

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 05/08/2027.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências – Câmpus de Botucatu/Rio Claro
Seção Técnica de Pós-Graduação



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL (INTERUNIDADES)

EFEITO CONJUNTO DA ALTA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO₂, DÉFICIT HÍDRICO NAS RESPOSTAS TRANSCRICIONAIS E NA CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS EM *Coffea arabica* L.

INGRID CRISTINA SILVA ARAUJO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Rio Claro, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Interunidades entre o Instituto de Biociências do câmpus de Botucatu e Instituto de Biociências do câmpus de Rio Claro.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Instituto de Biociências – Câmpus de Botucatu/Rio Claro
Seção Técnica de Pós-Graduação



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL
(INTERUNIDADES)**

**EFEITO CONJUNTO DA ALTA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA
DE CO₂, DÉFICIT HÍDRICO NAS RESPOSTAS TRANSCRICIONAIS
E NA CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS EM *Coffea arabica* L.**

INGRID CRISTINA SILVA ARAUJO

ORIENTADOR: PROF. DR. GUSTAVO HABERMANN

COORIENTADOR: PROF. DR. DOUGLAS SILVA DOMINGUES

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Rio Claro, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Interunidades entre o Instituto de Biociências do câmpus de Botucatu e Instituto de Biociências do câmpus de Rio Claro.

RIO CLARO – SP
2025

A663e

Araujo, Ingrid Cristina Silva

Efeito conjunto da alta concentração atmosférica de CO₂, déficit hídrico nas respostas transcripcionais e na concentração de metabólitos em *Coffea arabica* L. / Ingrid Cristina Silva Araujo. -- Rio Claro, 2025
113 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: Gustavo Habermann

Coorientador: Douglas Silva Domingues

1. Mudanças Climáticas. 2. Metabolismo secundário. 3. *Coffea arabica*. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Efeito conjunto da alta concentração atmosférica de CO₂, déficit hídrico nas respostas transcricionais e na concentração de metabólitos em *Coffea arabica* L.

AUTORA: INGRID CRISTINA SILVA ARAUJO

ORIENTADOR: GUSTAVO HABERMANN

COORIENTADOR: DOUGLAS SILVA DOMINGUES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), área: Biologia Vegetal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. DOUGLAS SILVA DOMINGUES (Participação Virtual)
Departamento de Genética / Escola Superior de Agricultura

Prof^a. Dr^a. ANA KARLA MOREIRA LOBO (Participação Virtual)
Lancaster Environment Centre / Universidade de Lancaster

Prof.^a Dr.^a JULIANE KARINE ISHIDA (Participação Virtual)
Departamento de Genética / Escola Superior de Agricultura

Prof^a. Dr^a ILARA GABRIELA FRASSON BUDZINSKI (Participação Virtual)
Departamento de Genética / Escola Superior de Agricultura

Prof. Dr. EMERSON ALVES DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Inovação Tecnológica / Instituto de Pesquisas Ambientais - IPA

Rio Claro, 05 de agosto de 2025

*Dedico este trabalho ao meu filho Noah
que me fez descobrir uma força que jamais imaginaria ter.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, com todo o meu amor, à minha família, Douglas, meu esposo, e Noah, meu filho, por todo apoio, paciência e compreensão durante os momentos mais desafiadores. Vocês foram meu porto seguro e a minha maior motivação.

Aos meus pais, Elias e Valdenita, e ao meu irmão Vinícius, minha eterna gratidão por todo amor, incentivo e fé em mim. Sem o apoio de vocês, eu não teria chegado até aqui.

Aos meus avós, que com carinho, valores e raízes me ensinaram tanto sobre persistência e humildade.

Ao querido Professor Dr. Douglas Silva Domingues, minha profunda gratidão pelo suporte, paciência e ensinamentos valiosos durante toda essa jornada. Obrigada por confiar em mim e me escolher como sua aluna.

Ao Professor Dr. Gustavo Habermann, meu agradecimento especial por ter assumido a orientação nos últimos meses desta jornada. Sua disposição e apoio foram fundamentais para a finalização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Marcelo José Pena Ferreira, meu sincero agradecimento por todo auxílio no laboratório do Instituto de Biociências (Botânica) da USP, pelos ensinamentos generosos e por me receber tão bem, com sua equipe, sempre com paciência e disponibilidade.

Ao Professor Emerson Alves da Silva, que esteve ao meu lado desde os primeiros passos na iniciação científica até aqui. Sou profundamente grata pelo apoio constante, pelos conselhos, ensinamentos e por acreditar em mim ao longo de toda essa trajetória.

À UNESP/IB e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, minha sincera gratidão pelo apoio ao longo do doutorado, pela estrutura, acolhimento, pelos professores, funcionários e colegas. É uma honra fazer parte dessa instituição.

Ao Instituto de Pesquisas Ambientais (antigo Instituto de Botânica), meu agradecimento por todo apoio material e técnico durante as coletas e análises, assim como ao conjunto de professores, pesquisadores e alunos que contribuíram de forma essencial neste trabalho.

Aos meus grandes amigos do Instituto de Pesquisas Ambientais e da UNESP, meu muito obrigada por cada gesto de ajuda, pelas conversas, trocas e paciência. Em especial, agradeço a Ana Karla, Maria Fernanda, Gian, Samara e Ilara, por toda ajuda e amizade.

Foram muitos anos de aprendizado, desafios e conquistas. Agradeço a todos e todas que, de alguma forma, fizeram parte dessa história. A cada um, deixo meu carinho e minha eterna gratidão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processo nº 2018/08042-8. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do(s) autor(es) e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

RESUMO

O aumento da concentração atmosférica de dióxido de carbono (CO₂), principal gás responsável pelo efeito estufa adicional, tem ocorrido de forma acelerada, sendo frequentemente acompanhado por alterações no regime hídrico e elevação das temperaturas médias. Tais mudanças impactam diretamente processos fisiológicos das plantas, como as trocas gasosas, a fotossíntese e o seu metabolismo, especialmente em culturas sensíveis ao estresse, como o cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Considerando a importância econômica e social da cafeicultura no Brasil, torna-se fundamental compreender como a elevação da [CO₂] atmosférico, isoladamente e em combinação com o déficit hídrico, influencia a fisiologia, bioquímica e expressão gênica do cafeeiro. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da alta concentração atmosférica de CO₂ (~800 ppm) combinada ao déficit hídrico em mudas de *Coffea arabica* var. Catuaí Vermelho IAC 144, por meio de abordagens integradas. O experimento foi conduzido em câmaras de topo aberto (OTCs), nas quais as plantas foram submetidas a déficit hídrico moderado e severo, seguido de período de reidratação, associado a concentrações de CO₂ ambiente e elevado. Foram avaliados parâmetros ecofisiológicos (fotossíntese, condutância estomática, transpiração, Ψ foliar e fluorescência da clorofila a), além da quantificação de diterpenos (caveol e cafetsol) e polióis (mio-inositol, galactinol e glicerol), bem como análises de transcritos via RNA-seq. Os resultados demonstraram que a elevação de [CO₂]atm promoveu aumento nas taxas fotossintéticas e na eficiência no uso da água em plantas regadas. Sob déficit hídrico moderado, o CO₂ elevado atenuou os efeitos negativos do estresse sobre a fotossíntese, mantendo maior assimilação de carbono e integridade fotoquímica do fotossistema II. Entretanto, em seca severa, os benefícios do CO₂ elevado foram limitados por restrições estomáticas e bioquímicas. A reidratação permitiu recuperação parcial dos parâmetros fisiológicos, com destaque para as plantas expostas a eCO₂. Bioquimicamente, observou-se maior acúmulo de cafeol, um diterpeno, sob estresse, sugerindo seu papel na tolerância ao estresse hídrico. A análise de expressão gênica indicou a regulação positiva de genes ligados à fotossíntese, transporte de solutos e rotas antioxidantes, principalmente sob eCO₂WD. Dessa forma, os dados indicam que o ↑[CO₂]atm pode modular positivamente a resposta do cafeeiro ao déficit hídrico, mas sua eficácia depende da intensidade do estresse hídrico. A integração das respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares contribuiu para a compreensão da plasticidade adaptativa da espécie frente às mudanças climáticas.

Palavras-chave: Mudanças climáticas; metabolismo secundário; *Coffea arabica*.

ABSTRACT

The increase in atmospheric carbon dioxide (CO₂) concentrations, the main gas responsible for the additional greenhouse effect, has been occurring rapidly, often accompanied by changes in water regimes and rising average temperatures. These changes directly impact plant physiological processes, such as gas exchange, photosynthesis, and metabolism, especially in stress-sensitive crops such as coffee (*Coffea arabica* L.). Considering the economic and social importance of coffee farming in Brazil, it is essential to understand how elevated atmospheric [CO₂], alone and in combination with water deficit, influences coffee physiology, biochemistry, and gene expression. In this context, this study aimed to evaluate the effects of high atmospheric CO₂ concentrations (~800 ppm) combined with water deficit on *Coffea arabica* var. Catuaí Vermelho IAC 144 seedlings, using integrated approaches. The experiment was conducted in open-top chambers (OTCs), in which plants were subjected to moderate and severe water deficits, followed by a rehydration period, associated with ambient and elevated CO₂ concentrations. Ecophysiological parameters (photosynthesis, stomatal conductance, transpiration, leaf Ψ , and chlorophyll a fluorescence) were evaluated, in addition to the quantification of diterpenes (caveol and cafestol) and polyols (myo-inositol, galactinol, and glycerol), as well as transcript analysis via RNA-seq. The results demonstrated that elevated [CO₂]_{atm} promoted increased photosynthetic rates and water use efficiency in irrigated plants. Under moderate water deficit, elevated CO₂ attenuated the negative effects of stress on photosynthesis, maintaining greater carbon assimilation and the photochemical integrity of photosystem II. However, under severe drought, the benefits of elevated CO₂ were limited by stomatal and biochemical constraints. Rehydration allowed partial recovery of physiological parameters, particularly in plants exposed to eCO₂. Biochemically, greater accumulation of cafestol, a diterpene, was observed under stress, suggesting its role in water stress tolerance. Gene expression analysis indicated upregulation of genes linked to photosynthesis, solute transport, and antioxidant pathways, particularly under eCO₂WD. Thus, the data indicate that ↑[CO₂]_{atm} can positively modulate the coffee plant's response to water deficit, but its effectiveness depends on the intensity of the water stress. Integrating physiological, biochemical, and molecular responses contributes to understanding the species' adaptive plasticity in the face of climate change.

Keywords: Climate change; secondary metabolism; *Coffea arabica*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Vista geral das quatro OTCs instaladas no Núcleo de Pesquisaa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Pesquisas Ambientais (IPA) 30
- Figura 2 - Valores médios de radiação fotossinteticamente ativa (RFA, $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^2 \text{ s}^{-1}$) e temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (UR, %) e concentração de CO_2 atmosférico ($[\text{CO}_2]$ ppm) monitorados no interior das OTCs instaladas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica. 36
- Figura 3 - Potencial hídrico foliar (Ψ_w , MPa) e umidade do solo (U_{soil} , %) de plantas de *C. arabica* expostas a $[\text{CO}_2]$ ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a $[\text{CO}_2]$ e WD a $[\text{CO}_2]$, respectivamente) e $[\text{CO}_2]$ elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e $[\text{CO}_2]$ e WD e $[\text{CO}_2]$, respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta. 38
- Figura 4 - : Fotossíntese (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO_2 (c_i , ppm de CO_2) sob intensidade luminosa de $600 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^2 \text{ s}^{-1}$, em folhas de *C. arabica* expostas a $[\text{CO}_2]$ ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a $[\text{CO}_2]$ e WD a $[\text{CO}_2]$, respectivamente) e $[\text{CO}_2]$ elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e $[\text{CO}_2]$ e WD e $[\text{CO}_2]$, respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta. 41
- Figura 5 - transpiração foliar (Efoliar, $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (gs, $\text{mol m}^2 \text{ s}^{-1}$) em folhas de *C. arabica* expostas a $[\text{CO}_2]$ ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WWa $[\text{CO}_2]$ e WDa $[\text{CO}_2]$, respectivamente) e $[\text{CO}_2]$ elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e $[\text{CO}_2]$ e WD e $[\text{CO}_2]$, respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do

tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.42

Figura 6 - Eficiência transpiratória foliar (ETfoliar, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) em folhas de *C. arabica* expostas a $[\text{CO}_2]$ ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a $[\text{CO}_2]$ e WD a $[\text{CO}_2]$, respectivamente) e $[\text{CO}_2]$ elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e $[\text{CO}_2]$ e WD e $[\text{CO}_2]$, respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.44

Figura 7 - Eficiência quântica efetiva do PSII (ΦPSII) em folhas de *C. arábica* expostas a $[\text{CO}_2]$ ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a $[\text{CO}_2]$ e WD a $[\text{CO}_2]$, respectivamente) e $[\text{CO}_2]$ elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e $[\text{CO}_2]$ e WD e $[\text{CO}_2]$, respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.46

Figura 8: Eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm) em folhas de *C. arabica* expostas a $[\text{CO}_2]$ ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a $[\text{CO}_2]$ e WD a $[\text{CO}_2]$, respectivamente) e $[\text{CO}_2]$ elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e $[\text{CO}_2]$ e WD e $[\text{CO}_2]$, respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.48

Figura 9: Massa seca de folhas e raiz de *C. arabica* expostas a $[\text{CO}_2]$ ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a $[\text{CO}_2]$ e WD a $[\text{CO}_2]$, respectivamente) e $[\text{CO}_2]$ elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e $[\text{CO}_2]$ e WD e $[\text{CO}_2]$, respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem

estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.....50

Figura 10: Razão Raiz/Folhas de *C. arabica* expostas a [CO₂] ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a[CO₂] e WD a[CO₂], respectivamente) e [CO₂] elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e[CO₂] e WD e [CO₂], respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.....51

Figura 11: Conteúdo relativo de água de folha e raiz de *C. arabica* expostas a [CO₂] ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a[CO₂] e WD a[CO₂], respectivamente) e [CO₂] elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e[CO₂] e WD e [CO₂], respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.....53

Figura 12: Conteúdo de Caveol e Cafestol em raízes de *C. arabica* expostas a [CO₂] ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a[CO₂] e WD a[CO₂], respectivamente) e [CO₂] elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e[CO₂] e WD e [CO₂], respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.....55

Figura 13: Conteúdo de Cafestol em folhas de *C. arabica* expostas a [CO₂] ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a[CO₂] e WD a[CO₂], respectivamente) e [CO₂] elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e[CO₂] e WD e [CO₂], respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=4). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.....57

Figura 14: Conteúdo de Galactinol em folhas de *C. arabica* expostas a [CO₂] ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a[CO₂] e WD a[CO₂], respectivamente) e [CO₂] elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e[CO₂] e WD e [CO₂], respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta. **ND** (não detectado) = quantidade do metabólito foi inferior ao limite de detecção do equipamento.....60

Figura 15: Conteúdo de Glicerol em folhas de *C. arabica* expostas a [CO₂] ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a[CO₂] e WD a[CO₂], respectivamente) e [CO₂] elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e[CO₂] e WD e [CO₂], respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD = moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.62

Figura 16: : Conteúdo de Myo Inositol em folhas de *C. arabica* expostas a [CO₂] ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a[CO₂] e WD a[CO₂], respectivamente) e [CO₂] elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e[CO₂] e WD e [CO₂], respectivamente) nos seguintes tempos de coleta: seca moderada (MWD

= moderate water déficit), seca severa (SWD = severe water déficit) e Recuperação (Recovery). Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os mesmos tratamentos ao longo do tempo. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os diferentes tratamentos por coleta.
.....64

Figura 17: Genes diferencialmente expressos (DEs) entre os tratamentos: [CO₂] ambiente sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW a[CO₂] e WD a[CO₂], respectivamente) e [CO₂] elevado sob condições de irrigação e déficit hídrico (WW e[CO₂] e WD e [CO₂], respectivamente).....68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de genes diferencialmente expressos relacionados ao metabolismo de *C. arabica* as condições experimentais. O símbolo (*) indica a ausência de genes diferencialmente expressos na respectiva via metabólica para cada tratamento.66

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	19
1.1	Importância do cafeeiro e desafios frente às mudanças climáticas	19
1.2	Efeitos fisiológicos do aumento da concentração de CO ₂ em plantas.....	20
1.3	Respostas de <i>Coffea arabica</i> ao déficit hídrico.....	22
1.4	Interações entre estresses múltiplos: [CO ₂] elevado e déficit hídrico	24
1.5	Metabolismo de diterpenos em <i>Coffea arabica</i> : funções e regulação	26
1.6	Metabolismo de Polióis em Resposta a Estresses Abióticos.....	27
1.7	Respostas moleculares ao estresse abiótico em Coffea: abordagens transcricionais.....	28
2.	MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1	Análises ecofisiológicas.....	31
2.2	Umidade do Solo (U _{solo}) e Potencial da Água nas folhas (Ψ_{wfolha}).....	32
2.3	Trocas Gasosas e Fluorescência da Clorofila “a”	32
2.4	Análise bioquímicas	32
2.5	Quantificação dos níveis foliares de Caveol e Cafestol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – (CLAE-UV-DAD).....	33
2.6	Análise de açúcares alcoois por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – (CLAE-UV-DAD).....	33
2.7	Análises de transcriptoma: extração de RNA, RNA-seq e análise de dados.....	34
2.8	Anotação Funcional de Genes Diferencialmente Expressos com Foco em Vias Metabólicas e Transporte de Solutos.....	35
2.9	Análises estatísticas.....	35
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.1	Umidade do Solo (U _{solo}) e Potencial da Água nas folhas (Ψ_{wfolha}).....	37
3.2	Trocas Gasosas e Fluorescência da Clorofila “a”	39
3.3	Conteúdo de Caveol e Cafestol	54
3.4	Conteúdo de açúcares alcoois	59
3.5	Perfil transcricional	65
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
	REFERÊNCIAS	70
	APÊNDICE A -	79

1. INTRODUÇÃO

1.1 Importância do cafeeiro e desafios frente às mudanças climáticas

O café tem grande relevância econômica e social, sendo uma das commodities mais comercializadas globalmente e o quinto produto agrícola mais exportado pelo Brasil (CONAB, 2025 ; ICO, 2025). Além de sua expressiva contribuição para a balança comercial, a cafeicultura sustenta milhares de famílias agricultoras e movimenta diversos setores da cadeia produtiva, desde o cultivo até a industrialização. Estima-se que cerca de 8 milhões de pessoas estejam direta ou indiretamente envolvidas com a produção e o processamento do café no Brasil (DAMATTA *et al.*, 2016).

O gênero *Coffea*, pertencente à família Rubiaceae, compreende mais de 130 espécies descritas, entre as quais *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner se destacam por seu valor comercial. Essas espécies diferem em origem, genética e fisiologia. *Coffea arabica* é um aloploiploide ($2n = 4x = 44$) originado da hibridização natural entre *C. canephora* e *C. eugenoides*, fato que confere maior complexidade genética e metabólica. Por outro lado, *C. canephora* é diplóide ($2n = 2x = 22$), exibindo elevada variabilidade genética e maior plasticidade fisiológica, características que lhe conferem resiliência superior a estresses ambientais (DAVIS *et al.*, 2006; LASHERMES *et al.*, 1999; SALOJÄRVI *et al.*, 2024)

Do ponto de vista morfológico, o cafeeiro (*Coffea* spp.) apresenta sistema radicular predominantemente pivotante, caracterizado por uma raiz principal curta e grossa, acompanhada por numerosas raízes laterais finas que exploram eficientemente as camadas superficiais do solo. O caule é cilíndrico, de consistência lenhosa, formando uma parte aérea arbustiva que, a depender da espécie e das condições de cultivo, pode atingir entre 3 e 10 metros de altura. As folhas possuem pecíolo curto e lâmina de formato variado, oval, oval-lanceolada, oval-oblonga ou elíptica, com ápice acuminado e coloração verde-escuro brilhante, características que contribuem para a eficiência fotossintética. As flores, geralmente agrupadas em inflorescências axilares, são pedunculadas, pentâmeras e brancas, com ovário bicôncavo que, após a fecundação, origina duas sementes. O fruto é uma drupa oval, popularmente denominada "cereja do café", que durante a maturação apresenta coloração verde e adquire tonalidades vermelhas ou amarelas conforme o genótipo cultivado (BICHO *et al.*, 2011; DAVIS *et al.*, 2006)

As mudanças climáticas, contudo, representam uma ameaça crescente à produtividade do cafeeiro, sobretudo de *C. arabica*, cuja fisiologia é mais sensível ao aumento da temperatura e à limitação hídrica. Projeções indicam que a produção de arábica pode sofrer reduções entre 20% e 60% em regiões produtoras brasileiras (TAVARES *et al.*, 2018) com perdas de até 50% nas áreas atualmente aptas ao cultivo (LORENÇONE *et al.*, 2023). Entre os principais impactos observados estão o aumento da temperatura foliar, a redução na assimilação líquida de CO₂, o fechamento estomático e a limitação da fotossíntese, principalmente em condições de déficit hídrico (DAMATTA *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2024).

Por outro lado, a elevação da concentração atmosférica de CO₂ pode exercer efeito fisiológico benéfico, aumentando a eficiência do uso da água (WUE), a taxa de assimilação de carbono e a biomassa acumulada, além de reduzir a condutância estomática sob estresse hídrico leve a moderado (RAMALHO *et al.*, 2013; SANCHES *et al.*, 2020). Em condições controladas, esse efeito pode se refletir em aumentos de produtividade entre 2,5 e 10%, dependendo da intensidade e da duração do estresse, bem como do genótipo avaliado (DE FREITAS *et al.*, 2024). Ganhos de 2,5 a 3,7 sacas ha⁻¹ advindos da fertilização carbônica são possíveis, não é claro se eles poderão compensar os prejuízos provocados pela ocorrência simultânea de déficit hídrico e ondas de calor, especialmente em fases críticas do ciclo (DE FREITAS *et al.*, 2024).

Estudos de análise de sensibilidade apontam que variáveis como a disponibilidade hídrica constituem os principais fatores determinantes para o rendimento potencial e para o rendimento efetivamente atingido em lavouras de café arábica, superando inclusive o papel isolado da temperatura (DE FREITAS *et al.*, 2025). Esses mesmos estudos mostram que a irrigação — associada à seleção de cultivares com maior tolerância ao calor e à seca — pode resultar em aumentos significativos de produtividade, evidenciando o papel da plasticidade fisiológica e da capacidade de aclimatação como elementos-chave na manutenção da performance da planta sob estresse ambiental.

1.2 Efeitos fisiológicos do aumento da concentração de CO₂ em plantas

As concentrações atmosféricas de dióxido de carbono ([CO₂]atm) vêm aumentando continuamente ao longo dos séculos, impulsionadas principalmente pela queima de combustíveis fósseis e pelo desmatamento. Em 1959, os níveis de CO₂ na atmosfera eram de aproximadamente 315 ppm (partes por milhão), e atualmente já ultrapassam os 420 ppm

(NOAA, 2025). Projeções indicam que, se as emissões continuarem no ritmo atual, a concentração atmosférica pode superar 1000 ppm até o final do século, contribuindo para um aumento da temperatura global acima de 4 °C (IPCC, 2021). Essas mudanças afetam diretamente o equilíbrio climático, alterando padrões de precipitação e impactando ecossistemas terrestres e agrícolas (Audebert et al., 2024). Embora a elevação de [CO₂] represente um item responsável por aquecimento, para as plantas ela também atua como substrato primário da fotossíntese, de modo que sua disponibilidade crescente introduz ajustes fisiológicos.

O aumento da concentração de CO₂, aliado às mudanças climáticas, representa um dos principais desafios ambientais da atualidade. Além de contribuir para o efeito estufa, a elevação dos níveis de CO₂ modula o crescimento e o desenvolvimento vegetal, afetando processos fisiológicos essenciais, como a fotossíntese e a transpiração (DUSENGE *et al.*, 2019). Nos experimentos de enriquecimento em ar livre (FACE), plantas C₃ expostas a ~600 ppm de CO₂ frequentemente apresentam incrementos imediatos de 20–40% na taxa assimilatória de CO₂, redução de 10–30% na condutância estomática e consequente aumento da eficiência do uso da água, sinalizando que o carbono adicional intensifica a carboxilação da Rubisco (ribulose -1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase) e diminui a fotorrespiração (AINSWORTH *et al.*, 2025). No entanto, a resposta é dinâmica: após semanas de exposição, muitas espécies exibem aclimatação fotossintética, manifestada por queda gradual na capacidade máxima de carboxilação e no teor de proteínas do aparato fotossintético, refletindo realocação de nitrogênio foliar e possíveis limitações de sumidouro para o carbono fixado (MITTLER *et al.*, 2025). Assim, a magnitude do “efeito de fertilização carbônica” tende a declinar no tempo, sobretudo quando fatores bióticos ou abióticos restringem o crescimento de raízes, caules ou estruturas reprodutivas.

No entanto, os efeitos desse aumento variam entre diferentes espécies e condições ambientais. Embora o CO₂ elevado possa estimular a fotossíntese em algumas plantas, essa resposta pode ser modulada por fatores como disponibilidade hídrica e temperatura (ZISKA, 2008). Sob déficit hídrico moderado, a menor abertura estomática induzida por e[CO₂] (elevada concentração de CO₂) pode retardar a perda de água, mas, quando o enriquecimento eleva a área foliar, o consumo hídrico total do dossel muitas vezes se equipara ou supera o verificado em condições de CO₂ ambiente, neutralizando possíveis economias de água. Adicionalmente, temperaturas acima do ótimo fotossintético reduzem a afinidade da Rubisco por CO₂, aumentam a fotorrespiração e aceleram a degradação de pigmentos e proteínas, fatores que podem suprimir

integralmente os ganhos de assimilação obtidos com o aumento de $[\text{CO}_2]$ (AINSWORTH *et al.*, 2025).

A influência da $[\text{CO}_2]$ não se limita às trocas gasosas. Estudos morfofisiológicos mostram expansão da lâmina foliar, espessamento do mesófilo e maior razão raiz:parte aérea em várias espécies, indicando realocação de fotoassimilados para os drenos. Esse crescimento radicular adicional pode ampliar a captação de água e nutrientes, mas, paradoxalmente, a menor transpiração foliar reduz o fluxo de massa de íons via xilema; por isso, cultivos sob CO_2 elevado costumam exibir menor concentração de proteína, ferro e zinco nos tecidos comestíveis, fenômeno atribuído a diluição por carboidratos e limitações de absorção (AINSWORTH *et al.*, 2025). Tais mudanças nutritivas levantam preocupações sobre implicações para a qualidade alimentar em cenários futuros, sobretudo para populações dependentes de grãos C_3 como principal fonte de micronutrientes.

Do ponto de vista respiratório, o aumento de substrato carbonado e a maior disponibilidade de açúcares solúveis podem intensificar a respiração de manutenção, mas há relatos de diminuição do quociente fotorrespiratório, dada a supressão da via do glicolato em alta $[\text{CO}_2]$. Entretanto, sob noites mais quentes, as taxas respiratórias crescem expressivamente, anulando parte do ganho líquido de carbono diurno. A plasticidade dessas respostas indica que modelos de crescimento devem integrar não só os fluxos de carbono, mas também as interações com temperatura, vapor de água no ar e disponibilidade de nitrogênio.

Em síntese, a elevação de $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ induz um conjunto de efeitos fisiológicos que começam com a intensificação da fotossíntese e redução da condutância estomática, estendem-se a mudanças na alocação de biomassa e culminam em alterações nutricionais e aclimatação metabólica. O benefício líquido para o crescimento vegetal depende de uma delicada interação com água, temperatura e disponibilidade de nutrientes; por isso, avaliações de longo prazo são imprescindíveis para antecipar como esses fatores combinados moldarão a produtividade e a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas nas próximas décadas.

1.3 Respostas de *Coffea arabica* ao déficit hídrico

Dentre os estresses ambientais que afetam as plantas, o déficit hídrico é um dos mais severos, impactando diretamente a produtividade agrícola. A água desempenha um papel

essencial na manutenção da estrutura celular, no transporte de nutrientes e na realização de processos bioquímicos fundamentais (SELEIMAN *et al.*, 2021). Quando submetidas à seca, as plantas ativam mecanismos de resposta que envolvem desde alterações morfológicas e fisiológicas até adaptações moleculares, visando minimizar a perda de água e garantir sua sobrevivência (BIELACH *et al.*, 2017; ORTIZ *et al.*, 2015; OSAKABE *et al.*, 2014).

O cafeeiro é uma planta perene com padrão característico de crescimento, apresentando ramificação dimórfica. Seus caules principais, chamados ortotrópicos, crescem verticalmente e dão origem a ramos plagiotrópicos, que se desenvolvem horizontalmente e sustentam a frutificação. As folhas, geralmente finas, brilhantes e enceradas, possuem formato elíptico, nervuras bem definidas e dispõem-se em pares opostos ao longo dos ramos (CANNELL, 1985; CARVALHO, A, 1950; DAMATTA *et al.*, 2007). Além disso, há relação direta entre sistema radicular e parte aérea: podas, ataques de pragas, doenças ou sobrecarga de frutos podem comprometer o vigor das raízes, ao passo que estas redistribuem assimilados e sustentam o dossel, sobretudo durante períodos de seca (CANNELL, 1971; DAMATTA *et al.*, 2007).

Estudos fisiológicos recentes comprovam que a seca impõe limitações estomáticas e não estomáticas à fotossíntese em *C. arabica*. Em avaliação com quatro genótipos colombianos, Tezara (TEZARA *et al.*, 2024) relataram reduções de 24% a 74% na taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs) e parâmetros bioquímicos como $V_{c_{max}}$ (taxa máxima de carboxilação da rubisco), J_{max} (taxa máxima de transporte de elétrons) e TPU (utilização de triose-fostato), evidenciando ampla variabilidade genotípica; Catimor ECU 02 mostrou-se mais resiliente, enquanto Red Caturra e Sarchimor 4260 foram mais sensíveis. Concomitantemente, a eficiência no uso da água (WUE) variou entre linhagens, indicando que mecanismos de tolerância incluem desde maior controle estomático até capacidade de ajuste osmótico e manutenção da integridade fotossintética sob baixa disponibilidade hídrica.

No campo, a magnitude dos impactos vai além das respostas foliares. Em experimento de redução pluviométrica em plantas adultas apresentou queda de 16 % a 75 % no rendimento, conforme o genótipo, após dois anos de déficit moderado (redução de 14 % no teor de água do solo) (SARZYNSKI *et al.*, 2024).

A nível anatômico, genótipos tolerantes exibem espessamento da cutícula na face adaxial, maior relação diâmetro polar/equatorial dos estômatos e menor índice de vulnerabilidade hidráulica. No banco ativo de germoplasma da EPAMIG, materiais híbridos de Timor (UFV 377-21, UFV 376-31) e a cultivar IPR 100 destacaram-se por manter trocas

gasosas e potencial hídrico foliar mais elevados, além de correlação positiva entre espessura de cutícula e WUE. Esses atributos estruturais atuam em conjunto com respostas fisiológicas, reduzindo a perda de água por transpiração sem comprometer excessivamente a assimilação de CO₂ (SANTOS *et al.*, 2025).

Quando a seca vem acompanhada de temperaturas elevadas, as respostas tornam-se ainda mais complexas. Análises transcriptômicas indicam que o número de genes diferencialmente expressos sob estresse combinado calor + déficit hídrico excede a soma das respostas individuais, apontando sinergias negativas sobre vias de fotossíntese, balanço redox e síntese de proteínas (MARQUES *et al.*, 2024).

Portanto, as respostas de *Coffea arabica* ao déficit hídrico configuram-se como um mosaico de ajustes morfológicos, anatômicos, fisiológicos e, em situações de estresse combinado, moleculares. A variabilidade observada entre cultivares e híbridos indica que a identificação de materiais com maior plasticidade radicular, cutícula espessa, estômatos funcionalmente eficientes e capacidade de manter fotossíntese sob baixa disponibilidade hídrica será importante para os desafios impostos pelas mudanças climáticas.

1.4 Interações entre estresses múltiplos: [CO₂] elevado e déficit hídrico

Estudos sugerem que a alta concentração de CO₂ poderia atenuar parte dos efeitos deletérios do déficit hídrico, aumentando a eficiência no uso da água (WUE) pela manutenção de taxas fotossintéticas (A) com menor condutância estomática (gs) e induzindo ajustes morfoanatômicos — notadamente a redução da densidade e do tamanho estomático — sem perda de capacidade difusiva foliar (AVILA *et al.*, 2020a; SANCHES *et al.*, 2017). Estudos em FACE (Free-Air Carbon Dioxide Enrichment) e OTC (Open Top Chamber) com *Coffea arabica* reportam incrementos de 34–60% em A e de 25–40% em WUE em plantas em déficit moderado ($\Psi_w \approx -1,0$ MPa) são expostas a [CO₂] de 550–700 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, enquanto a gs cai no máximo 20% (DE SOUZA *et al.*, 2023). Esse aporte adicional de carbono intensifica o acúmulo de açúcares, tais como sacarose, rafinose, trealose, que reduzem o potencial osmótico foliar, preservam o turgor e retardam o fechamento total dos estômatos.

Contudo, a interação e[CO₂] × seca não é linear: em $\Psi_w < -2,0$ MPa, surgem limitações não estomáticas ligadas ao colapso hidráulico e à inibição bioquímica. Análises de curvas A/Ci

revelam que, sob seca severa, o ganho relativo em $V_{c_{max}}$ proporcionado pelo $e[CO_2]$ diminui drasticamente devido à inativação de Rubisco causada por desbalanço redox e peroxidação de membranas (AHUJA *et al.*, 2010). Além disso, a capacidade de transporte de elétrons (J_{max}) se mantém elevada apenas quando a planta consegue sustentar fluorescência variável máxima ($F_v/F_m > 0,78$), algo dependente da síntese de xantofilas e do aumento de dissipação térmica (NPQ) — processos que requerem suprimento adicional de NADPH e ATP, o que reforça a importância do balanço fonte-dreno em condições combinadas (LUO *et al.*, 2006).

Em nível ecofisiológico, o $e[CO_2]$ promove maior alocação de fotoassimilados para raízes, expandindo a densidade de raízes finas e a profundidade efetiva do sistema radicular (DE SOUZA *et al.*, 2023). Simultaneamente, há indução de aquaporinas PIP1;2 e TIP2;1, aumentando a permeabilidade celular e contribuindo para a rápida redistribuição hídrica entre compartimentos, o que sustenta relações hídricas foliares mesmo quando o $\Delta\Psi$ (solo–folha) ultrapassa 1,5 Mpa (AVILA *et al.*, 2020a). A redução na concentração interna de O_2 provocada pelo $e[CO_2]$ também suprime a taxa de fotorrespiração, diminuindo a geração de ROS e o consumo inútil de energia, ao passo que o aumento da relação NADPH/NADP⁺ facilita a regeneração de antioxidantes como ascorbato e glutathione, reforçando a proteção fotoquímica (MARSCHNER, 1995]).

Resultados de meta-análise recente com espécies C_3 sugerem que, quando o efeito fertilizante do CO_2 é incluído em modelos de balanço de carbono, a perda estimada de produtividade sob cenários de 30 % de redução pluviométrica cai de 40% para cerca de 20%, sobretudo em cultivares que combinam plasticidade estomática, robustez antioxidante e arquitetura radicular exploratória (AVILA *et al.*, 2020b). Contudo, os benefícios decrescem em ambientes sujeitos a ondas de calor concomitantes, pois temperaturas $> 37\text{ }^\circ\text{C}$ aumentam a taxa respiratória e desestabilizam proteínas chave da fotossíntese, exigindo investigações adicionais que incorporem simultaneamente $e[CO_2]$, seca e calor (DE SOUZA *et al.*, 2023; SANCHES *et al.*, 2017).

Compreender essas interações é, portanto, crucial para prever a resiliência de *Coffea arabica* nestes cenários.

1.5 Metabolismo de diterpenos em *Coffea arabica*: funções e regulação

Além das implicações fisiológicas, fatores ambientais podem modificar a composição química das plantas, influenciando a biossíntese de metabólitos secundários essenciais para sua defesa e qualidade nutricional (LINDROTH, 2010). No café, as folhas contêm diversos fitoquímicos, como alcaloides, flavonoides, terpenos e ácidos fenólicos, cuja abundância varia conforme a espécie, cultivar, idade da planta e condições ambientais (CHEN, 2019; KURANG; KAMENGON, 2021; SOUARD *et al.*, 2018).

Entre esses constituintes, merecem destaque os diterpenos cafestol e caveol, predominantes nos grãos, mas também detectados em folhas e raízes, onde o cafestol pode superar o caveol em até uma ordem de grandeza (TAGLIAFERRO, 2025)].

Os diterpenos cafestol e caveol são compostos lipofílicos característicos do gênero *Coffea*, pertencentes à classe dos diterpenos do tipo caurano, derivados da via do metileritritol-fosfato (em inglês, MEP). Sua biossíntese ocorre a partir da condensação de unidades de isopentenil pirofosfato (IPP) e dimetilalil pirofosfato (DMAPP), precursores universais dos terpenoides. O processo envolve a ciclização do geranylgeranyl pirofosfato (GGPP) por meio da ação de diterpeno sintases específicas, originando esqueletos de cafestol e caveol, que posteriormente sofrem modificações enzimáticas, como hidroxilações e oxidações, resultando nas formas bioativas presentes principalmente nos grãos de café (DIAS *et al.*, 2010; IVAMOTO *et al.*, 2017)

A via biossintética parte do geranylgeranyl difosfato (GGPP), gerado tanto pela via do mevalonato (MVA) quanto pela via do metileritritol-fosfato (MEP). Em *C. arabica*, foram recentemente caracterizadas enzimas-chave, como a ent-copalil-difosfato sintase (CaCPS1) e a ent-caureno sintase (CaKS3), que participam tanto da rota de giberelinas quanto da síntese de diterpenos específicos como cafestol e caveol

(IVAMOTO-SUZUKI *et al.*, 2023) .

Além do papel especulado em sinalização de estresse, esses diterpenos apresentam atividade antifúngica e inseticida, reforçando sua relevância ecológica e biotecnológica (ANTOINE *et al.*, 2023).

1.6 Metabolismo de Polióis em Resposta a Estresses Abióticos

Polióis, também conhecidos como açúcares-alcoois, como manitol, sorbitol, mio-inositol e galactinol, são metabólitos compatíveis amplamente distribuídos em angiospermas, desempenhando papéis essenciais na adaptação das plantas a condições ambientais adversas. Sob estresses abióticos como déficit hídrico, salinidade e temperaturas extremas, esses compostos contribuem para a manutenção do potencial osmótico celular (Ψ_s), estabilização de membranas, proteção de proteínas e eliminação de espécies reativas de oxigênio (DE CARVALHO *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2024; SADDHE *et al.*, 2021). Sua elevada solubilidade e natureza hidrofílica permitem que atuem como osmólitos efetivos, auxiliando na manutenção do turgor celular mesmo em situações de severa desidratação.

Durante o estresse hídrico, o acúmulo de polióis pode ser uma resposta rápida e eficiente ao desequilíbrio osmótico. Compostos como manitol e galactinol são sintetizados a partir de intermediários do metabolismo primário — como glicose-6-fosfato e mio-inositol — por meio da ação de enzimas como manitol-1-fosfato desidrogenase e galactinol-sintase, que podem ser induzidas por estresses ambientais (Carvalho *et al.*, 2014; Saddhe *et al.*, 2021). Além de sua função osmoprotetora, galactinol e seus derivados (como a rafinose) têm sido associados à proteção contra estresse oxidativo, atuando como antioxidantes não enzimáticos. Essa propriedade se torna particularmente relevante em condições que combinam déficit hídrico e temperaturas elevadas, em que a geração de ROS é intensificada.

Estudos recentes com *Coffea arabica* sob condições de estresse composto (déficit hídrico severo e temperatura elevada) demonstraram alterações marcantes no perfil de polióis nas folhas. Rodrigues *et al.* (RODRIGUES *et al.*, 2024) observaram que, em situações de estresse severo, houve acúmulo significativo de manitol e galactinol, com manutenção de níveis elevados de mio-inositol apenas em condições de irrigação. O aumento de galactinol durante a fase de recuperação em plantas regadas sob alta [CO₂] atmosférica sugere uma função específica na reprogramação metabólica e na proteção do aparelho fotossintético. Já o manitol foi consistentemente associado a mecanismos de tolerância, provavelmente por sua contribuição à homeostase osmótica e possível função redox.

Esses resultados reforçam que a via dos polióis é uma rota crítica de ajuste metabólico em *C. arabica* diante de condições abióticas limitantes. Assim, a análise do metabolismo de polióis em folhas de café sob condições ambientais contrastantes oferece subsídios valiosos para a compreensão da resiliência fisiológica da espécie.

1.7 Respostas moleculares ao estresse abiótico em *Coffea*: abordagens transcricionais

A resposta das plantas a condições ambientais adversas envolve uma complexa rede de sinalização molecular que regula a ativação de genes específicos, promovendo a síntese de proteínas e metabólitos essenciais para a defesa e adaptação ao estresse (FERNANDES *et al.*, 2021; JASPERS; KANGASJÄRVI, 2010; MARQUES *et al.*, 2021, 2022). Essas respostas incluem ajustes na expressão gênica que influenciam diretamente processos fisiológicos como a fotossíntese e o metabolismo do carbono. Estudos demonstram que a superexpressão de proteínas associadas à assimilação de CO₂ pode resultar em um aumento significativo na taxa fotossintética e no crescimento das plantas, reforçando a importância dos mecanismos moleculares na adaptação a mudanças ambientais (DRIEVER *et al.*, 2017; ERMAKOVA *et al.*, 2019; KUBIS; BAR-EVEN, 2019).

Embora já existam estudos sobre os efeitos da alta concentração de CO₂ no café, principalmente em relação à disponibilidade hídrica (AVILA *et al.*, 2020a; SANCHES *et al.*, 2017), ainda há lacunas na compreensão dos mecanismos envolvidos na aclimação e tolerância à seca conjunta ao alto CO₂. O impacto do CO₂ elevado sobre vias metabólicas e respostas transcricionais em *C. arabica* requer abordagens integrativas, combinando conhecimentos de genômica, bioquímica e fisiologia para entender melhor a adaptação das plantas às mudanças climáticas (PALIT *et al.*, 2020).

Nos últimos anos, a disponibilidade de genomas de referência e a consolidação do RNA-seq permitiram mapear extensos conjuntos de genes diferencialmente expressos em *Coffea* submetida a calor, seca e CO₂ elevado. Esses estudos revelam que a fotossíntese permanece o eixo central da aclimação: genes que codificam componentes do fotossistema, transportadores de elétrons e a enzima Rubisco são modulados para sustentar o fluxo cíclico de elétrons e preservar a assimilação de carbono, mesmo quando a disponibilidade hídrica ou a temperatura se tornam limitantes (FORTUNATO *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2024). Em paralelo, ajustes transcriptômicos promovem a acumulação de carotenoides fotoprotetores, proteínas do ciclo de Calvin e enzimas de fotorrespiração, reforçando a flexibilidade do aparato fotossintético sob condições adversas.

A homeostase hídrica constitui outro pilar fisiológico essencial. Seis aquaporinas-chave—PIP1;1, PIP1;2, PIP2;1, PIP2;2, TIP1;1 e TIP1;2—são regularmente induzidas em folhas e raízes durante o déficit hídrico e permanecem ativas em ambiente de CO₂ enriquecido,

modulando a condutância hidráulica e contribuindo para a manutenção das trocas gasosas e da termorregulação (AVILA *et al.*, 2020a; MARQUES *et al.*, 2022). De forma integrada, cascatas de sinalização dependentes e independentes de ABA (Ácido Abscísico) regulam estômatos e vias antioxidantes, envolvendo fatores ABRE (ABA-Responsive Element) e elementos DREB (Dehydration-Responsive Element-Binding proteins), além de proteínas fosfatases e proteases aspárticas que atenuam o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (FERNANDES *et al.*, 2021).

Sob calor e seca simultâneos, o transcriptoma de *Coffea* apresenta assinaturas únicas, não previsíveis pela soma dos estresses isolados. Experimentos de dupla imposição demonstram reforço na expressão de genes antioxidantes e de transporte de água, além da estabilização de chaperonas da família HSP (Heat-shock Proteins) e de proteínas LEA (Late Embryogenesis Abundant Proteins), que preservam a integridade de membranas e proteínas durante picos térmicos (RODRIGUES *et al.*, 2024). Ajustes no perfil lipídico dos tilacoides—including incremento de ácidos graxos insaturados—também contribuem para manter a fluidez membranar e a funcionalidade do fotossistema, mitigando danos oxidativos (SCOTTI-CAMPOS *et al.*, 2019; TAMBELLINI *et al.*, 2013)

Exposições repetidas à seca induzem um “efeito memória” em que microRNAs e transcritos reguladores permanecem ajustados após a reidratação, conferindo tolerância prolongada a eventos subsequentes de déficit hídrico (GUEDES *et al.*, 2018). Esse fenômeno reforça a necessidade de estudos longitudinais que integrem transcriptômica, epigenômica e metabolômica, ampliando a compreensão da plasticidade fisiológica de longo prazo em *Coffea*.

A disponibilidade de repositórios públicos, aliada a ferramentas bioinformáticas avançadas, favorece meta-análises capazes de identificar transcritos-marcadores, construir atlas de expressão e prever redes gênicas subjacentes à tolerância ao estresse (MANGUL *et al.*, 2019). Tais abordagens, alinhadas à fisiologia clássica, têm potencial para desvendar como ajustes moleculares se traduzem em resiliência fotoquímica, equilíbrio hídrico e manutenção do crescimento sob cenários climáticos extremos, consolidando uma visão integrativa dos processos adaptativos em *Coffea*.

Dessa forma, o estudo teve como objetivo avaliar o efeito da influência da alta concentração de CO₂ atmosférico ([CO₂]atm) combinado com déficit hídrico no metabolismo de plantas de café (*Coffea arabica* var. Catuaí Vermelho IAC 144) utilizando abordagens fisiológicas, bioquímicas e moleculares.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a elevação da concentração atmosférica de CO₂ exerce influência significativa sobre as respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares de *Coffea arabica* L., especialmente quando combinada com a limitação hídrica. De maneira geral, o enriquecimento com CO₂ atmosférico promoveu benefícios às plantas regadas, aumentando a assimilação líquida de carbono, a eficiência no uso da água e a recuperação fisiológica após reidratação. Em contrapartida, sob déficit hídrico severo, os benefícios proporcionados pelo CO₂ elevado foram limitados.

As análises bioquímicas revelaram que os níveis de caveol e cafestol aumentaram significativamente em plantas sob estresse hídrico, sobretudo nas submetidas ao enriquecimento de CO₂, sugerindo um possível papel desses metabólitos na adaptação ao estresse. O acúmulo de polióis como mio-inositol e glicerol também foi modulado em resposta às diferentes condições ambientais, indicando seu envolvimento na regulação osmótica.

No nível molecular, os dados transcriptômicos mostraram que a combinação de alta [CO₂] e déficit hídrico induziu a expressão diferencial de genes relacionados à fotossíntese, transporte de água, homeostase oxidativa e metabolismo secundário. Essas alterações sugerem uma resposta coordenada da planta para mitigar os efeitos do estresse e manter a funcionalidade fisiológica.

Os resultados obtidos sugerem que a elevação da concentração de CO₂ pode atenuar os efeitos adversos da seca moderada em *C. arabica*, promovendo ajustes fisiológicos e metabólicos que favorecem a tolerância ao estresse. Contudo, em condições de estresse hídrico severo, os efeitos benéficos são reduzidos, indicando que a intensidade do estresse desempenha papel decisivo na eficácia da aclimação.

Por fim, a integração entre dados ecofisiológicos, bioquímicos e moleculares oferece uma visão abrangente da plasticidade adaptativa do cafeeiro frente às mudanças climáticas, contribuindo para estratégias de manejo e melhoramento voltadas à sustentabilidade da cafeicultura em cenários futuros

REFERÊNCIAS

- AHUJA, I.; DE VOS, R. C. H.; BONES, A. M.; HALL, R. D. Plant molecular stress responses face climate change. **Trends in Plant Science**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 664–674, 2010.
- AINSWORTH, E. A.; SANZ-SAEZ, A.; LEISNER, C. P. Crops and rising atmospheric CO₂ : friends or foes? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 380, n. 1927, p. 20240230, 2025.
- ANTOINE, G.; VAISSAYRE, V.; MEILE, J.-C.; PAYET, J.; CONÉJÉRO, G.; COSTET, L.; FOCK-BASTIDE, I.; JOËT, T.; DUSSERT, S. Diterpenes of Coffea seeds show antifungal and anti-insect activities and are transferred from the endosperm to the seedling after germination. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 194, p. 627–637, 2023.
- AVILA, R. T.; CARDOSO, A. A.; DE ALMEIDA, W. L.; COSTA, L. C.; MACHADO, K. L. G.; BARBOSA, M. L.; DE SOUZA, R. P. B.; OLIVEIRA, L. A.; BATISTA, D. S.; MARTINS, S. C. V.; RAMALHO, J. D. C.; DAMATTA, F. M. Coffee plants respond to drought and elevated [CO₂] through changes in stomatal function, plant hydraulic conductance, and aquaporin expression. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 177, p. 104148, 2020a.
- AVILA, R. T.; DE ALMEIDA, W. L.; COSTA, L. C.; MACHADO, K. L. G.; BARBOSA, M. L.; DE SOUZA, R. P. B.; MARTINO, P. B.; JUÁREZ, M. A. T.; MARÇAL, D. M. S.; MARTINS, S. C. V.; RAMALHO, J. D. C.; DAMATTA, F. M. Elevated air [CO₂] improves photosynthetic performance and alters biomass accumulation and partitioning in drought-stressed coffee plants. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 177, p. 104137, 2020b.
- BAKER, C. R.; PATEL-TUPPER, D.; COLE, B. J.; CHING, L. G.; DAUTERMANN, O.; KELIKIAN, A. C.; ALLISON, C.; PEDRAZA, J.; SIEVERT, J.; BILBAO, A.; LEE, J.; KIM, Y.; KYLE, J. E.; BLOODSWORTH, K. J.; PAURUS, V.; HIXSON, K. K.; HUTMACHER, R.; DAHLBERG, J.; LEMAUX, P. G.; NIYOGI, K. K. Metabolomic, photoprotective, and photosynthetic acclimatory responses to post-flowering drought in sorghum. **Plant Direct**, [s. l.], v. 7, n. 11, p. e545, 2023.
- BARROS, R. S.; MAESTRI, M.; RENA, A. B. Title: Coffee crop ecology. [s. l.],
- BENASSI, M. D. T.; DIAS, R. C. E. Assay of Kahweol and Cafestol in Coffee. *Em: COFFEE IN HEALTH AND DISEASE PREVENTION*. [S. l.]: Elsevier, 2015. p. 993–1004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095175001091>. Acesso em: 12 abr. 2025.
- BIELACH, A.; HRTYAN, M.; TOGNETTI, V. Plants under Stress: Involvement of Auxin and Cytokinin. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 18, n. 7, p. 1427, 2017.
- CANNELL, M. G. R. Physiology of the Coffee Crop. *Em: CLIFFORD, M. N.; WILLSON, K. C. (org.). Coffee*. Boston, MA: Springer US, 1985. p. 108–134. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-6657-1_5. Acesso em: 11 mar. 2025.
- CANNELL, M. G. R. Production and distribution of dry matter in trees of *Coffea arabica* L. in Kenya as affected by seasonal climatic differences and the presence of fruits. **Annals of Applied Biology**, [s. l.], v. 67, n. 1, p. 99–120, 1971.

CARVALHO, A. K., C. A. O Dimorfismo dos ramos em *Coffea arabica* L. **O Dimorfismo dos ramos em *Coffea arabica* L.**, [s. l.], 1950. p. 151–159.

CATARINO, I. C. A.; MONTEIRO, G. B.; FERREIRA, M. J. P.; TORRES, L. M. B.; DOMINGUES, D. S.; CENTENO, D. C.; LOBO, A. K. M.; SILVA, E. A. Elevated [CO₂] Mitigates Drought Effects and Increases Leaf 5-O-Caffeoylquinic Acid and Caffeine Concentrations During the Early Growth of *Coffea Arabica* Plants. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, [s. l.], v. 5, p. 266, 2021.

CAVATTE, P. C.; OLIVEIRA, Á. A. G.; MORAIS, L. E.; MARTINS, S. C. V.; SANGLARD, L. M. V. P.; DAMATTA, F. M. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, [s. l.], v. 144, n. 2, p. 111–122, 2012.

CHEKOL, H.; WARKINEH, B.; SHIMBER, T.; MIEREK-ADAMSKA, A.; DĄBROWSKA, G. B.; DEGU, A. Drought Stress Responses in Arabica Coffee Genotypes: Physiological and Metabolic Insights. **Plants**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 828, 2024.

CHEN, X. A review on coffee leaves: Phytochemicals, bioactivities and applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 59, n. 6, p. 1008–1025, 2019.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. , [s. d.]. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 3 mar. 2025.

DAMATTA, F. M.; GODOY, A. G.; MENEZES-SILVA, P. E.; MARTINS, S. C. V.; SANGLARD, L. M. V. P.; MORAIS, L. E.; TORRE-NETO, A.; GHINI, R. Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 67, n. 1, p. 341–352, 2016.

DAMATTA, F. M.; RONCHI, C. P.; MAESTRI, M.; BARROS, R. S. Ecophysiology of coffee growth and production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 485–510, 2007.

DAVIS, A. P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D. M.; STOFFELEN, P. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, [s. l.], v. 152, n. 4, p. 465–512, 2006.

DE CARVALHO, K.; PETKOWICZ, C. L. O.; NAGASHIMA, G. T.; BESPALHOK FILHO, J. C.; VIEIRA, L. G. E.; PEREIRA, L. F. P.; DOMINGUES, D. S. Homeologous genes involved in mannitol synthesis reveal unequal contributions in response to abiotic stress in *Coffea arabica*. **Molecular Genetics and Genomics**, [s. l.], v. 289, n. 5, p. 951–963, 2014.

DE FREITAS, C. H.; COELHO, R. D.; DE OLIVEIRA COSTA, J.; SENTELHAS, P. C. A bitter cup of coffee? Assessing the impact of climate change on Arabica coffee production in Brazil. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 957, p. 177546, 2024.

DE FREITAS, C. H.; COELHO, R. D.; DE OLIVEIRA COSTA, J.; SENTELHAS, P. C. Equationing Arabica coffee: Adaptation, calibration, and application of an agrometeorological model for yield estimation. **Agricultural Systems**, [s. l.], v. 223, p. 104181, 2025.

DE SOUZA, A. H.; DE OLIVEIRA, U. S.; OLIVEIRA, L. A.; DE CARVALHO, P. H. N.; DE ANDRADE, M. T.; PEREIRA, T. S.; GOMES JUNIOR, C. C.; CARDOSO, A. A.;

RAMALHO, J. D. C.; MARTINS, S. C. V.; DAMATTA, F. M. Growth and Leaf Gas Exchange Upregulation by Elevated [CO₂] Is Light Dependent in Coffee Plants. **Plants**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 1479, 2023.

DIAS, R. C. E.; CAMPANHA, F. G.; VIEIRA, L. G. E.; FERREIRA, L. P.; POT, D.; MARRACCINI, P.; BENASSI, M. D. T. Evaluation of Kahweol and Cafestol in Coffee Tissues and Roasted Coffee by a New High-Performance Liquid Chromatography Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 1, p. 88–93, 2010.

DRIEVER, S. M.; SIMKIN, A. J.; ALOTAIBI, S.; FISK, S. J.; MADGWICK, P. J.; SPARKS, C. A.; JONES, H. D.; LAWSON, T.; PARRY, M. A. J.; RAINES, C. A. Increased SBPase activity improves photosynthesis and grain yield in wheat grown in greenhouse conditions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 372, n. 1730, p. 20160384, 2017.

DUDAREVA, N.; KLEMPIEN, A.; MUHLEMANN, J. K.; KAPLAN, I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, [s. l.], v. 198, n. 1, p. 16–32, 2013.

DUSENGE, M. E.; DUARTE, A. G.; WAY, D. A. Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. **New Phytologist**, [s. l.], v. 221, n. 1, p. 32–49, 2019.

EAASTMOND, P. J. Glycerol-insensitive Arabidopsis mutants: gli1 seedlings lack glycerol kinase, accumulate glycerol and are more resistant to abiotic stress. [s. l.], v. 37, p. 617–625, 2004.

ERMAKOVA, M.; LOPEZ-CALCAGNO, P. E.; RAINES, C. A.; FURBANK, R. T.; VON CAEMMERER, S. Overexpression of the Rieske FeS protein of the Cytochrome b6f complex increases C4 photosynthesis in *Setaria viridis*. **Communications Biology**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 314, 2019.

FERNANDES, I.; MARQUES, I.; PAULO, O. S.; BATISTA, D.; PARTELLI, F. L.; LIDON, F. C.; DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. C.; RIBEIRO-BARROS, A. I. Understanding the Impact of Drought in Coffea Genotypes: Transcriptomic Analysis Supports a Common High Resilience to Moderate Water Deficit but a Genotype Dependent Sensitivity to Severe Water Deficit. **Agronomy**, [s. l.], v. 11, n. 11, p. 2255, 2021.

FORTUNATO, A. S.; LIDON, F. C.; BATISTA-SANTOS, P.; EDUARDO LEITÃO, A.; PAIS, I. P.; RIBEIRO, A. I.; COCHICO RAMALHO, J. Biochemical and molecular characterization of the antioxidative system of Coffea sp. under cold conditions in genotypes with contrasting tolerance. **Journal of Plant Physiology**, [s. l.], v. 167, n. 5, p. 333–342, 2010.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; RAHMAT, A. Elevated Carbon Dioxide Increases Contents of Flavonoids and Phenolic Compounds, and Antioxidant Activities in Malaysian Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) Varieties. **Molecules**, [s. l.], v. 15, n. 11, p. 7907–7922, 2010.

GHINI, R.; TORRE-NETO, A.; DENTZIEN, A. F. M.; GUERREIRO-FILHO, O.; IOST, R.; PATRÍCIO, F. R. A.; PRADO, J. S. M.; THOMAZIELLO, R. A.; BETTIOL, W.; DAMATTA, F. M. Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO₂ enrichment. **Climatic Change**, [s. l.], v. 132, n. 2, p. 307–320, 2015.

GLEADOW, R. M.; EVANS, J. R.; MCCAFFERY, S.; CAVAGNARO, T. R. Growth and nutritive value of cassava (*Manihot esculenta* Cranz.) are reduced when grown in elevated CO₂. **Plant Biology**, [s. l.], v. 11, n. s1, p. 76–82, 2009.

GUEDES, F. A. D. F.; NOBRES, P.; RODRIGUES FERREIRA, D. C.; MENEZES-SILVA, P. E.; RIBEIRO-ALVES, M.; CORREA, R. L.; DAMATTA, F. M.; ALVES-FERREIRA, M. Transcriptional memory contributes to drought tolerance in coffee (*Coffea canephora*) plants. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 147, p. 220–233, 2018.

ICO. International Coffee Organization. [s. l.], [s. d.]. Disponível em: http://www.ico.org/trade_statistics.asp. Acesso em: 3 mar. 2025.

IPCC. **Climate Change 2021 – The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. 1. ed. [S. l.]: Cambridge University Press, 2021. 2021. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/9781009157896/type/book>. Acesso em: 11 mar. 2025.

IVAMOTO, S. T.; SAKURAY, L. M.; FERREIRA, L. P.; KITZBERGER, C. S. G.; SCHOLZ, M. B. S.; POT, D.; LEROY, T.; VIEIRA, L. G. E.; DOMINGUES, D. S.; PEREIRA, L. F. P. Diterpenes biochemical profile and transcriptional analysis of cytochrome P450s genes in leaves, roots, flowers, and during *Coffea arabica* L. fruit development. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 111, p. 340–347, 2017.

JASPERS, P.; KANGASJÄRVI, J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. **Physiologia Plantarum**, [s. l.], v. 138, n. 4, p. 405–413, 2010.

KÖLLING-SPEER, I.; STROHSCHNEIDER, S.; SPEER, K. Determination of Free Diterpenes in Green and Roasted Coffees. **Journal of High Resolution Chromatography**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 43–46, 1999.

KUBIS, A.; BAR-EVEN, A. Synthetic biology approaches for improving photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 70, n. 5, p. 1425–1433, 2019.

KURANG, R. Y.; KAMENGON, R. Y. Phytochemical and antioxidant activities of Robusta coffee leaves extracts from Alor Island, East Nusa Tenggara. *Em*: 2021, Surabaya, Indonesia. **Anais** [...]. Surabaya, Indonesia: [s. n.], 2021. p. 020028. Disponível em: <https://pubs.aip.org/aip/acp/article/624141>. Acesso em: 11 mar. 2025.

KWON, Y.; KIM, S.; JUNG, M.; KIM, M.; OH, J.; JU, H.; KIM, K.; VIERLING, E.; LEE, H.; HONG, S. Arabidopsis *hot2* encodes an endochitinase-like protein that is essential for tolerance to heat, salt and drought stresses. **The Plant Journal**, [s. l.], v. 49, n. 2, p. 184–193, 2007.

LASHERMES, P.; COMBES, M.-C.; ROBERT, J.; TROUSLOT, P.; D'HONT, A.; ANTHONY, F.; CHARRIER, A. Molecular characterisation and origin of the *Coffea arabica* L. genome. **Molecular and General Genetics MGG**, [s. l.], v. 261, n. 2, p. 259–266, 1999.

LINDROTH, R. L. Impacts of Elevated Atmospheric CO₂ and O₃ on Forests: Phytochemistry, Trophic Interactions, and Ecosystem Dynamics. **Journal of Chemical Ecology**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 2–21, 2010.

LORENÇONE, J. A.; DE OLIVEIRA APARECIDO, L. E.; LORENÇONE, P. A.; TORSONI, G. B.; DE LIMA, R. F.; DA SILVA CABRAL DE MORAES, J. R.; DE SOUZA ROLIM, G.

Agricultural zoning of *Coffea arabica* in Brazil for current and future climate scenarios: implications for the coffee industry. **Environment, Development and Sustainability**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 4143–4166, 2023.

LUO, Y.; HUI, D.; ZHANG, D. ELEVATED CO₂ STIMULATES NET ACCUMULATIONS OF CARBON AND NITROGEN IN LAND ECOSYSTEMS: A META-ANALYSIS. **Ecology**, [s. l.], v. 87, n. 1, p. 53–63, 2006.

MANGUL, S.; MOSQUEIRO, T.; ABDILL, R. J.; DUONG, D.; MITCHELL, K.; SARWAL, V.; HILL, B.; BRITO, J.; LITTMAN, R. J.; STATZ, B.; LAM, A. K.-M.; DAYAMA, G.; GRIENEISEN, L.; MARTIN, L. S.; FLINT, J.; ESKIN, E.; BLEKHMANN, R. Challenges and recommendations to improve the installability and archival stability of omics computational tools. **PLOS Biology**, [s. l.], v. 17, n. 6, p. e3000333, 2019.

MARQUES, I.; FERNANDES, I.; PAULO, O. S.; BATISTA, D.; LIDON, F. C.; RODRIGUES, A. P.; PARTELLI, F. L.; DAMATTA, F. M.; RIBEIRO-BARROS, A. I.; RAMALHO, J. C. Transcriptomic Analyses Reveal That *Coffea arabica* and *Coffea canephora* Have More Complex Responses under Combined Heat and Drought than under Individual Stressors. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 25, n. 14, p. 7995, 2024.

MARQUES, I.; FERNANDES, I.; PAULO, O. S.; LIDON, F. C.; DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. C.; RIBEIRO-BARROS, A. I. A Transcriptomic Approach to Understanding the Combined Impacts of Supra-Optimal Temperatures and CO₂ Revealed Different Responses in the Polyploid *Coffea arabica* and Its Diploid Progenitor *C. canephora*. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 3125, 2021.

MARQUES, I.; GOUVEIA, D.; GAILLARD, J.-C.; MARTINS, S.; SEMEDO, M. C.; LIDON, F. C.; DAMATTA, F. M.; RIBEIRO-BARROS, A. I.; ARMENGAUD, J.; RAMALHO, J. C. Next-Generation Proteomics Reveals a Greater Antioxidative Response to Drought in *Coffea arabica* Than in *Coffea canephora*. **Agronomy**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 148, 2022.

MARSCHNER, P. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2. ed. London, UK: Academic Press, [s. d.]. [s. d.]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/C2009-0-63043-9>.

MITTLER, R.; KARLOVA, R.; BASSHAM, D. C.; LAWSON, T. Crops under stress: can we mitigate the impacts of climate change on agriculture and launch the ‘Resilience Revolution’? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 380, n. 1927, p. 20240228, 2025.

NELSON, D.; WERCK-REICHHART, D. A P450-centric view of plant evolution. **The Plant Journal**, [s. l.], v. 66, n. 1, p. 194–211, 2011.

NISHIZAWA, A.; YABUTA, Y.; SHIGEOKA, S. Galactinol and Raffinose Constitute a Novel Function to Protect Plants from Oxidative Damage. **Plant Physiology**, [s. l.], v. 147, n. 3, p. 1251–1263, 2008.

NOAA. **National Oceanic and Atmospheric Administration: Trends in Atmospheric Carbon Dioxide (CO₂)**. , 2025. Disponível em: <https://gml.noaa.gov/ccgg/trends/>. Acesso em: 3 mar. 2025.

NOVAES, F. J. M.; BAYAN, F. C.; AQUINO NETO, F. R.; RESENDE, C. M. THE OCCURRENCE OF CAFESTOL AND KAHWEOL DITERPENES IN DIFFERENT COFFEE BREWS. **Coffee Science**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 265, 2019.

ORTIZ, N.; ARMADA, E.; DUQUE, E.; ROLDÁN, A.; AZCÓN, R. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. **Journal of Plant Physiology**, [s. l.], v. 174, p. 87–96, 2015.

OSAKABE, Y.; OSAKABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L.-S. P. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 5, 2014. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2014.00086/abstract>. Acesso em: 11 mar. 2025.

PALIT, P.; KUDAPA, H.; ZOUGMORE, R.; KHOLOVA, J.; WHITBREAD, A.; SHARMA, M.; VARSHNEY, R. K. An integrated research framework combining genomics, systems biology, physiology, modelling and breeding for legume improvement in response to elevated CO₂ under climate change scenario. **Current Plant Biology**, [s. l.], v. 22, p. 100149, 2020.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, [s. l.], v. 5, p. e47, 2016.

PATERAKI, I.; HESKES, A. M.; HAMBERGER, B. Cytochromes P450 for Terpene Functionalisation and Metabolic Engineering. *Em*: SCHRADER, Jens; BOHLMANN, Jörg (org.). **Biotechnology of Isoprenoids**. Cham: Springer International Publishing, 2015. (Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology). v. 148, p. 107–139. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/10_2014_301. Acesso em: 12 abr. 2025.

PELOSO, A. de F.; TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M. PROMOVIDAS PELO DÉFICIT HÍDRÍCO. **Coffee Science**, [s. l.], v. 12, n. 3, 2017.

POMPELLI, M. F.; MARTINS, S. C. V.; ANTUNES, W. C.; CHAVES, A. R. M.; DAMATTA, F. M. Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. **Journal of Plant Physiology**, [s. l.], v. 167, n. 13, p. 1052–1060, 2010.

RAMALHO, J. C.; RODRIGUES, A. P.; SEMEDO, J. N.; PAIS, I. P.; MARTINS, L. D.; SIMÕES-COSTA, M. C.; LEITÃO, A. E.; FORTUNATO, A. S.; BATISTA-SANTOS, P.; PALOS, I. M.; TOMAZ, M. A.; SCOTTI-CAMPOS, P.; LIDON, F. C.; DAMATTA, F. M. Sustained Photosynthetic Performance of Coffea spp. under Long-Term Enhanced [CO₂]. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 12, p. e82712, 2013.

RODRIGUES, A. P.; PAIS, I. P.; LEITÃO, A. E.; DUBBERSTEIN, D.; LIDON, F. C.; MARQUES, I.; SEMEDO, J. N.; RAKOCEVIC, M.; SCOTTI-CAMPOS, P.; CAMPOSTRINI, E.; RODRIGUES, W. P.; SIMÕES-COSTA, M. C.; REBOREDO, F. H.; PARTELLI, F. L.; DAMATTA, F. M.; RIBEIRO-BARROS, A. I.; RAMALHO, J. C. Uncovering the wide protective responses in Coffea spp. leaves to single and superimposed exposure of warming and severe water deficit. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 14, p. 1320552, 2024.

SADDHE, A. A.; MANUKA, R.; PENNA, S. Plant sugars: Homeostasis and transport under abiotic stress in plants. **Physiologia Plantarum**, [s. l.], v. 171, n. 4, p. 739–755, 2021.

SALOJÄRVI, J.; RAMBANI, A.; YU, Z.; GUYOT, R.; STRICKLER, S.; LEPELLEY, M.; WANG, C.; RAJARAMAN, S.; RASTAS, P.; ZHENG, C.; MUÑOZ, D. S.; MEIDANIS, J.; PASCHOAL, A. R.; BAWIN, Y.; KRABBENHOFT, T. J.; WANG, Z. Q.; FLECK, S. J.; AUSSEL, R.; BELLANGER, L.; CHARPAGNE, A.; FOURNIER, C.; KASSAM, M.; LEFEBVRE, G.; MÉTAIRON, S.; MOINE, D.; RIGOREAU, M.; STOLTE, J.; HAMON, P.;

COUTURON, E.; TRANCHANT-DUBREUIL, C.; MUKHERJEE, M.; LAN, T.; ENGELHARDT, J.; STADLER, P.; CORREIA DE LEMOS, S. M.; SUZUKI, S. I.; SUMIRAT, U.; WAI, C. M.; DAUCHOT, N.; OROZCO-ARIAS, S.; GARAVITO, A.; KIWUKA, C.; MUSOLI, P.; NALUKENGE, A.; GUICHOUX, E.; REINOUT, H.; SMIT, M.; CARRETERO-PAULET, L.; FILHO, O. G.; BRAGHINI, M. T.; PADILHA, L.; SERA, G. H.; RUTTINK, T.; HENRY, R.; MARRACCINI, P.; VAN DE PEER, Y.; ANDRADE, A.; DOMINGUES, D.; GIULIANO, G.; MUELLER, L.; PEREIRA, L. F.; PLAISANCE, S.; PONCET, V.; ROMBAUTS, S.; SANKOFF, D.; ALBERT, V. A.; CROUZILLAT, D.; DE KOCHKO, A.; DESCOMBES, P. The genome and population genomics of allopolyploid *Coffea arabica* reveal the diversification history of modern coffee cultivars. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 56, n. 4, p. 721–731, 2024.

SANCHES, R. F. E.; CATARINO, I. C. A.; BRAGA, M. R.; SILVA, E. A. D. Influência da alta concentração atmosférica de CO₂(↑[CO₂]atm) × disponibilidade hídrica nas relações hídricas, trocas gasosas e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica* L. **Hoehnea**, [s. l.], v. 44, n. 4, p. 635–643, 2017.

SANCHES, R. F. E.; DA CRUZ CENTENO, D.; BRAGA, M. R.; DA SILVA, E. A. Impact of high atmospheric CO₂ concentrations on the seasonality of water-related processes, gas exchange, and carbohydrate metabolism in coffee trees under field conditions. **Climatic Change**, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10584-020-02741-2>.

SANTOS, C. S. D.; FREITAS, A. F. D.; SILVA, G. H. B. D.; TAVARES, M. C. D. S.; CARVALHO, M. A. D. F.; SANTOS, M. D. O.; CARVALHO, G. R.; SILVA, V. A. Selection of genotypes of *Coffea arabica* for drought tolerance based on anatomical and physiological characteristics. **Rodriguésia**, [s. l.], v. 76, p. e00542024, 2025.

SANTOS, T. B. D.; LIMA, R. B. D.; NAGASHIMA, G. T.; PETKOWICZ, C. L. D. O.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; PEREIRA, L. F. P.; DOMINGUES, D. S.; VIEIRA, L. G. E. Galactinol synthase transcriptional profile in two genotypes of *Coffea canephora* with contrasting tolerance to drought. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 182–190, 2015.

SARZYNSKI, T.; VAAST, P.; RIGAL, C.; MARRACCINI, P.; DELAHAIE, B.; GEORGET, F.; NGUYEN, C. T. Q.; NGUYEN, H. P.; NGUYEN, H. T. T.; NGOC, Q. L.; NGAN, G. K.; BOSSOLASCO, L.; ETIENNE, H. Contrasted agronomical and physiological responses of five *Coffea arabica* genotypes under soil water deficit in field conditions. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 15, p. 1443900, 2024.

SCOTTI-CAMPOS, P.; PAIS, I. P.; RIBEIRO-BARROS, A. I.; MARTINS, L. D.; TOMAZ, M. A.; RODRIGUES, W. P.; CAMPOSTRINI, E.; SEMEDO, J. N.; FORTUNATO, A. S.; MARTINS, M. Q.; PARTELLI, F. L.; LIDON, F. C.; DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. C. Lipid profile adjustments may contribute to warming acclimation and to heat impact mitigation by elevated [CO₂] in *Coffea* spp. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 167, p. 103856, 2019.

SELEIMAN, M. F.; AL-SUHAIBANI, N.; ALI, N.; AKMAL, M.; ALOTAIBI, M.; REFAY, Y.; DINDAROGLU, T.; ABDUL-WAJID, H. H.; BATTAGLIA, M. L. Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. **Plants**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 259, 2021.

SEMEDO, J. N.; RODRIGUES, A. P.; LIDON, F. C.; PAIS, I. P.; MARQUES, I.; GOUVEIA, D.; ARMENGAUD, J.; SILVA, M. J.; MARTINS, S.; SEMEDO, M. C.; DUBBERSTEIN, D.;

PARTELLI, F. L.; REBOREDO, F. H.; SCOTTI-CAMPOS, P.; RIBEIRO-BARROS, A. I.; DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. C. Intrinsic non-stomatal resilience to drought of the photosynthetic apparatus in *Coffea* spp. is strengthened by elevated air [CO₂]. **Tree Physiology**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 708–727, 2021.

SHIMONO, H.; SUZUKI, K.; AOKI, K.; HASEGAWA, T.; OKADA, M. Effect of panicle removal on photosynthetic acclimation under elevated CO₂ in rice. **Photosynthetica**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 530–536, 2010.

SILVA, E. A.; DAMATTA, F. M.; DUCATTI, C.; REGAZZI, A. J.; BARROS, R. S. Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of Arabica coffee trees. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 89, n. 2–3, p. 349–357, 2004.

SOUARD, F.; DELPORTE, C.; STOFFELEN, P.; THÉVENOT, E. A.; NORET, N.; DAUVERGNE, B.; KAUFFMANN, J.-M.; VAN ANTWERPEN, P.; STÉVIGNY, C. Metabolomics fingerprint of coffee species determined by untargeted-profiling study using LC-HRMS. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 245, p. 603–612, 2018.

SRIDEVI, V.; GIRIDHAR, P. Variations in Diterpenes-Cafestol and Kahweol Content in Beans of Robusta Coffee Grown at Different Altitudes. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 86, n. 2, p. 291–297, 2016.

STEINER, R. A.; KALK, K. H.; DIJKSTRA, B. W. Anaerobic enzyme-substrate structures provide insight into the reaction mechanism of the copper-dependent quercetin 2,3-dioxygenase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 99, n. 26, p. 16625–16630, 2002.

TAGLIAFERRO, M. O. Uma abordagem integrada para o estudo da biossíntese de diterpenos em. [s. l.],

TAMBELLINI, N.; ZAREMBERG, V.; TURNER, R.; WELJIE, A. Evaluation of Extraction Protocols for Simultaneous Polar and Non-Polar Yeast Metabolite Analysis Using Multivariate Projection Methods. **Metabolites**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 592–605, 2013.

TAVARES, P. D. S.; GIAROLLA, A.; CHOU, S. C.; SILVA, A. J. D. P.; LYRA, A. D. A. Climate change impact on the potential yield of Arabica coffee in southeast Brazil. **Regional Environmental Change**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 873–883, 2018.

TEZARA, W.; LOYAGA, D. W.; REYNEL CHILA, V. H.; HERRERA, A. Photosynthetic Limitations and Growth Traits of Four Arabica Coffee (*Coffea arabica* L.) Genotypes under Water Deficit. **Agronomy**, [s. l.], v. 14, n. 8, p. 1713, 2024.

UDDIN, S.; PARVIN, S.; LÖW, M.; FITZGERALD, G. J.; TAUSZ-POSCH, S.; ARMSTRONG, R.; TAUSZ, M. The water use dynamics of canola cultivars grown under elevated CO₂ are linked to their leaf area development. **Journal of Plant Physiology**, [s. l.], v. 229, p. 164–169, 2018.

VAUGHAN, M. M.; WANG, Q.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D.; HONG, Y. J.; TANTILLO, D. J.; COATES, R. M.; WRAY, A. T.; ASKEW, W.; O'DONNELL, C.; TOKUHISA, J. G.; THOLL, D. Formation of the Unusual Semivolatile Diterpene Rhizathalene by the *Arabidopsis* Class I Terpene Synthase TPS08 in the Root Stele Is Involved in Defense against Belowground Herbivory. **The Plant Cell**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 1108–1125, 2013.

WANG, Q.; HILLWIG, M. L.; WU, Y.; PETERS, R. J. CYP701A8: A Rice *ent*-Kaurene Oxidase Paralog Diverted to More Specialized Diterpenoid Metabolism. **Plant Physiology**, [s. l.], v. 158, n. 3, p. 1418–1425, 2012.

YAMAMURA, C.; MIZUTANI, E.; OKADA, K.; NAKAGAWA, H.; FUKUSHIMA, S.; TANAKA, A.; MAEDA, S.; KAMAKURA, T.; YAMANE, H.; TAKATSUJI, H.; MORI, M. Diterpenoid phytoalexin factor, a BHLH transcription factor, plays a central role in the biosynthesis of diterpenoid phytoalexins in rice. **The Plant Journal**, [s. l.], v. 84, n. 6, p. 1100–1113, 2015.

ZHANG, Y.; SMITH, P.; MAXIMOVA, S. N.; GUILTINAN, M. J. Application of glycerol as a foliar spray activates the defence response and enhances disease resistance of *Theobroma cacao*. **Molecular Plant Pathology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 27–37, 2015.

ZINTA, G.; ABDELGAWAD, H.; PESHEV, D.; WEEDON, J. T.; VAN DEN ENDE, W.; NIJS, I.; JANSSENS, I. A.; BEEMSTER, G. T. S.; ASARD, H. Dynamics of metabolic responses to periods of combined heat and drought in *Arabidopsis thaliana* under ambient and elevated atmospheric CO₂. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 69, n. 8, p. 2159–2170, 2018.

ZISKA, L. H. Rising Atmospheric Carbon Dioxide and Plant Biology: The Overlooked Paradigm. **DNA and Cell Biology**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 165–172, 2008.