0,777	Salxcv=0,079	Salxcv=0,309	Salxcv=0,998

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 100. Discriminação isotópica de Carbono em tecido foliar de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Verão).

Razão isotópica ($\delta^{13}\text{C} / \delta^{12}\text{C}$)				
Tratamentos	Dias após o trasplanto (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	-28,86 a	-27,58 a	-28,06 a	-28,29 a
NaCl	-28,66 a	-28,18 a	-28,14 a	-27,49 a
Cultivar (cv)				
Obatã	-28,20 a	-27,49 a	-28,08 a	-27,83 a
Catucaí	-29,31 a	-28,26 a	-28,11 a	-27,95 a
<i>p</i>	Sal = 0,761	Sal = 0,491	Sal = 0,924	Sal = 0,282
	cv = 0,072	cv = 0,241	cv = 0,974	cv = 0,851
	Salxcv=0,252	Salxcv=0,887	Salxcv=0,856	Salxcv=0,975

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Diferente ao observado nos ensaios de inverno e verão, plantas de manga (*Mangifera indica* L.) “Tommy Atkins” foram submetidas à salinidade (10, 20 e 30 mM de NaCl) por um período de 120 dias e apenas as plantas do tratamento 30 mM apresentaram a menor discriminação do carbono (^{13}C), já os níveis mais baixos de salinização não causaram alterações na discriminação de $\delta^{13}\text{C}$ (VECCELLI e SIQUEIRA, 2016). Da mesma forma, Shaheen e Hood-Nowotny (2005) trabalhando com quatro cultivares de trigo sob diferentes concentrações salinas (0, 8, 12 e 16 dS m^{-1}) obtiveram uma diminuição unidimensional em resposta à salinidade, ou seja, conforme o incremento do nível salino a redução na discriminação isotópica do carbono foi gradual.

4.6.6.2 Razão isotópica do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N} / \delta^{14}\text{N}$)

Em relação ao nitrogênio, em ambos os ensaios (inverno e verão) não se verificou diferenças no modo de assimilação do elemento e a salinização das plantas também não alterou a absorção do mesmo (Tabelas 101 e 102). Registra-se que no inverno, houve diferença significativa aos 135 DAT (fase recuperação), sendo o tratamento salino que induziu os maiores efeitos negativos (Tabela 101). Em outras palavras, a salinidade em plantas de cafeeiro não discriminou o $\delta^{15}\text{N}$, já que, apesar da indução salina as plantas conseguiram assimilar o nitrogênio quanto às plantas do tratamento controle. Entre as cultivares, também não houve diferenças significativas para este parâmetro avaliado, com exceção do ciclo 2 de verão, quando a cv. Catucaí apresentou discriminação isotópica do nitrogênio (DIN) maior que a cv. Obatã, fato que não pode ser atribuído aos diferentes tratamentos.

Tabela 101. Discriminação isotópica do Nitrogênio em tecido foliar de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Razão isotópica ($\delta^{15}\text{N} / \delta^{14}\text{N}$)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	4,29 a	5,75 a	6,25 a	6,10 a
NaCl	3,74 a	6,58 a	5,00 b	5,16 a
Cultivar (cv)				
Obatã	4,13 a	6,22 a	5,78 a	6,16 a
Catucaí	3,90 a	6,11 a	5,47 a	5,10 a
<i>p</i>	Sal = 0,473	Sal = 0,098	Sal = 0,037	Sal = 0,401
	cv = 0,697	cv = 0,775	cv = 0,487	cv = 0,416
	Salxcv=0,542	Salxcv=0,373	Salxcv=0,284	Salxcv=0,655

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 102. Discriminação isotópica do Nitrogênio em tecido foliar de plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Verão).

Razão isotópica ($\delta^{15}\text{N} / \delta^{14}\text{N}$)				
Tratamentos	Dias após o trasplante (DAT)			
	90	120	135	165
Controle	5,07 a	1,32 a	1,60 a	3,80 a
NaCl	4,32 a	3,14 a	2,29 a	3,87 a
Cultivar (cv)				
Obatã	5,17 a	2,86 a	2,11 a	4,85 a
Catucaí	4,22 a	1,60 a	1,78 a	2,82 b
<i>p</i>	Sal = 0,235	Sal = 0,099	Sal = 0,271	Sal = 0,923
	cv = 0,457	cv = 0,173	cv = 0,550	cv = 0,030
	Salxcv=0,563	Salxcv=0,805	Salxcv=0,913	Salxcv=0,442

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

De maneira distinta, Yousfi et al. (2012) ao fazerem uso do $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{15}\text{N}$ para avaliar o metabolismo do N e adaptação genotípica do trigo duro (2 linhagens sensíveis e 2 tolerantes) à salinidade, reportaram resultados que evidenciam uma diminuição considerável do $\delta^{15}\text{N}$ na parte aérea. Essa diminuição diferenciada foi evidente entre as linhagens e ressalta-se que a redução do ^{15}N foi mais severa para os tratamentos com 12 e 17 dS m^{-1} quando comparados com o controle, obviamente em condições bem irrigadas.

Da mesma forma, diferentes espécies de trigo duro, triticale e tritordeum foram estudados para avaliar os efeitos da salinidade na composição isotópica do $\delta^{15}\text{N}$, havendo diferenças entre as espécies. Já os tratamentos salinos e sem restrição hídrica, comprovaram discriminação drástica do $\delta^{15}\text{N}$ quando a

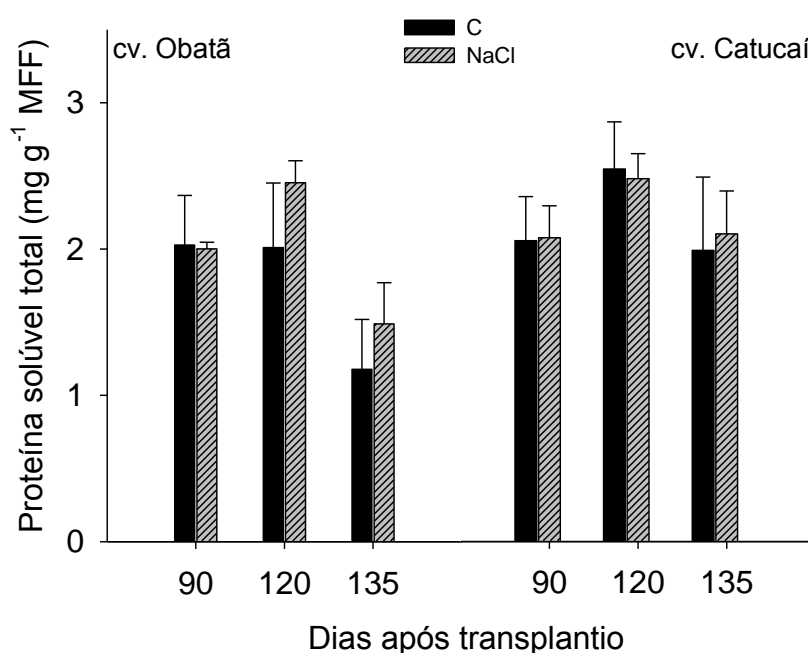
condutividade elétrica atingiu valores entre 12 e 17 dS m⁻¹ (YOUSFI et al., 2010). Esse comportamento na redução da DIN na massa seca ($\delta^{15}\text{N}_{\text{ms}}$) também tem sido registrado em plantas de trigo duro após serem submetidas à salinidade (YOUSFI et al., 2009).

4.6.7 Análises bioquímicas

4.6.7.1 Determinação do teor de proteína solúvel total (TPST)

A concentração de proteína solúvel total em plantas de cafeeiro cultivadas no inverno (Figura 35 e Tabela 103) e no verão (Figura 36) não sofreu alterações quando submetidas à salinidade. Conforme os resultados, o sal não conseguiu alterar esse parâmetro apesar da imposição salina durante 60 dias (120 e 165 DAT), apenas na etapa de recuperação a cv. Obatã apresentou o maior valor em miligramas de proteína por grama de matéria fresca de folhas, quando comparada à cv. Catucaí. Houve interação aos 165 DAT (Tabela 103).

Figura 35. Concentração de proteína solúvel total (mg g⁻¹ MFF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120 e 135 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



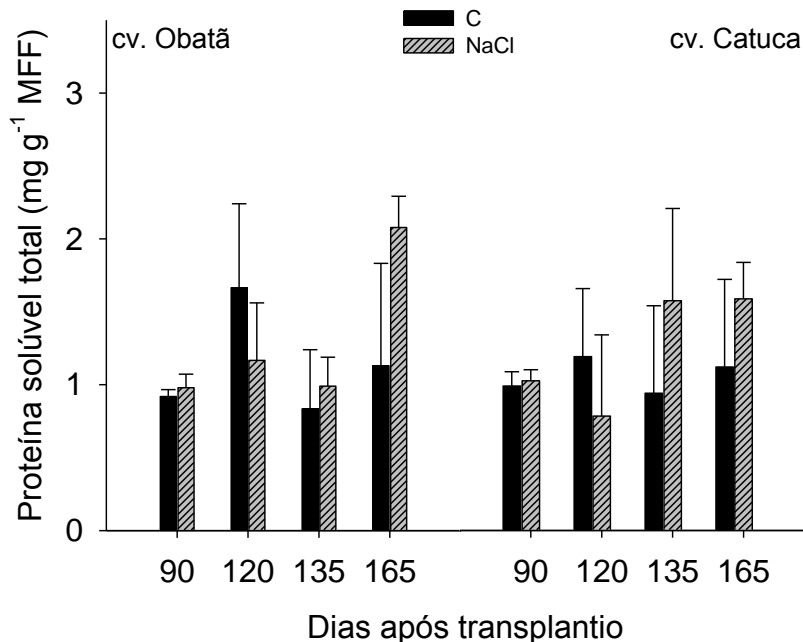
Conforme desdobramento da interação para o teor de proteína solúvel total (TPST), unicamente foi encontrada diferença significativa entre as cultivares, apresentando a mínima concentração de PST em plantas da cv. Obatã. Já o tratamento salino manteve o comportamento similar ao tratamento controle.

Tabela 103. Desdobramento da interação para concentração de proteína solúvel total (mg g^{-1} MFF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí observada aos 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Concentração de proteína solúvel total (mg g^{-1} MFF) - 165 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	0,72 Ab	1,77 Aa	Sal = 0,235
Catucaí	1,44 Aa	1,41 Aa	cv = 0,289
			Sal x cv = 0,013

DAT= Dias Após o Transplante; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Figura 36. Concentração de proteína solúvel total (mg g^{-1} MFF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média ($n=4$).



Esses resultados obtidos em ambos os ensaios (inverno e verão) são semelhantes aos reportados por Abdul Qados (2011). Eles observaram após 10 dias da imposição dos tratamentos que o teor de proteína em plantas de faba aumentou de maneira proporcional com o acréscimo na concentração do sal, apresentando-se valores similares aos das plantas controle (0 mM).

Em contraparte, existem resultados diferentes reportando redução no TPST causada pela salinidade induzida com NaCl (CHEN et al., 2007; DEBOUBA et al., 2006).

4.6.7.2 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

A enzima SOD, é a principal dentre as enzimas do sistema de resposta antioxidativo (SRA). Esta enzima tem uma tendência de aumento de atividade, sempre que o organismo for submetido à pressão externa, nas formas de estresses físicos ou biológicos. Em tecidos considerados *sadios*, ou seja, em organismos mantidos sob condições ótimas de cultivo, a atividade da SOD é tratada como residual, relativa apenas aos eventos naturais do metabolismo primário. Conforme descrito na revisão, esta enzima é ativada para desarmar (dismutar) espécies reativas de oxigênio, notadamente do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), as quais são transformadas em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Na sequência, face à capacidade oxidativa dos peróxidos produzidos, as células ativam outras enzimas do grupo do SRA, como as catalases, que acabam por dismutar o peróxido em água.

Nos ensaios com cafeeiro, submetidos à salinidade, verificou-se que a enzima SOD não foi ativada no inverno sob qualquer tratamento salino em relação ao controle (Figura 37), diferentemente do registrado no experimento com deficiência hídrica. Este resultado, em princípio surpreendente, revela que o estresse físico causado pela fração iônica da salinização não foi suficiente para o estabelecimento da relação antioxidativa com esta enzima, conforme se verificou nos experimentos de DH. Por outro lado, no verão (Figura 38), a enzima foi plenamente ativada em função do tratamento salino nos dois ciclos, sendo que o período de recuperação (135 DAT) não reverteu o impacto da salinidade (Figura 38). Entre as cultivares, apenas a cv. Catucaí apresentou baixa atividade enzimática, tanto na etapa de recuperação quanto no ciclo 2 de ES. Pondera-se que, conforme indicado nas Figuras de monitoramento ambiental (temperatura, Figuras 9 e 10), provavelmente a enzima foi induzida no verão em resposta sinérgica entre a salinidade e altas temperaturas registradas durante este ensaio. Pondera-se ainda, que devido à aplicação fracionada do sal, as plantas cultivadas no inverno desenvolveram tolerância a este estresse físico, buscando outras modalidades de ajuste osmótico,

como poderá ser demonstrado com o acúmulo de L-prolina e outros parâmetros avaliados.

Figura 37. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD; UI $\mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).

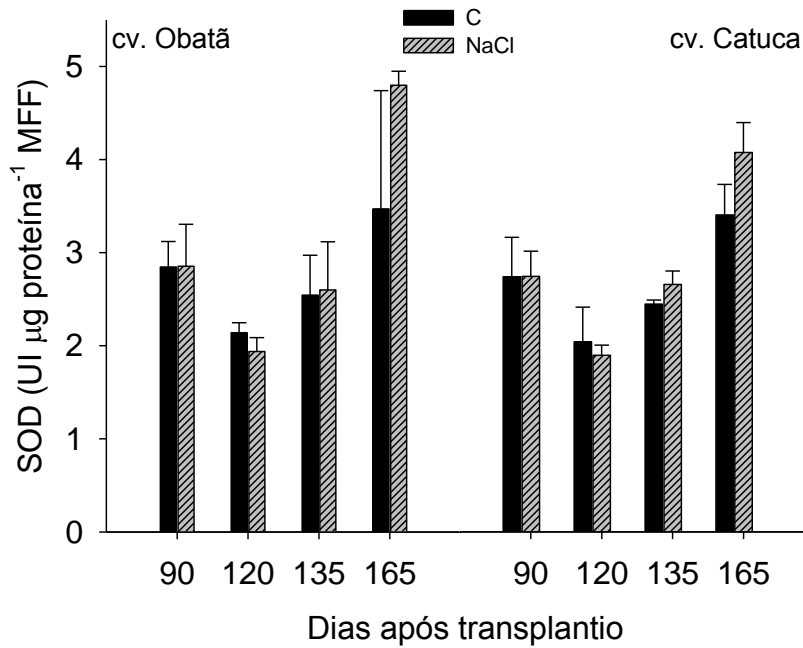
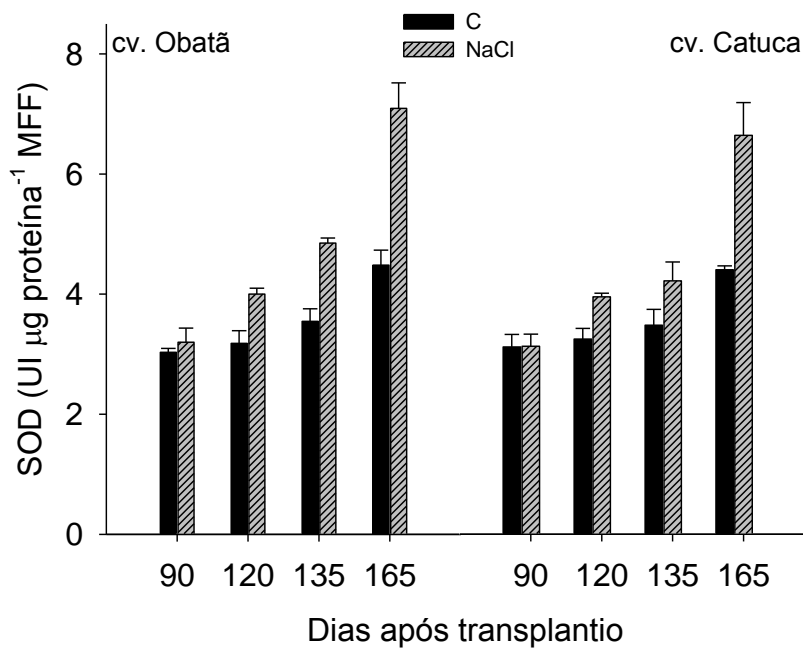


Figura 38. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD; UI $\mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Verão). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



Efeitos semelhantes aos observados no ensaio de verão foram verificados por Sozharajan e Natarajan, (2013) em folhas de *Excoecaria agallocha* submetidas a diferentes concentrações de NaCl (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1 000 mM), aumentando-se a atividade da SOD paralelamente com a concentração salina. Esses aumentos na atividade enzimática foram observados aos 60 dias após a imposição dos tratamentos e até concentrações de 400 mM.

4.6.7.3 Atividade da enzima catalase (CAT)

Embora a enzima Catalase (CAT) seja ativada de forma sequencial ao evento da SOD, na presente condição experimental, a CAT apresentou atividade significativa em função da salinidade já no inverno (Tabela 104 e 105), fato que se repetiu no ensaio de verão (Tabela 106 e 107). Face aos resultados obtidos, considera-se que a atividade da CAT comprovou a hipótese formulada apenas para o experimento de verão, sendo que no inverno, não se concluiu claramente se a atividade dessa enzima teve relação com a salinidade, visto que a atividade da SOD praticamente não foi ativada nessas condições. No inverno, houve desdobramento para CAT devido aos tratamentos para os ciclos 1 e 2 de salinidade (120 e 165 DAT) e na recuperação (135 DAT)

No verão, a atividade da CAT também foi detectada em todas as condições de cultivo, exceto antes da imposição dos tratamentos. Nesta estação, houve desdobramento da atividade para tratamentos salinos e cultivares, com destaque para a cv. Obatã, a qual ativou a enzima com maior intensidade devido ao sal, comparado às mesmas condições da cv. Catucaí.

Tabela 104. Atividade da enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obat\u00e3 e Catuca\u00ed em estufa aos 90 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Enzima Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$)	
Tratamentos	Dias ap\u00f3s o transpl\u00e1ntio (DAT)
	90
Controle	115,47 a
NaCl	113,26 a
Cultivar (cv)	
Obat\u00e3	117,46 a
Catuca\u00ed	111,27 b
	L = 0,239
<i>p</i>	cv = 0,011
	L x cv = 0,701

NaCl= Sal. M\u00e9dias seguidas da mesma letra na coluna n\u00e3o diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 105. Desdobramento da intera\u00e7\u00e3o para atividade da enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obat\u00e3 e Catuca\u00ed em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) – 120 DAT			
Tratamentos			
Cultivar (cv)	Controle	NaCl	<i>p</i>
Obat\u00e3	100,37 Bb	278,04 Aa	L = 0,0001
Catuca\u00ed	118,06 Ba	257,67 Ab	cv = 0,101
			Lxcv = 0,0001
Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) - 135 DAT			
Tratamentos			
Cultivar (cv)	Controle	NaCl	<i>p</i>
Obat\u00e3	108,63 Bb	296,04 Aa	L = 0,0001
Catuca\u00ed	121,15 Ba	279,33 Ab	cv = 0,102
			Lxcv = 0,0001
Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) - 165 DAT			
Tratamentos			
Cultivar (cv)	Controle	NaCl	<i>p</i>
Obat\u00e3	118,25 Ba	228,12 Aa	L = 0,0001
Catuca\u00ed	119,69 Ba	214,64 Ab	cv = 0,020
			Lxcv = 0,008

DAT= Dias Ap\u00f3s o Transpl\u00e1ntio; NaCl= Sal. M\u00e9dias seguidas da mesma letra min\u00fascula nas colunas ou mai\u00fascula nas linhas n\u00e3o diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 106. Atividade da enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obat\u00e3 e Catuca\u00ed em estufa aos 90 DAT (Ensaio de salinidade-Ver\u00e3o).

Catalase (CAT; $\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$)	
Tratamentos	Dias ap\u00f3s o transpl\u00e2ntio (DAT)
	90
Controle	166,26 a
NaCl	165,20 a
Cultivar (cv)	
Obat\u00e3	168,11 a
Catuca\u00ed	163,35 a
	Sal = 0,861
<i>p</i>	cv = 0,504
	Sal x cv = 0,576

NaCl= Sal. M\u00e9dias seguidas da mesma letra na coluna n\u00e3o diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 107. Desdobramento da intera\u00e7\u00e3o para atividade da enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em plantas de cafeeiro cv. Obat\u00e3 e Catuca\u00ed em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Ver\u00e3o).

Enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) - 120 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obat\u00e3	173,80 Ba	297,37 Aa	Sal = 0,0001
Catuca\u00ed	168,32 Ba	252,88 Ab	cv = 0,0001
			Sal x cv = 0,0001
Enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) - 135 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obat\u00e3	180,05 Ba	310,94 Aa	Sal = 0,0001
Catuca\u00ed	171,50 Ba	276,72 Ab	cv = 0,0002
			Sal x cv = 0,002
Enzima Catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) - 165 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obat\u00e3	188,49 Ba	349,02 Aa	Sal = 0,0001
Catuca\u00ed	182,34 Ba	306,28 Ab	cv = 0,008
			Sal x cv = 0,028

DAT= Dias Ap\u00f3s o Transpl\u00e2ntio; NaCl= Sal. M\u00e9dias seguidas da mesma letra min\u00fascula nas colunas ou mai\u00fascula nas linhas n\u00e3o diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Estes resultados de maneira geral confirmam que altera\u00e7\u00f5es bioqu\u00edmicas parte das respostas das plantas submetidas a tratamento salino com varia\u00e7\u00f5es importantes no teor de prote\u00ednas sol\u00faveis totais (LUNDE et al., 2007). Essas altera\u00e7\u00f5es podem afetar processos fisiol\u00f3gicos e metab\u00f3licos acarretando um grande dano para o crescimento e desenvolvimento dos organismos vegetais.

Normalmente, sob estresse salino ocorre redução no teor de proteínas solúveis das plantas pela limitação da síntese proteica ou pela ativação do processo de proteólise (SILVEIRA et al., 2003; PARIDA e DAS, 2005). Em geral, as plantas acumulam reservas na forma de aminoácidos, amidas e proteínas solúveis e o conteúdo dessas moléculas são variáveis entre as espécies (MELONI et al., 2008).

Leonardo (2003); Tonin (2005) e Silva et al. (2012) demonstraram também em seus resultados que o alto índice salino interferiu no teor de proteínas solúveis totais em plantas de pimentão e jatobá respectivamente. Já pelo trabalho de Rolão (2010), plantas de cafeeiro (*C. arábica*) expostas a metais pesados, outro agente estressor, não houve diferenças significativas para o teor de proteínas solúveis totais entre as doses aplicadas e seus controles. Dessa forma, autores como Sen et al. (2002); Tester e Davenport (2003), citam que há uma ampla cv. de proteínas sintetizadas em resposta ao estresse salino, as quais podem também atuar na estabilização das membranas celulares e na sinalização sugerindo uma ação protetora contra os danos frente a esse agente estressor.

Em relação a atividade de enzimas do sistema de resposta antioxidativo, em condições de estresse salino e/ou hídrico, as respostas bioquímicas como a atividade da Superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) são bastante complexas. Sabe-se que um incremento na atividade dessas enzimas pode estar relacionado com a ativação das defesas antioxidativas para a desintoxicação de células e minimização dos efeitos gerados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) (ASHRAF e HARRIS, 2004).

Em plantas submetidas a elevados índices salinos, dois componentes são responsáveis pela desordem nos processos metabólicos: um osmótico e outro iônico, onde o primeiro altera o balanço hídrico da planta, enquanto o segundo é responsável pelos efeitos sobre o desbalanceamento nutritivo e efeitos tóxicos dos íons Na^+ (LÄUCHLI e GRATTAN, 2007; MUNNS e TESTER, 2008), fator esse que promove a formação de EROs.

Sozharajan e Natarajan (2013) confirmaram que a concentração salina em folhas de *Excoecaria agallocha* causou aumento gradual na atividade enzimática da catalase nas concentrações de 100, 200, 300 Mm, já nos outros tratamentos (400, 500 mM) a atividade dessa enzima teve diminuição.

4.6.7.4 Atividade enzimática da nitrato redutase (NR)

No ensaio de inverno, a atividade enzimática da NR em plantas de cafeeiro submetidas à salinidade diminuiu drasticamente em função da salinidade no transcurso do experimento (Figura 39). Desde a imposição do primeiro ciclo de ES, as plantas tratadas com o sal, apresentaram queda considerável na atividade dessa enzima. Mesmo que haja sido aplicada a fase de recuperação, as plantas não conseguiram reverter o dano iônico causado pelo NaCl, o qual foi evidenciado nitidamente ao final do ciclo 2 onde as margens das folhas tornaram-se necrosadas. Entre as cultivares não existiu diferença significativa.

No verão, o efeito da inibição da NR pela salinização das plantas também foi detectado de forma similar, sendo que neste caso, houve diferenças varietais, quando a cv. Obatã foi significativamente superior a cv. Catucaí (Figura 40). Este resultado somado a outros já reportados, reforça a capacidade de resposta da cv. Obatã, em responder à salinidade quando comparada a cv. Catucaí.

Figura 39. Atividade da enzima Nitrato Redutase em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).

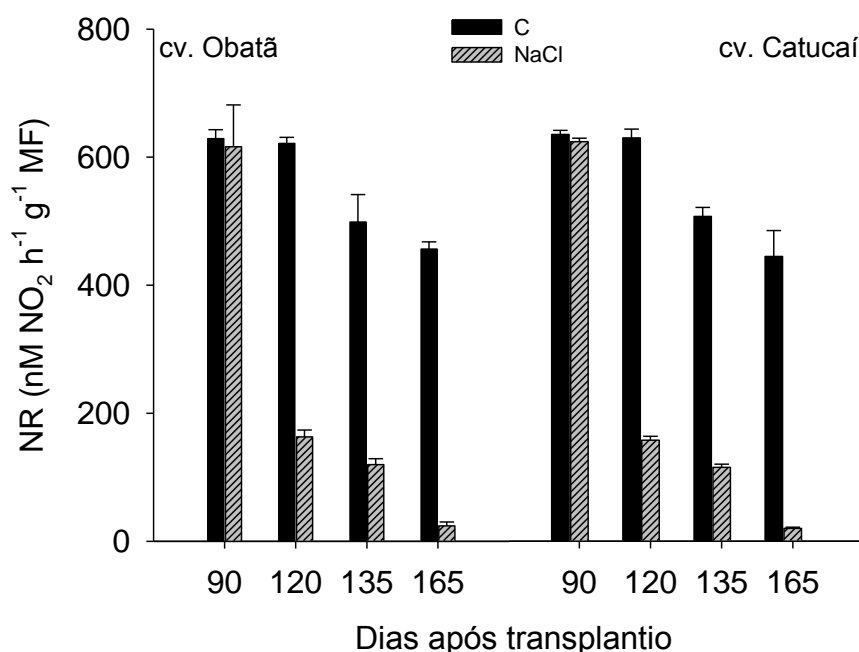
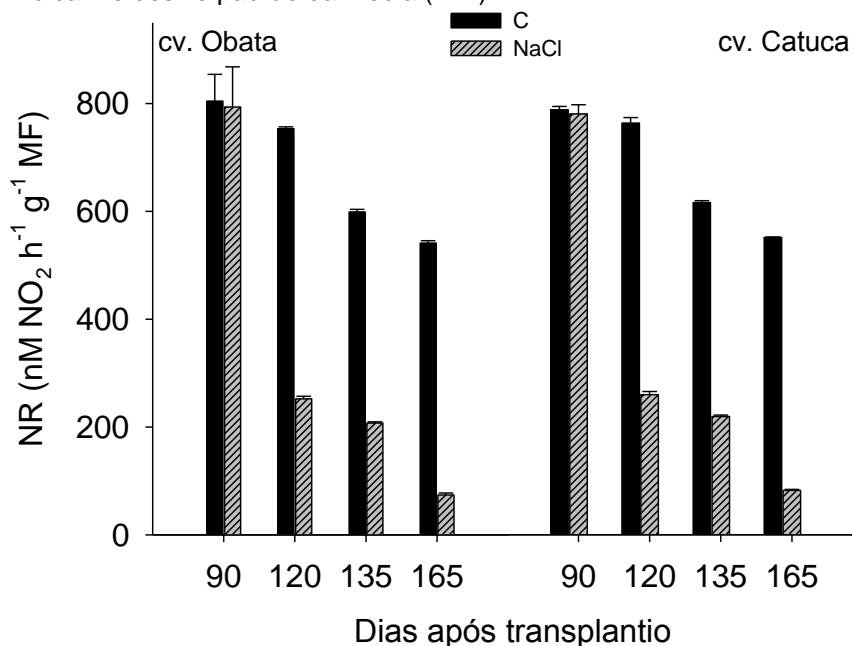


Figura 40. Atividade da enzima Nitrato Redutase em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Verão). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



Resultados similares foram reportados em mudas de tomateiro submetidas à salinidade, apresentando-se diminuição paralela na atividade da NR conforme o aumento da concentração do NaCl. A redução da atividade enzimática foi evidenciada para as concentrações de 25, 50 e 100 mM, respectivamente (DEBOUBA et al., 2006). Esses autores atribuíram a inibição ou redução da atividade enzimática da NR ao possível acúmulo do Cl^- e Na^+ no citosol. Neste sentido, existem outros pesquisadores que tem verificado os efeitos negativos da salinidade na absorção de nitrato na cultura de tomate (FLORES et al., 2004).

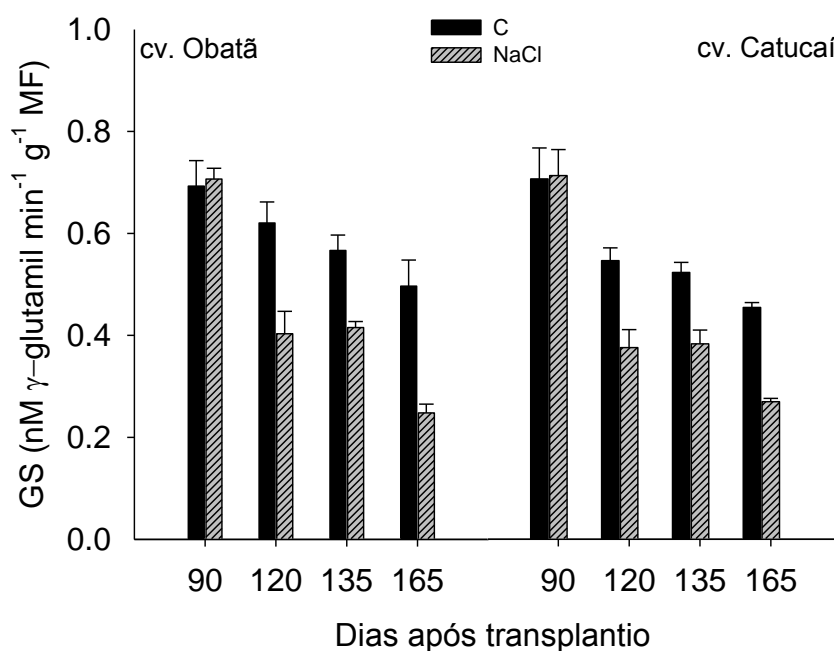
4.6.7.5 Atividade da enzima glutamina sintetase (GS)

A enzima GS é muito importante para a etapa de assimilação do íon amônio para a formação de aminoácidos. Havia a hipótese de que a salinidade deveria provocar a repressão da atividade dessa enzima além da nitrato redutase, devido a influência dos tratamentos salinos sobre a atividade fotossintética. Neste caso, as taxas fotossintéticas abastecem energeticamente (poder redutor) a atividade dessas enzimas do metabolismo de N, principalmente da Nitrato redutase e do sistema GS-GOGAT, responsáveis pela redução assimilatória do nitrato e assimilação final do

nitrogênio em aminoácidos. No presente ensaio, esta hipótese foi comprovada basicamente para as duas enzimas citadas.

No inverno, a GS apresentou atividade menor em função da aplicação dos dois ciclos de salinidade, sendo que na fase de recuperação, a enzima manteve-se reprimida (Figura 41). Entre as cultivares, a cv. Obatã foi superior com maior atividade da GS no primeiro ciclo. Na sequência, do segundo ciclo, esta diferença não se confirmou. Ressalta-se que esta menor atividade da GS devido ao sal, se correlaciona bem com as taxas de assimilação de carbono (A) medidas neste período.

Figura 41. Atividade da enzima Glutamina Sintetase (GS; nM γ -glutamil $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em plantas de café cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).



No verão, este efeito de supressão da GS se repetiu em função dos tratamentos salinos, sendo que no segundo ciclo, o efeito foi muito mais drástico quando se compara ao mesmo ciclo do ensaio de inverno (Figura 42 e Tabela 108). Entre as cultivares, unicamente no ciclo 2 de ES, a cv. Obatã apresentou a maior atividade enzimática da GS. Novamente, este resultado se correlaciona bem com as menores taxas de eficiência fotossintética medidas nesse ensaio, comprovando a hipótese e o estado da arte que condicionam a dependência direta da assimilação do nitrogênio com as condições de atividade fotossintética. Evidentemente, os

resultados indicam que a glutamina sintetase mostrou-se sensível à salinidade nas folhas.

Figura 42. Atividade da enzima Glutamina Sintetase (GS; nM γ -glutamil $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 e aos 120 e 165 DAT (Ensaio de salinidade-Verão). C=Controle; NaCl=Sal. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (n=4).

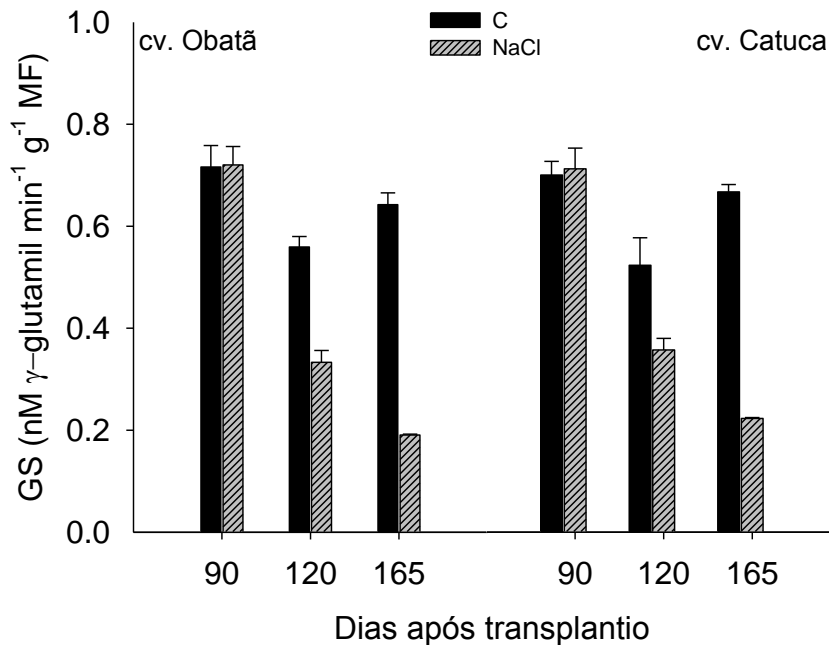


Tabela 108. Desdobramento da interação para atividade da enzima Glutamina Sintetase (GS; nM γ -glutamil $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 135 DAT (Ensaio de salinidade-Verão).

Glutamina Sintetase (GS; nM γ-glutamil $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) - 135 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	0,54 Aa	0,32 Ba	Sal = 0,0001
Catucaí	0,51 Aa	0,36 Ba	cv = 0,896
			Sal x cv = 0,022

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

Semelhante aos resultados obtidos nos ensaios de inverno e verão, Debouba et al. (2006) ao estudarem os efeitos do NaCl em mudas de tomateiro observaram que a atividade da GS em plantas salinizadas foi maior nas raízes em comparação com as folhas, ressaltando-se que a atividade enzimática diminuiu paralelamente com o aumento da concentração do cloreto de sódio, apresentando-se este comportamento de maneira similar para ambos os órgãos vegetais.

Resultados similares também foram reproduzidos em plantas de caju desenvolvidas com solução nutritiva (SN), induzindo a salinidade com NaCl, o qual foi adicionado à SN em concentrações de 100 mol m⁻³ durante 8 dias ou 50 e 100 mol m⁻³ durante 30 dias. Os resultados revelaram que aos 2, 4 e 8 dias após a imposição dos tratamentos (100 mol m⁻³) a atividade da GS nas folhas foi incrementada, repetindo-se o mesmo comportamento para os tratamentos com 50 e 100 mol m⁻³ (durante 30 dias) e que o acréscimo na atividade enzimática se intensificou com o aumento da concentração do sal na SN (SILVEIRA et al., 2003).

4.6.7.6 Concentração de L-prolina

Este aminoácido é considerado marcador para muitas espécies vegetais, o qual se acumula em resposta a estresses físicos, em especial para estresse salino. Esta estratégia assumida por muitas espécies tem a função básica de promover ajustamento osmótico a partir dos vacúolos, diminuindo assim os efeitos iônicos causados pela salinidade. Em relação ao cafeeiro, verificou-se que a L-prolina pode ser considerado marcador, tanto para condição de inverno quanto para o cultivo de verão.

Uma estratégia metabólica utilizada pelos vegetais para manutenção do balanço das EROs e proteção contra estresses abióticos, inclui a ação de moléculas não enzimáticas e o acúmulo de solutos compatíveis como a prolina (XU et al., 2010). Este acúmulo é frequente em diversas espécies e pode ser referente ao incremento da atividade hidrolítica de proteínas motivado por danos metabólicos (MORAIS et al., 2007) ou pela diminuição da atividade de prolina desidrogenases (PARIDA e DAS, 2005) em função do excesso de íons Na⁺ Cl⁻ no meio ou pela síntese de compostos relacionados aos mecanismos que induzem ao aumento desses solutos compatíveis no meio intracelular (BRITO et al., 2008).

Em relação ao presente experimento, no inverno, registrou-se acúmulo considerável de prolina no primeiro ciclo (120 DAT) com teor praticamente em dobro, quando comparado ao controle (Tabela 109). Neste ciclo, este efeito foi positivo para as duas cultivares, porém a cv. Obatã foi mais efetiva. Na recuperação (135 DAT), não houve diminuição do teor de prolina, ao contrário do esperado pela retirada do fator estressante. Assim, no segundo ciclo (Tabela 110), também o teor de prolina foi

bem superior nas plantas salinizadas sendo que neste caso não houve desdobramento de interação.

Tabela 109. Desdobramento da interação para concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90, 120 e 135 DAT (Ensaio de Salinidade-Inverno).

L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 90 DAT			
Tratamentos			
Cultivar (cv)	Controle	NaCl	<i>p</i>
Obatã	18,89 Ba	19,72 Aa	L = 0,368
Catucaí	19,26 Aa	18,95 Ab	cv = 0,337
			Lxcv = 0,025
L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 120 DAT			
Tratamentos			
Cultivar (cv)	Controle	NaCl	<i>p</i>
Obatã	26,00 Ba	48,87 Aa	L = 0,0001
Catucaí	25,40 Ba	41,56 Ab	cv = 0,0001
			Lxcv = 0,0001
L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 135 DAT			
Tratamentos			
Cultivar (cv)	Controle	NaCl	<i>p</i>
Obatã	31,93 Ba	52,99 Aa	L = 0,0001
Catucaí	29,92 Bb	44,32 Ab	cv = 0,0001
			Lxcv = 0,0001

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 110. Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 165 DAT (Ensaio de salinidade-Inverno).

Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	
Tratamentos	Dias após o transplântio (DAT)
	165
Controle	37,24 b
NaCl	68,53 a
Cultivar (cv)	
Obatã	55,62 a
Catucaí	50,15 b
L = 0,0001	
cv = 0,0008	
L x cv = 0,058	
<i>p</i>	

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No ensaio de verão, todos os resultados descritos sobre prolina no inverno se repetiram com intensidades variadas em função dos tratamentos salinos. Antes da imposição dos tratamentos houve diferenças entre as cultivares (Tabela 111), sendo a cv. Obatã que apresentou valores superiores à cv. Catucaí. O período de recuperação não produziu novo padrão de resposta, já que nesta fase, as alterações no teor de prolina não foram significativas. Nos dois ciclos de salinização e na recuperação (Tabela 112), houve desdobramento da interação entre os tratamentos, sendo que a cv. Obatã, sempre apresentou maior acúmulo de prolina, o que provavelmente possa se traduzir em melhor adaptação dessa cultivar frente ao efeito iônico da salinidade.

Essa estratégia no acúmulo de prolina, produto da salinização elevada, contribui para oferecer proteção celular atuando de maneira antioxidante ante o estresse osmótico (TEXEIRA e PEREIRA, 2007).

Tabela 111. Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 90 DAT (Ensaio de salinidade-Verão).

Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	
Tratamentos	Dias após o transplante (DAT)
	90
Controle	23,24 a
NaCl	23,25 a
Cultivar (cv)	
Obatã	24,22 a
Catucaí	22,27 b
	Sal = 0,957
<i>p</i>	cv = 0,0002
	Sal x cv = 0,178

NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0.05$).

Tabela 112. Desdobramento da interação para concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em plantas de cafeeiro cv. Obatã e Catucaí em estufa aos 120, 135 e 165 DAT (Ensaio de Salinidade-Verão).

L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 120 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	31,43 Ba	58,53 Aa	Sal = 0,0001
Catucaí	29,26 Bb	50,27 Ab	cv = 0,0001
			Sal x cv = 0,0004
L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 135 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	42,25 Ba	65,04 Aa	Sal = 0,0001
Catucaí	38,00 Bb	56,05 Ab	cv = 0,0001
			Sal x cv = 0,0001
L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) - 165 DAT			
Cultivar (cv)	Tratamentos		<i>p</i>
	Controle	NaCl	
Obatã	53,36 Ba	91,04 Aa	Sal = 0,0001
Catucaí	48,36 Bb	78,16 Ab	cv = 0,0001
			Sal x cv = 0,0001

DAT= Dias Após o Transplântio; NaCl= Sal. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas ou maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados similares foram verificados em plantas de mostarda da Índia (*Brassica juncea* cv. Bio902 e Urvashi), as quais foram submetidas à salinidade (50, 100, 150, 200 mM de NaCl), sendo a cv. Bio902 que apresentou gradativamente o acúmulo de prolina em função da concentração de sais e do decorrer do tempo (horas). Já a cv. Urvashi mostrou comportamento similar, no entanto o acúmulo desse aminoácido foi menor (MITTAL et al., 2012). Da mesma forma, Teixeira e Fidalgo (2009) trabalhando com plantas de batata em condições de estresse salino notaram que a concentração de 100 mM causou um triplo aumento no nível desse aminoácido e que o tratamento 200 mM ocasionou acréscimo de prolina em até 6 vezes quando comparados às plantas do tratamento controle.

5 CONCLUSÃO

Deficiência hídrica

Para a maioria dos parâmetros estudados tanto relações hídricas, biometria, biomassa e índices de crescimento, detectou-se que a intensidade do estresse hídrico é um fator determinante para as respostas das duas cultivares estudadas, com destaque para os experimentos de verão.

Nestes ensaios, verificou-se que a intensidade da deficiência hídrica pode ter sido influenciada pelas condições ambientais como temperatura e fotoperíodo às quais as plantas foram expostas, gerando efeito sinérgico. Destacam-se ainda que as estratégias utilizadas pelas plantas nas diferentes estações climáticas foram mais efetivas quando se comparou o efeito da eficiência fotossintética e todos os parâmetros bioquímicos relacionados a respostas fisiológicas ao estresse.

Ressalta-se que não se observaram nitidamente alterações da relação isotópica $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ em resposta às diferentes intensidades da deficiência hídrica em plantas de cafeeiro, o que sugere pesquisas detalhadas incluindo a etapa vegetativa e reprodutiva para determinar a discriminação isotópica como uma ferramenta para o diagnóstico de estresse no cafeeiro.

Finalmente, após analisar de forma geral os resultados, pode-se concluir que a cv. Obatã se adaptou melhor em relação ao estresse imposto (níveis de DH) e também quando se comparou a época de condução dos ensaios.

Salinidade

Referente à salinidade, em geral, as plantas salinizadas acumularam menor biomassa por reflexo dos parâmetros afetados, como altura de plantas, área foliar, MF e MS de diferentes órgãos. Assim, houve pouco ou nenhum desenvolvimento de mecanismo capaz de aumentar a tolerância das plantas ao estresse salino no tocante aos parâmetros biométricos.

Muitos fatores foram alterados no sentido de aliviar o efeito tóxico dos produtos da dissociação do sal, principalmente em nível foliar. Provavelmente, as

plantas evitaram a maior parte do sal absorvido ou estabeleceram mecanismos de ajuste osmótico, conforme detectado pelo acúmulo de prolina.

Além disso, as perdas de água devido à presença de sais em excesso podem ter sido em parte evitadas por mecanismos de compensação ligados a trocas gasosas. Detectou-se que estes mecanismos foram mais preponderantes nos ensaios de verão, quando houve efeito sinérgico da salinidade com as altas temperaturas.

A atividade metabólica também pode ser apontada como fator de tolerância, que diminuiu o impacto da formação de radicais livres, a partir da ativação de enzimas antioxidativas. Entretanto, as enzimas envolvidas no metabolismo de nitrogênio (NR e GS), foram em geral fortemente reprimidas pela salinidade, sendo em parte, responsável pela diminuição do acúmulo de biomassa em plantas salinizadas.

Para os parâmetros avaliados, a cv. Obatã apresentou características adaptativas superiores às apresentadas pela cv. Catucaí. O estabelecimento de etapas de recuperação em geral não reverteu efeitos da salinidade, o que não colaborou com novos padrões de tolerância, principalmente no cultivo de verão.

REFERÊNCIAS

- ABDUL QADOS, A. M. S. Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. v.10, p.7–15, 2011.
- ABRISQUETA, I. **Balance hídrico y respuesta del melocotonero extratemprano al riego deficitário**. 2012. 238f. Tesis Doctoral - Universidad de Murcia, Murcia, 2012.
- ABID, G.; M'HAMDI, M.; MINGEOT, D.; AOUIDA M.; AROUA, I.; MUHOVSKI, Y.; SASSI, K.; SOUISSI, F.; MANNAI, K., JEBARA, M. Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in faba bean (*Vicia faba* L.), **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.63, n.4, p.536-552, 2017.
- ADIREDDY, A. L.; NAVAUD, O.; LAMAZE, T.; GRIEU, P. Leaf carbon isotope discrimination as an accurate indicator of water-use efficiency in sunflower genotypes subjected to five stable soil water contents. **Journal Agronomy and Crop Science** 200, p. 416-424, 2014.
- AHMED, B.A.; MORITANI, I.S. Effect of saline water irrigation and manure application on the available water. **Agricultural Water Management**. Auckland, v.1, n.97, p. 165–170, 2010.
- ALMEIDA, S. R; MATIELLO, J. B; CARVALHO, C. H. S; FERREIRA, I. B. Recomendação de variedades baseada na interação variedade x ambiente. MAPA/ Fundação Procafé e Embrapa Café, 2015. Disponível em: <<http://fundacaoprocafe.com.br/faq/variedades/diferen%C3%A7-entre-catucai-amarelo-2sl-e-catucai-amarelo-24137>> Acesso em: 29 sep. 2018.
- ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A. L.; SILVA, F. F. S.; RIEBEIRO-REIS, R. C.; EVANGELISTA, M. R. V.; CASTRO, R. D.; DANTAS, B. F. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.2, p. 83-92, 2010.
- ARAÚJO, G. L.; REIS, E. F.; MORAES, W. B.; GARCIA, G. O.; NAZÁRIO, A. A. Influência do déficit hídrico no desenvolvimento inicial de duas cultivares de café Conilon. **Irriga**, v.16, n.2, p.115-124, 2011.
- ARAUS, J. L., CABRERA-BOSQUET, L., SERRET, M. D., BORT, J., AND NIETO-TALADRIZ, M. T. Comparative performance of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{15}\text{N}$ for phenotyping durum wheat adaptation to a dryland environment. **Funct. Plant Biol.** v.40, p.595–608, 2013.
- ARMSTRON, D. L. P. **Lodo de esgoto alcalinizado como fonte de nitrogênio no desenvolvimento inicial da cultura do arroz**. 2006. 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Concentração Ciência do Solo) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

ATWELL, B. J., KRIEDEMANN, P. E., TURNBULL, C. G. N. 1999. *Plants in Action. Adaptation in Nature, Performance in Cultivation*. Copyright © Australian Society of Plant Scientists, New Zealand Society of Plant Biologists, and New Zealand Institute of Agricultural and Horticultural Science.

AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. Estudos FAO. Irrigação e Drenagem 29 (Revisado). Campina Grande – PB UFPB. trad: GHEYI, H.R.; MEDEIROS, J.F.; DAMASCENO, F.A.V. 1999, 218 p.

BATES, L.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p. 205-207, 1973.

BENAVIDES, M. A. “Ecofisiologia y química del estrés en plantas”, Departamento de agricultura/UAAAN, 2002.

BEN-ASHER, J.; TSUYUKI, I.; BRAVDO, B-A.; SAGIH, M. Irrigation of grapevines with saline water: I. Leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. **Agricultural Water Management**, v.83, n.1-2, p.13-21, 2006.

BENINCASA, M. M. P. Análise de crescimento de plantas. **FCAV-UNESP, Jaboticabal**, 1998.

BENNET, J.M. Problems associated with measuring plant water status. **HortScience**. v.25, p.1551-1554,1990. BERTELI, F., et al. Salt stress increases ferredoxin-dependent glutamate synthase activity and protein level in the leaves of tomato. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 93, n. 2, p. 259-264, 1995.

BLUM, A. *Plan Breeding for Estrés Environments*, Boca Raton Florida, **CRP Pres Inc.**, p. 223, 1988.

BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science, Madison**, v.21, n.1, p.43-47, 1981.

BOURSIER, P.; LYNCH, J.; LÄUCHLI, A.; EPSTEIN, E. Chloride partitioning in leaves of salt-stressed sorghum, maize, wheat and barley. **Australian Journal of Plant Physiology**. Clayton South, v.14, p. 463-473. 1987.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72 p. 248-254, 1976.

BRAZ MATIELLO, José. Cafeeiros catucaí amarelo tem menor diâmetro de copa. In: Cafépoint. Jardim Paulista, São Paulo, 5 mai. 2016. Disponível em: <<https://www.cafepoint.com.br/noticias/tecnicas-de-producao/cafeeiros-catucai-amarelo-tem-menor-diametro-de-copa-100023n.aspx>> Acesso em: 29 sep. 2018.

BRITO, G. G.; SUASSUNA, N. D.; SILVA, V. N.; SOFIATTI, V.; DIOLA, V.; MORELLO, C. L. Leaf-level carbon isotope discrimination and its relationship with yield components as a tool for cotton phenotyping in unfavorable conditions. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, n.3, p. 335-345, 2014.

BROETTO, F.; LÜTTGE, U.; RATAJCZAK, R. Influence of light intensity and salt-treatment on mode of photosynthesis and enzymes of the antioxidative response system of *Mesembryanthemum crystallinum*. **Functional Plant Biology**, Western, v. 29, p. 13-23, 2002.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). Biochemistry and molecular biology of plants. **Rockville: ASPP**. 2000. 1408p.

CAI, Z. Q.; CHEN, Y. J.; GUO, Y. H.; CAO, K. F. Responses of two field-grown coffee species to drought and re-hydration. **Photosynthetica**, v. 43, p.187-193, 2005.

CARVALHO, A. & MONACO, L.C. Transferência do fator Caturra para o cultivar Mundo Novo de *Coffea arabica*. **Bragantia**. Campinas, v.31, p.379-399, 1972.

CASTILLO, M. A. C., Establecimiento de los niveles de tolerancia al riego deficitario y empleo de agua salina em plantas autóctonas mediterrâneas com fines ornamentales. 2011. 186f. **Tesis de doctorado en Ciencias**. Universidad Politécnica de Cartagena, 2011.

Centros de pesquisa. Centro de café “Alcides Carvalho”- Produtos e serviços. Instituto Agrônômico de Campinas do Estado de São Paulo, 2018. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/cafe/centrocafe4.php>> Acesso em: 29 sep. 2018.

CÉSAR, F. R. C. F. et al. Morfofisiologia foliar de cafeeiro sob diferentes níveis de restrição luminosa. **Coffee Science**. Lavras, v. 5, n. 3, p. 262-271, 2010.

CHAVES, M. M. et al. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, n. 7, p. 907-916, 2002.

CHEN, C., TAO, C., PENG, H., DING, Y. Genetic analysis of salt stress responses in asparagus bean (*Vigna unguiculata* (L.) ssp. sesquipedalis Verdc.). **Journal of Heredity**. v.98, n.7, p.655–665, 2007.

CHEESEMAN, J.M. Mechanisms of salinity tolerance in plants. **Plant Physiology**. Waterbury, v. 87, p.547-550. 1998.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; REA, E.; CARDARELLI, M. Grafting cucumber plants enhance tolerance to sodium chloride and sulfate salinization. **Scientia Horticulturae**, v.135, p.177-185, 2012.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; LEOPARDI, C.; BIE, Z. Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. **Scientia Horticulturae**. v.127, p.147–155, 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Perspectivas para a agropecuária**. v.1, Brasília: Conab. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>.

CONDON, A.G., RICHARDS, R.A., REBETZKE, G.J. AND FARQUHAR, G.D. (2002) Improving intrinsic water-use efficiency and crop yield. **Crop Sci.** 42, 122-131.

COQUE, M.; BERTIN, P.; HIREL, B.; GALLAIS, A. Genetic variation and QTLs for ^{15}N natural abundance in a set of maize recombinant inbred lines. **Field Crops Research** v.97, p.310–321, 2006.

COSTA, R.A. As relações hídricas em plantas vasculares. *Universidade de Évora*. Portugal, 2001. Disponível em: <http://www.angelfire.com>

CRAMER, G.R.; ALBERICO, G.J. & SCHMIDT, C. Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. **Austr. J. Plant Physiol.**, 21:675-692,1994.

CUI, N., DU, T., KANG, S., LI, F., HU, X., WANG, M., LI, Z. Relationship between stable carbon isotope discrimination and water use efficiency under regulated deficit irrigation of pear-jujube tree. **Agri. Water Manage.** v.96, p.1615–1622, 2009.

CUNHA, A.R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel-SP. **Irriga**, Botucatu, v.14 ,n.1,p.1-11, 2009.

CUNNINGHAM S. A.; SUMMERHAYES, B.; WESTOBY, M. Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients. **Ecological Monographs**, v.69, p.569-588, 1999.

DA SILVA, E. C. A.; LUCENA, P. G. C.; NASCIMENTO, R. M.; SANTOS, C. A.; ARAÚJO, R. P. S.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Mecanismos bioquímicos em *Moringa oleifera* Lam. para tolerância à salinidade. **Acta Iguazu, Cascavel**, v.6, n.4, p.54-71, 2017.

DEBOUBA, M.; GOUIA, H.; SUZUKI, A.; GHORBEL, M. H. NaCl stress effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato "*Lycopersicon esculentum*" seedlings. **Journal of Plant Physiology**. v.163, p.1247-1258, 2006.

DELFINE, S.; ALVINO, A.; LORETO, F.; CENTRITTO, M.; SANTARELLI, G. Effects of water stress on the yield and photosynthesis of field-grown sweet pepper (*Capsicum annum* L.) **Acta Hort.**, v.537, p.223-229, 2000.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLES, C.A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.

DESTAIN, J.P., FONDER, N., XANTHOULIS, D., REUTER, V. 2010. L'isotope stable ^{15}N et le lysimètre, des outils complémentaires pour l'étude de la lixiviation de l'azote dans les sols agricoles. **Biotechno. Agron. Soc. and Environ.** 14, 91-96.

DIAS, L.A.S. et al. **Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) para produção de óleo combustível**.Viçosa, MG, 2007. v.1. 40p.

DÍAZ-LÓPEZ, L. et al. *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. **Agricultural Water Management** v.105, p.48–56, 2012.

DIAS, P. C.; ARAÚJO, W.L.; MORAES, G. A. B. K.; BARROS, R. S.; DaMATTa, F. M. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **J. Plant Physiol.** v.164, p.1639-1647, 2007.

DIMITROVA, V.; IVANOVA, K.; PETROV, P.; ANEV, S.; TZVETKOVA, N.; GEORGIEVA, T.; MARKOVSKA, Y. Influence of salt stress on leaf morphology and photosynthetic gas exchange in two *Lycium* species. **Compt. rend. Acad. bulg. Sci.**, v.70, n.3, p.367-374, 2017.

DOURADO NETO, D. et al. Programa SWRC (Version 3.0): **Soil-Water Retention Curve** (Software). Piracicaba: ESALQ; Davis: University of Califórnia, 1995.

DUCATTI, C.; MATSUI, E. & SALATTI, E; Fundamentos teóricos dos fatores de correção para a análise das variações relativas das razões $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ por espectrometria de massa. **Energ. Nucl. Agric.** 4 (1): 41-58, 1982.

ECHER, F.R., et al. Estresse hídrico induzido por manitol em cultivares de algodão. **Revista Ciência Agronômica.** Fortaleza, v.41, p.4, p.638-645, 2010.

ELLIOTT, W. H. Isolation of glutamine synthetase and glutamotransferase from green peas. **Journal of Biological Chemistry**, v. 201, p. 661-672, 1953.

EL-SHIHABY, Q. A.; NEMAT ALLA, M. M.; YOUNIS, M. E.; EL-BASTAWISY, Z. M. Effect of kinetin on photosynthetic activity and carbohydrate content in waterlogged or seawater-treated *Vigna sinensis* and *Zea mays* plants. **Plant Biosyst**, v.136, p.277-290, 2003.

ENGELS, C.; MARSCHNER, H. Plant uptake and utilization of nitrogen. In: BACON, P. E. (Ed.). Nitrogen fertilization in the environment. **New York: Marcel Dekker**, p.41-81, 1995.

EVANS, R. D. Physiological mechanism influencing plant nitrogen isotope composition. **Trends in Plant Science**, v.6, p.121–126, 2001.

FAO-Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. 2013. **Agricultural Production/strawberry**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>.

FARQUHAR, G.D., M.C. BALL, S. VON CAEMMERER, AND Z. ROKSANDIC. Effect of salinity and humidity on $\delta^{13}\text{C}$ value of halophytes— Evidence for diffusional isotope fractionation determined by the ratio of intercellular/atmospheric partial pressure of CO_2 under different environmental conditions. **Oecologia** 52:121–124, 1982.

FARRANT, J. M. A comparison of mechanism of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. **Plant Ecology, Dordrecht**, v. 151, p. 29-39, 2000.

FAZUOLI, L. C. Cultivares de café arábica do IAC e tendências atuais do melhoramento. In: VIII Simpósio de pesquisas de café do Brasil, Salvador. **Anais...**Brasília, DF EMBRAPA Café, 2012.

FERNANDES, A. L. T, et al. A Moderna cafeicultura dos cerrados brasileiros. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v. 42, n. 2, p. 231-240, 2012.

FERNANDES, A. L. T.; SANTINATO, R. Irrigação de café no Brasil. Anuário do café - **Revista Campo & Negócios**. Altamira. p.45-47, 2010.

FIGUEIRÊDO, V.B.; FARIA, M.A.; SILVA, E.L. Crescimento inicial do cafeeiro irrigado com água salina e salinização do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.10, n.1, p.50-57, 2006.

FLANAGAN, L.B., AND R.L. JEFFERIES. Effect of increased salinity on CO₂ assimilation, O₂ evolution and the δ¹³C values of leaves of *Plantago marítima* L. developed at low and high NaCl levels. **Planta** 178:377–384, 1989.

FLORES, P.; BOTELLA, M. A.; CERDÁ, A.; MARTÍNEZ, V. Influence of nitrate level on nitrate assimilation in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants under saline stress. **Can J Bot.** v.82, p.207–213, 2004.

FRANK, A.B. and BERDAHL, J. D. Gas exchange and water relations in diploid and tetraploid Russian wildrye. **Crop Sci.** v. 41, p.87-92, 2001.

FREITAS, J. B. S. Respostas fisiológicas ao estresse salino de duas cultivares de feijão-caupi. 2006. 136f. **Tese de Doutorado**-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2006.

FRIES, D. D.; DEUNER, S.; ALVES, J. D.; GOULART, P. F. P.; LIMA, A. A.; ZANANDREA, I.; SILVEIRA, N. M.; HENRIQUE, P. C. Capacidade antioxidante em plantas de cafeeiro submetidas a diferentes regimes hídricos. **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil** (5.: 2007 : Águas de Lindóia, SP). Anais. Brasília, D.F.: Embrapa Café, 2007.

GARCÍA, B.L.; ALCÁNTARA, L.P. E FERNÁNDEZ, J.L.M . Soil tillage effects on monovalent cations (Na⁺ and K⁺) in vertisols soil solution. **Catena**. v. 84, p. 61–69.2011.

GARCÍA-LEGAZ, M. F.; ORTIZ, J. M.; GARCÍA-LIDON, A. G.; CERDÁ, A. Effect of salinity on growth, ion content and CO₂ assimilation in lemon varieties on different rootstock. **Physiol. Plant.** v.89, p.427–432, 1993.

GARG, N AND MANCHANDA, G. ROS generation in plants: boon or bane? **Plant Biosys.** 143, 8-96, 2009.

GIANNOPOLITIS, C.N., REIS, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**. Waterbury, v.59, p.309-314, 1997.

GIUFFRIDA, F.; GRAZIANI, G.; FOGLIANO, V.; SCUDERI, D.; ROMANO, D.; LEONARDI, C. Effects of nutrient and NaCl salinity on growth, yield, quality and composition of pepper grown in soilless closed system. **Journal of Plant Nutrition**, v.37, p.1455–1474, 2014.

GILL, S. S. AND TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiol Bioch.** v.48, p.909-930, 2010.

GOLOVINA, E.A., HOEKSTRA, F.A., HEMMINGA, M.A. Drying increases intracellular partitioning of amphiphilic substances into the lipid phase: impact on membrane permeability and significance for desiccation tolerance. **Plant Physiology**, v.118, p.975-986, 1998.

GUY, R.D., D.M. REID, AND H.R. KROUSE. Shifts in carbon isotope ratios of two C₃ halophytes under natural and artificial conditions. *Oecologia* 44:241–247, 1980.

GOPAL, N.H. Same physiological factors to be considered for stabilization of arabica coffee production in South India. **Indian Coffee**, Bangalore, v.38, n.8, p.217-221, 1974.

HERMS, D.A.; MATTSON, W.J. The dilemma of plants: to grow or defend. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v.67, n.3, p.283-335, 1992.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 6, n. 9, p. 431-438, 2001.

HOEKSTRA, F.A., GOLOVINA, E.A. The role of amphiphiles. **Comparative Biochemistry and Plant Physiology**, v.131, p.527-533, 1997.

Relatório sobre o mercado de café_dezembro 2016, da OIC. Disponível em: http://www.consorciopesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/publicacoes-relatorio_oic_dezembro_2016.pdf

JAMAUX, I.; STEINMETZ, A.; BELHASSEN, E. Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustment in sunflower. **New Phytologist**, Oxford, v. 137, p. 117-127, 1997.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 43, p. 1274-1279, 1971.

JENNINGS, D. H. Halophytes, succulence and sodium in plants - a unified theory. **New Phytol**, v.67, p.899-911, 1968.

KARASAWA, S.; SILVA, R.A. da; MIRANDA, J.H. de; DUARTE, S.N. Comportamento de mudas de café submetidas à irrigação com diferentes níveis de salinidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 29, Fortaleza, 2000. Anais...CD Rom.

KARASAWA, S.; EGUCHI, E. S.; MIRANDA, J. H.; DUARTE, S. N.; KARASAWA, M. M. G. Desenvolvimento de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) irrigadas com água salina. **Engenharia Rural**, v.14, n.único, 2003.

KAREN, W.; ANTHONY, R. Y.; TIMOTHY, J. F. Effects of salinity and ozone, individually and in combination on growth and ion contents of two chickpea (*Cicer aritinum* L.) varieties. **Environ. Pollut**, v.120, n.2, p. 397-403, 2002.

KLIPPEL, V. H.; PEZZOPANE, J. E. M.; PEZZOPANE, J. R. M.; TOLEDO, J. V. Impacto da deficiência hídrica no crescimento inicial de eucalipto. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 23, n. 1, p. 48– 59, 2014.

KOYRO H.-W., B. HUCHZERMEYER, CH. ZÖRB Reactive oxygen species generation, hazards, and defense mechanisms in plants under environmental (abiotic and biotic) stress conditions. In: Handbook of Plant and Crop Physiology (ed. M. Pessaraki), CRC Press, p. 487-507, 2014.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. Water relations of plants and soils. **Academic Press**, San Diego, p 495, 1995.

KRISZAN, M., AMELUNG, W., SCHELLBERG, J., GEBBING, T., KÜHBAUCH, W. Long-term changes of the $\delta^{15}\text{N}$ natural abundance of plants and soil in a temperate grassland. **Plant Soil** 325, 157-169. 2009.

LAFUENTE, M. T. et al. Effect of temperature conditioning on chilling injury of cucumber cotyledons: possible role of abscisic Acid and heat shock proteins. **Plant physiology**, v. 95, n. 2, p.443-449,1991.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. PRADO, C. H. B. A. (Trad.). São Carlos: Rima, 2006. 531p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2000. 531 p.

LARCHER, W. Physiological Plant Ecology, Berlin, Heidelberg, Springer-Verlang, p. 506, 1995.

LAWLOR, D. W. The effects of water deficit on photosynthesis. N. Smirnoff (Ed.), Environment and Plant Metabolism, **Bios Scientific Publishers, Oxford**, p.129-156, 1995.

LEE, D. W.; BREMMEIER, S.; SMITH, A. P. The selective advantage of anthocyanins in developing leaves of mango and cacao. **Biotropica**, v. 19, p. 40-49, 1987.

LEITE JÚNIOR, J.B. **Fertirrigação por gotejamento e seu efeito na cultura do café em formação**. 2003. 108 f. Dissertação (Doutorado em Irrigação e Drenagem) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

LEONARDO, M. **Estresse salino induzido em plantas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) e seus efeitos sobre a produtividade e parâmetros agronômicos e bioquímicos**. 2003. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Irrigação e Drenagem) Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

LI, C. Y.; BERNINGER, F.; KOSKELA, J.; SONNINEN, E. Drought responses of *Eucalyptus microtheca* provenances depend on seasonality of rainfall in their place of origin. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.27, p.231-238, 2000...

LIU, J.; ZHU, J.K. Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt hypersensitive mutant of arabidopsis. **Plant Physiology**, Waterbury, v.114, n.2, p.591-596, 1997.

LOPES, A. P.; LUCIO, A. A.; SILVA, F. F. S.; SILVA, P.P.; DANTAS, B.F. Crescimento inicial de plântulas de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.) submetidas ao estresse salino. In: II Jornada Científica PIBIC-FACEPE/CNPq/EMBRAPA, 2007, Petrolina-PE. Anais. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido, 2007.

MAES, W. H. et al. Plant-water relationships and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. **Journal of Arid Environments**, v. 73, p. 877-884, 2009.

MAFAKHERI, A.; SIOSEMARDEH, A.; BAHRAMNEJAD, B.; STRUIK, P. C.; SOHRABI, Y. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. **Australian Journal of Crop Science**. v.5 (10), p.1255-1260, 2011.

MAHMOUD, A.A.; MOHAMED, HF. Impact of Biofertilizers Application on Improving Wheat (*Triticum aestivum* L.) Resistance to Salinity. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**. v.4, n.5, p. 520-528. 2008.

MARCONATO, A. R. **Estado da Arte na fertirrigação do cafeeiro**. 2012. 41f. Monografia (Trabalho de Graduação em Tecnologia em Mecanização em Agricultura de Precisão) – Faculdade de Tecnologia “Shunji Nishimura”, Pompéia, 2012.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. **Academic Press, Amsterdam**, The Netherlands, 2002.

MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, B. Estudio de la absorción y translocación del nitrógeno en cítricos en función del aporte estacional del abono nitrogenado, mediante la técnica de dilución isotópica. **Tesis Doctoral**. Valencia. 2010.

MARTINS, C. C.; REIS, E. F.; BUSATO, C.; PEZZOPANE, J. E. M. Crescimento inicial do café Conilon (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) sob diferentes lâminas de irrigação. **Engenharia na Agricultura**, v.14, n.3, p.193-201, 2006.

MATEO, M.A., FERRIO, P., ARAUS, J.L. Isotopos estables en ecofisiologia vegetal. La Ecofisiologia Vegetal. Una ciencia de sintesis. Reigosa M.J., Pedrol N. y Sanchez-Moreiras eds. **Paraninfo S.A.** pp 113-160. 2004.

MATIELLO, J.B. Evolução da salinidade e comportamento do cafeeiro em área irrigada por gotejamento em Brejões - BA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA CAFEEIRA, 25, 1999, Franca. **Anais...Franca**: MAPA/PROCAFÉ, 1999. p.185.

MATHUR, N., SINGH, J., BOHRA, S., BOHRA, A., VYAS, A. Biomass production, productivity and physiological changes in moth bean genotypes at different salinity levels. **Am. J. Plant Physiol.** v.1, n.2, p.210–213, 2006.

MEDEIROS, J. F. DE; GHEYI, H. R. A qualidade da água de irrigação. **Boletim Técnico**, 22, Mossoró: ESAM, 1994. 60p.

MEDINA, S.; VICENTE, R.; AMADOR, A.; ARAUS, J. L. Interactive effects of elevated [CO₂] and water stress on physiological traits and gene expression during vegetative growth in four durum wheat genotypes. **Frontiers in Plant Science**.v.7:1738, 2016.

MELONI, D. A.; GULOTTA, M. R.; MARTÍNEZ, C. A. Salinity tolerance in *Schinopsis quebracho colorado*: seed germination, growth, ion relations and metabolic responses. **Journal of Arid Environments**. Trelew, n. 72, p. 1785-1792, 2008.

MELONI, D. A.; OLIVA, M. A.; MARTINEZ, C. A.; CAMBRAIA, J. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.49, n.1, p.69-76, 2003.

MEMON, S. A., HOU, X.; WANG, L. J. Morphological analysis of salt stress response of pak Choi. **Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.** v.9, n.1, p.248-254, 2010.

MIDDELBOE, V. Y JOHANSEN, H.S. Analysis of nitrogen, carbon and oxygen isotope ratios by optical emission spectrometry. In: Soil Analysis. Modern Instrumental Techniques (KA Smith, ed.) Marcel Dekker, Inc., New York, USA. Pp: 433-464. 1990.

MITTAL, S.; KUMARI, N.; SHARMA, V. Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. **Plant Physiology and Biochemistry**. v.54, p.17-26, 2012.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trend. Plant Sci.**, v.9, p.405-410, 2002.

MOHAMMED W, ASTATIKIE T (2010) Growth response of arabica coffee (*Coffea arabica*, L.) varieties to soil moisture deficit at the seedling stage at Jimma, South west Ethiopia. **J Food Agric Environ** 8(1):195–200.

MORAIS, F.A, et al. A. Influência da irrigação com água salina na cultura do girassol. **Revista Ciência Agronômica**. Fortaleza, v.42, n.2, p.327-336, 2011.

MORAN, J. F.; BECANA, M.; ITURBE-ORMAETXE, I.; FRECHILLA, S.; KLUCAS, R. V.; APARICIO-TEJO, P. Drought induces oxidative stress in pea plants. **Planta**. v.194, p.346-352, 1994.

MUNNS, R. Plant adaptations to salt and water stress: differences and commonalities, **Adv. Bot. Res.**, v.57, p.1-32, 2011...

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v.59, p.651-681, 2008.

MUNNS, R.; TERMAAT, A. Whole plant responses to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**. Clayton South, v. 13, n.143, p.160, 1986.

MURILLO-AMADOR, B.; NIETO-GARIBAY, A.; TROYO-DIÉGUEZ, E.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, J. L.; HERNÁNDEZ-MONTIEL, L.; VALDEZ-CEPEDA, R. D.Moderate salt stress on the physiological and morphometric traits of *Aloe vera* L. **Botanical Sciences**, v.93, n.3, p.639-648, 2015.

NACEUR-KHELIL, M., REJEB, S., HENCHI, B., DESTAIN, J.P. Effects of Irrigation Water Quality and Nitrogen Rate on the Recovery of ¹⁵N Fertilizer by Sorghum in Field Study Communications in Soil Science and Plant Analysis, 44, 2647-2655. 2013.

NAGASUGA, K.; KADOWAKI, M.; UCHIDA, S.; KAJI, H.; Atsushi FUKUNAGA, A.; UMEZAKI, T. Effects of water condition on soybean (*Glycine max* L.) plant growth after flowering. **Environ. Control Biol.**, v.52, n.4, p.221-225, 2014.

NAKAYAMA, N.; SANEOKA, H.; MOGHAIEB†, R. E. A.; PREMACHANDRA‡, G. S.; FUJITA, K. Response of growth, photosynthetic gas exchange, translocation of ¹³C-labelled photosynthate and N accumulation in two soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars to drought stress. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.9, n.5, p.669-674, 2007.

NAZAR R.; IQBAL N.; SYEED S.; KHAN N. A. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. **Jornal Plant Physiology**. Ontario, n.168, p. 807–815. 2011.

NETO, E. B e NOGUEIRA, R. J. M. C. Estudo comparativo do crescimento de plantas de tomate e milho sob condições de salinidade. **Braz. Arch. Biol. technol.** v.42, n.4, 5p, 1999.

NEVES, A.L.R., et al. Trocas gasosas e teores de minerais no feijão-de-corda irrigado com água salina em diferentes estádios. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina grande, v.13, p. 873-881, 2009.

NOBEL, P. S. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. **Acad. Press. New York.** 488 pp. 1991.

NOBEL, P. S.. Biophysical plant physiology and ecology. W. H. Freeman Co., S. Francisco. 608 pp. 1983.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA, E. C. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas.** Recife: Imprensa Universitária, p. 22-31. 2005.

OLIVER, A. E. et al. Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying. **Cryobiology**, San Diego, v. 43, p. 151-167. 2001.

PACHECO, C. M.; PESTANA-CALSA, M. C.; GOZZO, F. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; MENOSSE, M.; CALSA JUNIOR, T. Differentially delayed root proteome responses to salt stress in sugar cane varieties. **Journal of Proteome Research**, v.12, p.5681-5695, 2013.

PASSARAKLI, M. Water utilization and soil salinity control in arid-zone agriculture. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.22, n.17-18, p.1787-1796, 1991.

PASSIOURA, J. B. Drought and drought tolerance. In: BELHASSEN, E. **Drought tolerance in higher plants: genetical, physiological and molecular biological analysis.** Dordrecht: Kluwer, p. 1-5. 1982.

PASTORI, G. M.; FOYER, C. H. Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of "redox" and abscisic acid-mediated controls. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 129, p. 460-468, 2002.

PEIXOTO, P. H. P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal.** Londrina, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

PINHEIRO, H. A. et al. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L) seedlings subjected to salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v.27, n.3, p.385-392, 2008.

PIZETTA, S.C. et al. Influência do déficit hídrico no desenvolvimento inicial do cafeeiro conilon. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.8, n.15; p. 1090-1101, 2012.

POMPELLI, M.F. et al. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. **Biomass and Bioenergy**, v.34, p.1207-1215, 2010.

PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GREYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. In: **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados.** Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.143-159, 2010.

QUIÑONES, A., MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, B., MIGUEL-MARTÍNEZ, J., FORNER-GINER, M.A., IGLESIAS, D.J., PRIMO-MILLO, E., LEGAZ, F. Fate of ¹⁵N-Labeled Potassium Nitrate in Different Citrus-Cultivated Soils: Influence of Spring and Summer Application. **Soil Science and Plant Nutrition**, 58, 659-669. 2012.

RAD, M. H.; ASSARE, M. H., BANAKAR, M. H.; SOLTANI, M. Effects of different soil moisture regimes on leaf area index, specific leaf area and water use efficiency in eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) under dry climatic conditions. **Asian Journal of Plant Sciences**, v.10, p.294-300, 2011.

RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A. M. C. (Eds). 2^a. Ed.rev. Campinas: IAC - (**Boletim Técnico, 100**), p. 182, 1997.

RAHNAMA, H and EBRAHIMZADEH, H. The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedlings. **Biologia Plantarum**, v.49, n.1, p. 93-97, 2005.

RAUL, L.; ANDRES, O.; ARMADO, L.; BERNARDO, M.; ENRIQUE, T. Response to salinity of three grain legumes for potential cultivation in arid areas (plant nutrition). **Soil Sci. Plant Nutr.** v.49, n.3, p. 329-336, 2003.

RHEIN, A. F. L.; CRUZ, F. J. R.; FERRAZ, R. L. S. SANTOS, D. M. M. Crescimento radicular e pigmentos clorofilianos em duas forrageiras submetidas a níveis crescentes de NaCl. **Científica**, Jaboticabal, v.43, n.4, p.330-335, 2015.

RODRIGUEZ, R. R. et al. Crescimento inicial do cafeeiro conilon sob déficit hídrico no solo. **Coffee Science**, Lavras, v. 11, n. 1, p. 33-38, jan./mar. 2016.

ROMERO-TRIGUEROS C., NORTES, P.A., ALARCÓN JJ. NICOLÁS, E. ¹⁵N Stable isotope natural abundances for assessing nitrogen use efficiency using reclaimed water in grapefruit. **Environmental Engineering and Management Journal**. 2014.

RUI, L., WEI, S.; MU-XIANG, C.; CHENG-JUN, J.; MIN, W.; BO-PING, Y. Leaf anatomical changes of *Burquiera gymnorhiza* seedlings under salt stress. **J. Trop. Subtrop. Bot.** v.17, n.2, p.169-175, 2009.

SACKEL K., AHMADI H., BIASI W., BUCHNER R., GOLDHAMER D., GURUSINGHE S., HASEY J., KESTERD., KRUEGER B., LAMPINEN B., MCGOURTY G., MICKE W., MITCHAM E., OLSON B., PELLETRAU K., PHILIPS H. RAMOS D., SCHWANKL L., SIBBETT S., SNYDER R., SOUTHWICK S., STEVENSON M., THORPE M., WEINBAUM S., YEAGER J., Plant water status as an index of irrigation need in deciduous fruit trees. **HortTechnology**, 7, 23-29. 1997.

SÁNCHEZ-DÍAZ, M., AGUIRREOLEA, J. Relaciones hídricas. En: fisiología y Bioquímica Vegetal. (Azcon-Bieto, J., Talon, M., Coord.), **Interamericana. McGraw Hill**. 49-90 pp. 1993.

SANTANA T. A. de. Relações hídricas e assimilação de carbono em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob deficiência hídrica. 60f. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Estadual de Santa Cruz, 2012.

SAPETA, H.; COSTA, J. M.; LOURENÇO, T.; MAROCO, J.; VAN DER LINDE, P.; OLIVEIRA, M. M. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v.85, p.76-84, 2013.

SAVÉ, R., et al. Gas exchange and water relations. In. RODA, F. (Ed), **Ecology of Mediterranean Evergreen Oak forest**. Springer, Berlin, Germany, p.135-147. 1999.

SCALON, S. P. Q.; KODAMA, F. M.; DRESCH, D. M.; MUSSURY, R. M.; PEREIRA, Z. V. Gas exchange and photosynthetic activity in *Hancornia speciosa* gomes seedlings under water deficit conditions and during rehydration. **Biosci. J., Uberlândia**, v.31, n.4, p.1124-1132, 2015.

SCHOLANDER, P.F., et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy Science**, v.51, p.119-125. 1965.

SEEL, W. E.; HENDRY, G. A. F.; LEE, J. A. The combined effect of desiccation and irradiance on mosses from xeric and hydric habitats. **J Exp Bot.** v.43, p.1023-1030, 1992.

SHAHEEN, R.; HOOD-NOWOTNY, R. C. Effect of drought and salinity on carbon isotope discrimination in wheat cultivars. **Plant Science**, v.168, n.4, p.901-909, 2005.

SHAO, H. B. et al. Investigation on the relationship of proline with wheat anti-drought under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 53, p. 113–119, 2008.

SHVALEVA, A.L., et al. Metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought sensitivity. **Tree Physiology**. v26, p.239-248. 2006.

SILVA, P. F.; MATOS, R. M.; BARROS, A. C.; SILVA, E. M.; DUARTE, S. N. Índices foliares do tomateiro sob níveis de salinidade do solo e manejo da fertirrigação. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.11, n.3, p.67-75, 2015.

SILVA, E. C.; SILVA, M. F. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B. Growth evaluation and water relations of *Erythrina velutina* seedlings in response to drought stress. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.22, n.4, p.225-233, 2010.

SILVA, E. F. F. **Manejo da fertirrigação e controle da salinidade na cultura do pimentão utilizando extratores de solução do solo**. Tese (Doutorado em Agronomia/Irrigação e Drenagem) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba – SP, p.136, 2002.

SILVEIRA, J. A. G.; VIÉGAS, R. A.; ROCHA, I. M. A.; MOREIRA, A. C. O. M.; MOREIRA, R. A.; OLIVEIRA, J. T. A. Proline accumulation and glutamine synthetase activity are increased by salt-induced proteolysis in cashew leaves. **J. Plant Physiol.** v.160, p.115-123, 2003.

SIMÕES, W. L.; CALGARO, M.; COELHO, D. S.; SANTOS, D. B.; SOUZA, M. A. Growth of sugar cane varieties under salinity. **Rev. Ceres, Viçosa**, v.63, n.2, p.265-271, 2016.

SMIRNOFF, N. Metabolic flexibility in relation to the environment. In: **Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation**. Oxford: Bios Scientific publishers, p. 1-13. 1998.

SOLOMINOS, S. A. **Ruta de transducción de señal del ácido abscísico: Regulación por HAB1 y dianas de interacción. La inactivación combinada de PP2Cs como herramienta iotecnológica para incrementar la tolerância a sequia em plantas**. 2010. 135f. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valência, 2010.

SOLOMON, A.; BEER, S.; WAISEL, G.; JONES, P.; PALEG, L.G. Effects of NaCl on the carboxylating activity of Rubisco from *Tamarix jordanis* in the presence and absence of proline-related compatible solutes. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.90, n.1, p.198-204, 1994.

SOUZA, G.B., et al. Salinidade do substrato contendo biofertilizante para formação de mudas de maracujazeiro amarelo irrigado com água salina. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.21, n.2, p.172-180, 2008.

SOUZA, C.R., MAROCO, J., SANTOS, T., RODRIGUES, M.L., LOPES, C.M., PEREIRA, J., CHAVES, M.M. Impact of deficit irrigation on water use efficiency and carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) of field-grown grapevines under Mediterranean climate. **J. Exp. Bot.** v.56, p. 2163–2172, 2005.

SOZHARAJAN, R and NATARAJAN, S. Antioxidant enzymes activity in leaves of salt stressed *Excoecaria agallocha* L. **Asian Pacific Journal of Reproduction**. v.2, n.4, p.304-308, 2013.

SPOMER, L.A. Techniques for measuring plant water. **HortScience**, v.20, p. 449-484, 1985.

STĘPIEŃ, P AND KŁBUS, G. Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. **Biologia Plantarum**, v.50, n.4, p.610-616, 2006.

SUCRE, E.B.; TUTTLE, J.W.; FOX, T.R. The use of ground-penetrating radar to accurately estimate soil depth in rocky forest soils. **Forensic Science**. Catambria, v.57, n.1, p.59-66, 2011.

TAIZ, L., ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3ª ed., **Artmed**, Porto Alegre, 719 p. 2008.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. dos. Avaliação do crescimento e produção de clones de *Eucalyptus* submetidos a diferentes manejos de irrigação. **Cerne**, Lavras, v. 13, n. 1, p. 1-9, 2007.

TÁVORA, F.J.A.F.; FERREIRA, R.G. E HERNANDEZ, F.F.F. Crescimento e relações hídricas em plantas de goiabeira submetidas a estresse salino com NaCl. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.12, 2001.

TEIXEIRA, J.; FIDALGO, F. Salt stress affects glutamine synthetase activity and mRNA accumulation on potato plants in an organ-dependent manner. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.47, n.9, p.807-813, 2009.

TEIXEIRA, J.; PEREIRA, S. High salinity and drought act on an organ-dependent manner on potato glutamine synthetase expression and accumulation. **Environmental and Experimental Botany**, v.60, p.121-126, 2007.

TERRADAS, A.; PASSIOURA, J.B.; MUNNS, R. Shoot turgor does not limited shoot growth of NaCl-affected wheat and barley. **Plant Physiology**. v.77, p.869-872, 1985.

TETENS, V. O. Über einige meteorologische Begriffe, **Zeitschrift Geophysic**, Wurzburg, v. 6, p. 297-309, 1930.

TESFAYE, S.G.; ISMAIL, M.R.; RAMLAN, M. F.; Marziah, M.; KAUSAR, H. Effect of soil drying on rate of stress development, leaf gas exchange and proline accumulation in robusta coffee (*Coffea canephora pierre ex froehner*) clones **Exp. Agric**, v.50, p. 458-479, 2014.

TORRECILLAS, A.; ALARCÓN, J. J.; DOMINGO, R.; PLANES, J.; SÁNCHEZ-BLANCO, M. J. Strategies for drought resistance in leaves of two almond cultivars. **Plant Science**, v.118, p.135-143, 1996.

VAN GENUTCHEN, M. T. H. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of insaturated. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 41, p. 892 – 898, 1980.

VECCELLI, J. C.; SIQUEIRA, D. L. Carbon isotope discrimination in mango leaves under salt stress. **Rev. Bras. Frutic**, v.39, n.Spe, p.1-4, 2016.

VOLAIRE, F., THOMAS, H., LELIEVRE, F. Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought. I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubbe. **New Phytol.**, v. 140, p. 439-449, 1998.

WALKER, R. R.; BLACKMORE, D. H.; SUNG, Q. Carbon dioxide assimilation and foliar ion concentration in leaves of lemon (*Citrus limon* L.) trees irrigated with NaCl or Na₂SO₄. **Austral. J. Plant Physiol**. v.20, p.173–185, 1993.

WALKER, C.D., R. SINCLAIR. Soil salinity is correlated with a decline in¹³C discrimination in leaves of Atriplex species. **Austr. J. Ecol**. 17:83–88. 1992.

WATZKA, M., BUCHGRABER, K., WANEK, W. Natural ¹⁵N abundance of plants and soils under different management practise in a montane grassland. **Soil Biology and Biochemistry** 38: 1564-1576. 2006.

WIGNARAJAH, K. Growth response of *Phaseolus vulgaris* to varying salinity regimes. **Environmental and Experimental Botany**, v.30, n.2, p.141-147, 1990.

WIGNARAJAH, K.; JENNINGS, D. H.; HANDLEY, J. F. The effect of salinity on growth of *Phaseolus vulgaris* L. I. Anatomical changes in the first trifoliolate leaf. **Ann. Bot.** v.39, p.1029-1038, 1975.

WILSON, P. J., THOMPSON, K., HODGSON, J. G. Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. **New Phytol.** 143: 155-162. 1999.

YIN, C. Y., PANG, X. Y., PEUKE, A. D., WANG, X., CHEN, K., and GONG, R. G. Growth and photosynthetic responses in *Jatropha curcas* L. seedlings of different provenances to watering regimes. **Photosynthetica**, v 54, n. 3, p. 367, 2016.

YOUSFI, S.; SERRET, M. D. MÁRQUEZ, A. J.; VOLTAS, J.; ARAUS, J. L. Combined use of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{15}\text{N}$ tracks nitrogen metabolism and genotypic adaptation of durum wheat to salinity and water deficit. **New Phytologist**, v.194, p.230-244, 2012.

YOUSFI, S.; SERRET, M. D.; VOLTAS, J.; ARAUS, J. L. Effect of salinity and water stress during the reproductive stage on growth, ion concentrations, $\Delta^{13}\text{C}$, and $\delta^{15}\text{N}$ of durum wheat and related amphiploids. **Journal of Experimental Botany**, v.61, n.13, p.3529–3542, 2010.

YOUSFI, S.; SERRET, M. D.; ARAUS, J. L. Shoot $\delta^{15}\text{N}$ gives a better indication than ion concentration or $\Delta^{13}\text{C}$ of genotypic differences in the response of durum wheat to salinity. **Functional Plant Biology**, v.36, p.144-155, 2009.

YANG, Z., MIDMORE, D.J. Modeling Plant Resource Allocation and Growth Partitioning in Responses to Environmental Heterogeneity. **Ecological Modelling**, 181, 59-77. 2005.

ZANINI, J.R.; VILLAS BÔAS, R.L.; FEITOSA FILHO, J.C. *Uso e manejo da fertirrigação e hidroponia*. **Jaboticabal: Funep**, 2002. 65 p.

ZHAO, B.; MOTOHIKO, K.; MORIHIRO, M.; YASUO, O.; JIABAO, Z. Water-use efficiency and carbon isotope discrimination in two cultivars of upland rice during different developmental stages under three water regimes, **Plant Soil.**, v.261, p. 61-75, 2004.

ZHONG, C. et al. Nitrogen metabolism correlates with the acclimation of photosynthesis to short-term water stress in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v.125, p.52-62, 2018.

ZONTA, J. H. et al. Influência de diferentes turnos de rega e doses de hidroabsorvente no desenvolvimento inicial da cultura do café Conillon (*Coffea canephora* Pierre). **IDESIA**, v.27, n.3, p.29-34, 2009.