



**ANDREA JARAMILLO MESA**

**VASCULARIZAÇÃO EM GEMAS FLORAIS DE CAFEEIRO  
(*Coffea arabica* L.) EM DIFERENTES CONDIÇÕES HÍDRICAS E  
HORMONAIAS**

**LAVRAS – MG  
2020**

**ANDREA JARAMILLO MESA**

**VASCULARIZAÇÃO EM GEMAS FLORAIS DE CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.) EM  
DIFERENTES CONDIÇÕES HÍDRICAS E HORMONAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal para obtenção do título de mestre.

Antonio Chalfun Júnior, PhD (UFLA/DBI)  
Orientador

André Almeida Lima, PhD (UFLA/DBI)  
Coorientador

**Lavras – MG  
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo (a) próprio (a) autor (a).**

Jaramillo Mesa Andrea.

Vascularização de gemas florais de cafeeiro (*Coffea arabica*  
L.) em diferentes condições hídricas e hormonais/ Andrea Jaramillo  
Mesa. - 2020.

74 p.

Orientador (a): Antonio Chalfun Júnior.

Coorientador (a): André Almeida Lima.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Cafeeiro. 2. Gemas florais. 3. Etileno. I. Chalfun-Júnior,  
Antonio. II. Almeida Lima, André. III. Título.

**ANDREA JARAMILLO MESA**

**VASCULARIZAÇÃO EM GEMAS FLORAIS DE CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.) EM  
DIFERENTES CONDIÇÕES HÍDRICAS E HORMONAIS**

**VASCULARIZATION IN COFFEE FLOWER BUDS (*Coffea arabica* L.) IN DIFFERENT  
WATER AND HORMONAL CONDITIONS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal para obtenção do título de mestre.

APROVADO em 12 de fevereiro de 2020  
Dra. Vanessa Cristina Stein           UFSJ  
Dra. Marinês Ferreira Pires Lira    UFLA

Prof. PhD. Antonio Chalfun Júnior  
Orientador

PhD. André Almeida Lima  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2020**

*Para mi familia, pilar de mi vida,  
Por mi energía, por mi fuerza y mi valor,  
Dedico,*

## AGRADECIMENTOS

Agradecer es dar valor a un favor, sentirte honrado por que te han ayudado y también porque es un gesto de buena educación con quienes nos han brindado su colaboración.

Fueron muchas las personas y situaciones que me ayudaron a llevar a cabo este proyecto de investigación y hoy, finalmente realizado, quisiera agradecer a:

Brasil, por permitirme conocer un nuevo lugar, cultura e idioma.

A la Universidad Federal de Lavras por permitirme estudiar y seguir creciendo profesionalmente.

Al *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) por el sustento económico para el desarrollo del presente trabajo.

Al departamento de Fisiología Vegetal por la educación y enseñanzas.

Al Laboratorio de Fisiología Molecular en Plantas y a sus miembros de trabajo, por permitirme desarrollar este proyecto de investigación.

A mi orientador Antonio Chalfun Júnior por la oportunidad.

A mi coorientador André por su acompañamiento.

A mis compañeros por su apoyo.

A mis amigos por ayudarme en momentos difíciles.

A mi familia por su grande amor.

Al universo por su perfecta sincronía.

Y finalmente, a todas las personas que conocí en este hermoso país, a todas las situaciones que viví que me hicieron crecer y llegar hasta este momento de logro y realización personal.

¡Gracias!

## RESUMO

O café como *commodity* tem anualmente grandes demandas para sua comercialização e consumo, e o Brasil é considerado o país líder em sua produção. No entanto, um dos principais problemas que a cafeicultura brasileira ainda enfrenta é a falta de sincronia no processo de floração, pois as floradas que ocorrem em períodos diferentes resultam em frutas com diferentes graus de maturação, o que aumenta os custos da colheita, dificulta o controle de pragas e doenças e altera a qualidade final da bebida de café. Portanto o presente trabalho fornece conhecimentos que contribuem para a compreensão do problema da falta de homogeneização durante a formação da inflorescência do cafeeiro, tendo como objetivo principal avaliar o desenvolvimento da vascularização dos estádios G3 e G4 (MORAIS *et al.*, 2008) de gemas florais de *Coffea arabica* L. em diferentes condições hídricas e hormonais. Assim, por meio de análises anatômicas foram avaliados o desenvolvimento da vascularização de gemas florais de cafeeiros sob tratamentos de estresse hídrico e irrigação e da quantificação da produção de etileno de folhas e gemas, em condições de casa de vegetação. Também foram avaliadas a produção de etileno de folhas e gemas, e o desenvolvimento da vascularização de gemas florais nos estádios de desenvolvimento G3 e G4 de cafeeiros em campo, sob tratamentos com aplicações exógenas de agentes para e estimulação da biossíntese hormonal do etileno (Ethrel<sup>®</sup>), e o inibidor da ação do etileno 1-MCP (1-MCP + surfactante Break-thru<sup>®</sup>). Os valores resultantes da quantificação da produção de etileno ( $\text{ppm g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), durante a avaliação dos diferentes tratamentos nos dois experimentos, mostraram ser sempre maiores nas gemas florais em comparação com os valores das folhas. Em casa de vegetação, o desenvolvimento da área do procâmbio das gemas florais de cafeeiros sob irrigação foi maior, em comparação com o desenvolvimento das gemas florais desenvolvidas sob estresse hídrico. No campo, foi observado que o desenvolvimento do procâmbio, foi maior em gemas de plantas pulverizadas com Break - thru<sup>®</sup> (controle da calda 1-MCP + surfactante), as quais apresentaram uma maior espessura do meristema procambial, e maior diferenciação celular. A análise de correlação mostrou uma correlação positiva entre a área do procâmbio e a produção de etileno resultante do experimento. No tratamento com Break - thru<sup>®</sup>, houve uma correlação positiva média ( $r = 0.87$ ) e uma forte correlação positiva ( $r = 0.96$ ), 15 e 30 dias após a aplicação, respectivamente. Esses dados indicam níveis mais altos de etileno e maior desenvolvimento de procâmbio em gemas florais. Finalmente o presente estudo fornece novas informações da produção de etileno de folhas e gemas florais de cafeeiros sob diferentes condições hídricas em casa de vegetação, e a produção de etileno de cafeeiros pulverizados com agentes para a inibição da ação e estimulação da biossíntese hormonal do etileno em campo.

**Palavras-chave:** Cafeeiro, gema floral, procâmbio, disponibilidade hídrica, Etileno.

## ABSTRACT

Coffee as a commodity has great demands for its commercialization and consumption every year and Brazil is considered the leading country in its production. However, one of the main problems that Brazilian coffee farming still faced is the lack of synchrony in the flowering process, because blossoms that occur in different periods, result in fruits with different degrees of ripeness, which increases the costs of the harvest, hindering the control of diseases, and changes the final quality of the coffee drink. Therefore, the present research provides new knowledge that contributes to the understanding of the problem of poor synchronization in floral development, with the aim to evaluate the development of vascularization in stages G3 and G4 (MORAIS *et al.*, 2008) of floral buds of *Coffea arabica* L. under different conditions of water and hormones. Thus, by anatomical analyses the development of vascularization of floral buds of coffee trees under water deficit and irrigation treatments and the quantification of ethylene production of leaves and buds, in greenhouse conditions were evaluated. Also, it was evaluated the ethylene production and the development of vascularization of floral buds in stages G3 and G4 in the field, under treatments with exogenous applications of agents that simulate the biosynthesis of the ethylene hormone (Ethrel<sup>®</sup>), and the inhibition of ethylene action with 1-MCP (1-MCP + surfactant Break - thru<sup>®</sup>). The values resulting from the quantification of ethylene production ( $\text{ppm g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), during the evaluation of the different treatments showed a higher production in floral buds compared to the hormone production of leaves. In addition, the vascularization development of flower buds under irrigation was greater than flower buds under water deficit. Also, it was observed that the development of procambium was greater in floral buds treated with Break - thru<sup>®</sup>, which showed greater development and thickness of the procambial meristem. The correlation analysis showed a positive correlation between the procambium area and the ethylene production resulting from the experiment. In the treatment with Break - thru<sup>®</sup>, there was an average positive correlation ( $r = 0.87$ ) and a strong positive correlation ( $r = 0.96$ ), 15 and 30 days after application, respectively. Data indicate higher levels of ethylene and greater development of procambium in flower buds. Finally, the present work provides new information on the production of ethylene from leaves and floral buds of coffee trees under different water conditions in greenhouse, and the production of ethylene from coffee plants sprayed with agents that stimulate their biosynthesis or inhibit its action in the field.

**Keywords:** Coffee, floral bud, procambium, water availability, Ethylene.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Flor de <i>C. arabica</i> L. (Jaramillo, 2019).	7
Figura 2 - Fases fenológicas reprodutivas do cafeeiro (Morais <i>et al.</i> , 2008).	8
Figura 3 - Desenvolvimento desuniforme de gemas florais de <i>C. arabica</i> L. (Jaramillo, 2019).	10
Figura 4 - Ciclo de Yang (1979) da biossíntese da produção de etileno (Jordán & Casaretto, 2006).	13
Figura 5 - Mecanismo da inibição do 1-MCP por meio da ligação com os receptores de membrana do etileno (Pereira, 2019 adaptado de Blankenship, 2001).	14
Figura 6 - Reação química que mostra como é liberado o etileno, quando o Ethrel é aplicado na planta (Taiz & Zeiger, 2007).	16
Figura 7 - Cafeeiros adultos cultivados em vasos de 50 L, mantidos em condições de casa de vegetação (Jaramillo, 2019).	19
Figura 8 - Câmara de Scholander e sensor de umidade de solo volumétrica (Jaramillo, 2019).	20
Figura 9 - Analisador de Gás Etileno Portátil CI-900 (CID - BioScience Inc.), gemas florais e folhas de cafeeiro coletadas em tubos de vidro (10 mL) (Jaramillo, 2019).	21
Figura 10 - Blocos de gemas florais de cafeeiro tratadas com o kit HistoResin (Leica Microsystems, Heidelberg, Alemanha). (Jaramillo, 2019).	22
Figura 11 - Cultivar de <i>C. arabica</i> L. na fazenda Cafuá no município de Ijací, MG, Brasil (Jaramillo, 2019).	23
Figura 12 - Potenciais hídricos foliares medidos antes do amanhecer (aa) e ao meio dia (md) em plantas mantidas sob condições de casa de vegetação com imposição de dois tratamentos; Tratamento 1, plantas irrigadas e Tratamento 2, plantas submetidas a um período de estresse hídrico.	26
Figura 13 - Produção de etileno de folhas e gemas florais desenvolvidas sob tratamentos de irrigação e estresse hídrico em condições de casa de vegetação.	27
Figura 14 - Cafeeiros em condições de casa de vegetação. A e B, plantas irrigadas com gemas em diferentes estádios de desenvolvimento. C e D, plantas mantidas sob um período de estresse hídrico com desenvolvimento uniforme das gemas florais dias após da reidratação.	28
Figura 15 - Secções transversais de gemas florais de cafeeiros irrigados.	29
Figura 16 - Secções transversais de gemas florais de cafeeiros que se desenvolveram durante um período de estresse hídrico.	30
Figura 17 - Secções transversais de gemas florais de cafeeiros sob diferentes condições hídricas. A e B, gemas florais desenvolvidas sob um período de estresse hídrico.	31
Figura 18 - Produção de etileno de folhas e gemas florais de plantas controle em condições de campo.	32

- Figura 19 - Medidas da produção de etileno de folhas e gemas de cafeeiros pulverizados com o surfactante Break-thru<sup>®</sup> em condições de campo. 33
- Figura 20 - Medidas da produção de etileno de folhas e gemas florais de plantas em condições de campo pulverizadas com três concentrações de 1-MCP. 34
- Figura 21 - Medidas da produção de etileno de folhas e gemas florais de plantas em condições de campo pulverizadas com três concentrações de Ethrel<sup>®</sup>. 36
- Figura 22 - Produção de etileno em folhas e gemas florais de cafeeiro em condições de campo sob diferentes tratamentos. Tempos de coleta: T1 - 15 dias após a aplicação dos produtos (DAA) e T2 - 30 dias após a aplicação dos produtos (DAA). 37
- Figura 23 - Medidas da área do desenvolvimento procambial em cortes transversais de gemas florais de cafeeiro sob tratamentos com 1-MCP (150 mg de i.a. <sup>-1</sup>), Break-trhu<sup>®</sup> e Ethrel<sup>®</sup> (2,6 mL <sup>-1</sup>). 38
- Figura 24 - Secções transversais de gemas florais de cafeeiro, coletadas 15 dias após a aplicação dos tratamentos. 39
- Figura 25 - Secções transversais de gemas florais de cafeeiro, coletadas 30 dias após a aplicação dos tratamentos. 40
- Figura 26 - Correlação entre os níveis de etileno medidos na maior concentração dos produtos aplicados no campo, e as medidas das áreas do procâmbio de gemas florais de cafeeiro. 41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tratamentos utilizados em plantas de <i>C. arabica</i> L. em condições de campo.....	24
---	----

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>5</b>
2,1	Aspectos econômicos do cafeeiro.....	5
2.2	Aspetos gerais do florescimento do cafeeiro .....	6
2.2.1	Aspectos botânicos do cafeeiro .....	6
2.2.2	Desuniformidade no processo de floração.....	9
2.3	Influência do déficit hídrico no florescimento do cafeeiro.....	10
2.4	Papel do etileno no florescimento.....	12
2.5	1-MCP como inibidor da ação de etileno .....	14
2.6	Ethrel .....	16
2.7	Influência do déficit hídrico e do etileno sobre o desenvolvimento do sistema vascular .....	18
<b>3.</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>19</b>
3.1	Experimento em Casa de vegetação.....	19
3.1.1	Local.....	19
3.1.2	Instalação do experimento .....	19
3.1.3	Tratamentos e Material vegetal .....	20
3.1.4	Análises fisiológicas .....	21
3.1.5	Análises anatômicas.....	23
3.1.6	Análises estatísticas .....	24
3.2	Experimento em campo.....	24
3.2.1	Local.....	24
3.2.2	Tratamentos e Delineamento Experimental .....	25
3.2.3	Coleta do material .....	26
3.2.4	Análises fisiológicas .....	27
3.2.5	Análises anatômicas.....	27
3.2.6	Análises estatísticas .....	27
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>27</b>
4.1	Experimento em Casa de Vegetação.....	27
4.1.1	Análises fisiológicas .....	27
4.1.2	Análises anatômicas.....	30
4.2	Experimento em Campo .....	34
4.2.1	Análises fisiológicas .....	34

4.2.2	Análises anatômicas.....	40
5.	DISCUSSÃO .....	45
5.1	Experimento – Casa de vegetação .....	45
5.1.1	Análises fisiológicas .....	45
5.2	Experimento em campo.....	49
5.2.1	Análises fisiológicas .....	49
6.	CONCLUSÃO.....	52
7.	BIBLIOGRAFIA .....	53

## 1. INTRODUÇÃO

O café, um produto de grande importância no nível socioeconômico é conhecido principalmente pelo seu delicioso gosto e aroma. Países de todos os continentes são responsáveis pela sua comercialização, sendo o Brasil considerado o maior produtor de café no mundo (MURILO, 2004; SANTOS & NOVAIS, 2018). Desde o surgimento da produção de café no Brasil, suas plantações foram expandidas do Sudeste para todas as outras regiões. Por esse motivo, a cafeicultura brasileira é caracterizada pela sua diversidade dos mais variados tipos de grãos que obtém todas as qualidades para uma ótima bebida, sendo o Estado de Minas Gerais o maior produtor do país (MELO & SOUSA, 2011, SANTOS & NOVAIS, 2018).

A etapa fenológica reprodutiva do cafeeiro, está diretamente associada com a subsequente produção da cultura, e o normal desenvolvimento do fruto de café depende do processo de desenvolvimento da flor. Devido a isso, é importante considerar na estimativa de colheita, perdas de flores que não se desenvolverão e também quedas de frutos, prejudicando assim, a produção. Outro aspecto importante para considerar é que, o florescimento do cafeeiro é caracterizado por ser de tipo gregário, ou seja, todas as plantas de uma mesma região florescem simultaneamente tendo um número variável de floradas. Além disso, fatores fisiológicos como a disponibilidade de nutrientes, o *status* hídrico das plantas, hormônios e fatores climáticos como chuvas precedidas por períodos de seca, são as principais condições responsáveis pela indução desta fase reprodutiva com desenvolvimento da flor e o fruto do cafeeiro (ARCILA, 2007; BENETTI *et al.*, 2011; ZAPATA, 2013).

No entanto, um dos principais problemas ainda enfrentados para esta cultura, é a falta de sincronia no processo de floração que afeta de forma significativa à produção, pois floradas que ocorrem em períodos distintos, resultam em frutos com diferentes estádios de maturação na época da colheita. Essa falta de uniformidade do florescimento, no Brasil, aumenta os custos para sua produção, dificulta o controle de pragas e doenças e também acarreta em alterações na qualidade final da bebida. Portanto, em virtude da sua importância, é de grande valor gerar conhecimento que determine para o produtor a implementação de técnicas que permitam um florescimento mais

homogêneo e conseqüentemente uma maturação dos grãos mais uniforme (CRISOSTO *et al.*, 1992; SOARES *et al.*, 2005; MELO & BARBOSA, 2011).

Um evento amplamente documentado em diferentes áreas cafeeiras do mundo é o período de dormência das gemas florais, onde após atingir um estágio de desenvolvimento que pode variar dependendo da espécie e tipo de cultivar, cessam seu crescimento ficando latentes (MAJEROWICZ, 1984). Em condições naturais no Brasil, este estado coincide com a estação seca do ano que, uma vez finalizada com o início da queda das chuvas, os botões novamente retomam rapidamente seu crescimento até a floração (BARROS *et al.*, 1978; GOUVEIA *et al.*, 1984; MAJEROWICZ, 1984). Alguns estudos sugerem que esse período de dormência, além de ser quebrado como consequência do aumento do potencial hídrico no solo e na planta, poderia estar mediado por uma cascata de sinalização da raiz para a parte aérea que gera uma resposta da retomada do crescimento da gema floral, e mensageiros químicos como os fitormônios, seriam transportados via xilema até o botão, para a continuidade do seu desenvolvimento (CRISOSTO *et al.*, 1992; MORAIS *et al.*, 2008; BENETTI *et al.*, 2011).

De Oliveira *et al.* (2014) observaram que, o problema da assincronia na floração do cafeeiro parece relacionar-se com dois processos independentes: o desenvolvimento assíncrono das gemas antes da indução reprodutiva, e o desenvolvimento assíncrono dos meristemas florais dentro de cada gema após a indução reprodutiva. Crisosto *et al.* (1992), a partir de um experimento com a raiz do cafeeiro dividida e submetida a diferentes condições hídricas, observaram que é perceptível a diferença no comprimento das gemas, mesmo assim sua origem vem a partir do mesmo nó, diferentes estádios de desenvolvimento mostraram respostas diferenciadas ao retorno da irrigação. Esta resposta diferenciada, foi atribuída ao fato das gemas no estágio de desenvolvimento três (*Stage 3, tight green cluster*) e gemas no estado de desenvolvimento quatro (*Stage 4, open white cluster*) descritas no trabalho, apresentarem diferenças anatômicas no desenvolvimento do tecido vascular, o qual foi observado mediante cortes transversais na base do pecíolo de cada botão floral (CRISOSTO *et al.*, 1992).

Para distinguir as diferentes fases reprodutivas do cafeeiro no campo, foi proposto por Morais *et al.* (2008) uma escala fenológica detalhada que caracterizou cada uma delas. No caso da fase de desenvolvimento da gema floral, esta foi identificada com a letra G, assim que, de acordo com tamanho e aparência de cada botão, as diferentes etapas foram nomeadas do estado de

desenvolvimento G1 até o G6. No presente trabalho, a etapa de desenvolvimento G3 (gemas com até 3 mm de comprimento) e a G4 (gemas medindo 3,1 a 6 mm de comprimento) foram o objeto de estudo, sendo que as características da gema G4 descritas por Morais *et al.* (2008) coincidem com as características das gemas florais que entram no período de latência mencionado por Arcila (2007), que descreveu como os botões florais ao atingir o comprimento entre 4 a 6 mm, param o seu crescimento entrando num estágio de repouso. Outro aspecto levado em conta foi que, anatomicamente o “*Stage 4*” caracterizado por apresentar no pedicelo diferenciação da vasculatura secundária, foi o estágio de desenvolvimento a partir do qual a gema floral foi suscetível ao aumento do potencial hídrico da planta, com a posterior retomada do seu crescimento. Contrário ao pedicelo do “*Stage 3*”, onde foi só observado desenvolvimento vascular primário e não houve uma resposta perceptível após a re-irrigação (CRISOSTO *et al.*, 1992).

De acordo com o descrito anteriormente, foi proposto que a estimulação de um maior desenvolvimento vascular em gemas florais G3 de cafeeiro, poderia melhorar a capacidade hidráulica da gema para receber nutrientes e sinais bioquímicos como os fitohormônios. Uma vez que a gema iria apresentar uma resposta similar às gemas do estágio G4 (CRISOSTO *et al.*, 1992; MORAIS *et al.*, 2008). Conseqüentemente, o seu processo de crescimento seria acelerado com o aumento do potencial hídrico, por exemplo, com o começo da queda das chuvas no campo, favorecendo uma floração mais concentrada. No entanto, como estimular o desenvolvimento vascular das gemas florais G3 no campo? Em *Populus*, árvores lenhosas cultivadas *in vitro*, tratadas com o precursor da biossíntese de etileno ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico), apresentaram, durante o desenvolvimento vegetativo, mudanças na vascularização ao reduzir o diâmetro e aumentar a densidade dos vasos do xilema no caule. Além disso, experimentos com o inibidor da ação do etileno 1-MCP (1-Metilciclopropeno), mostraram que o aumento na produção de madeira de tensão, levou ao aumento da produção de etileno nesta área (LOVE *et al.*, 2009).

Por outro lado, Avelar (2018) avaliou a expressão de genes envolvidos na rota da biossíntese de etileno em folhas e raízes de mudas de café, mantidos em condições de casa de vegetação e submetidas a estresse hídrico, a partir de três potenciais hídricos foliares (-1,2MPa, -0,4MPa e -0,25 MPa). Além de análises anatômicas em folhas jovens que se desenvolveram durante o período de déficit hídrico, as diferentes observações, mostraram características como o maior número de vasos do xilema e maior área do floema. Assim mesmo, em conjunto com análises

da expressão gênica, os resultados demonstraram uma redução na expressão de genes envolvidos na rota de biossíntese de etileno na parte aérea, após um período de déficit hídrico, e um aumento da expressão dos mesmos na parte aérea, após a re-irrigação (AVELAR, 2018).

Plantas de cafeeiro na fase de desenvolvimento das gemas reprodutivas, pulverizadas com o inibidor da ação do etileno 1-MCP (1-metilciclopropeno), responderam com o aumento da expressão de genes envolvidos na cascata de sinalização da biossíntese do etileno (LIMA, 2015; SANTOS, 2016), mas também, provocaram uma resposta visual de antese das gemas florais nos estádios de desenvolvimento mais avançados. Esta resposta da abertura da gema, foi similar nas plantas em campo após o início das chuvas e em condições naturais de irrigação (LIMA, 2015). Dessa forma, acredita-se que o etileno tenha um papel importante na regulação da floração do café, e o estudo mais aprofundado da relação do desenvolvimento vascular/gema floral/etileno, poderia ser uma ferramenta valiosa para uma melhor compreensão do processo reprodutivo da planta no nível fisiológico.

Portanto em hipótese, o maior desenvolvimento da vascularização de gemas florais a partir do estágio de desenvolvimento G3, promovida por aplicações exógenas de agentes para estimulação da biossíntese hormonal do etileno, poderão permitir um maior fluxo de nutrientes da planta para as gemas, o que impactaria de forma positiva para seu desenvolvimento em tempo e vigor. Em conjunto com a aquisição da capacidade de uma resposta similar ao estágio de desenvolvimento da gema G4, frente a condições endógenas e exógenas, como o aumento do potencial hídrico na planta, o que ajudaria na diminuição do número de eventos de floração, repercutindo em um florescimento mais uniforme.

Diante o exposto, no presente trabalho foram desenvolvidos dois experimentos com o intuito de: I – Observar em condições controladas de casa de vegetação, o desenvolvimento da vascularização das gemas florais de cafeeiros nos estádios de desenvolvimento G3 e G4, submetidos a condições de irrigação e estresse hídrico, e a sua relação com a produção de etileno em folhas e gemas florais, e II – verificar a influência no desenvolvimento da vascularização de gemas florais de cafeeiro em condições no campo, sob aplicações exógenas de agentes para a estimulação da biossínteses hormonal do etileno e agentes para a inibição da sua ação.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos econômicos do cafeeiro

No mundo a venda de café representa uma importante fonte de recursos para países da América Latina, África e Ásia (MURILO, 2004). Como produto agrícola, o café tem anualmente grandes demandas em sua comercialização para consumo, e o Brasil é considerado o país líder em sua produção, sendo a primeira estimativa de produção para o ano 2020 entre 57,15 e 62,02 milhões de sacas beneficiadas, representando o café arábica cerca de 75% da produção total (arábica e conilon) de café do país (CONAB, 2020).

De forma histórica para o Brasil e outros países, o cultivo do cafeeiro permitiu o desenvolvimento e crescimento socioeconômico, já que com a sua produção e comercialização, a industrialização foi impulsionada ao longo do tempo (VILELA & RUFINO, 2010; VALE, PEREIRA, NAVES, 2012). Por esta razão, parte do território brasileiro é utilizado pela cultura de café que graças às variabilidades no clima, altitude, latitude e o tipo de solo, tem a possibilidade de ser comercializado atendendo às diferentes demandas anualmente (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2019).

A produção do café brasileiro é concentrada em cinco estados principalmente: Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Bahia, e Minas Gerais, sendo esse último considerado o maior produtor do país (LOPES *et al.*, 2011). Atualmente, o estado mineiro continua desenvolvendo diferentes tipos de estratégias em conjunto com a transferência de novas tecnologias e elaboração de pesquisas para sua ótima produção. As diferentes condições naturais favoráveis que envolvem o território, em conjunto a expansão das áreas plantadas, contribuem para que continue sendo reconhecido como o Estado mais produtivo (VALE, PEREIRA, NAVES, 2012; CONAB, 2019).

## 2.2 Aspectos gerais do florescimento do cafeeiro

### 2.2.1 Aspectos botânicos do cafeeiro

Os cafeeiros são considerados árvores e arbustos que crescem em áreas tropicais, que foram descritas por Linneo em meados do século XVIII. Oriundo do continente africano e algumas ilhas do Oceano Índico (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION, 2019), o café pertence à família *Rubiaceae* e ao gênero *Coffea*. Existem aproximadamente 103 espécies, mas apenas duas são consideradas as mais dominantes para o setor econômico: *Coffea arabica* L. (cafeeiro arábica) e *Coffea canephora* P. (cafeeiro robusta) (DAVIS *et al.*, 2006; EIRA *et al.*, 2006).

O cafeeiro é um arbusto monocaule e perene que alcança uma altura de dois a seis metros em condições de tratos culturais (PINARD, 2007). A arquitetura da copa é cilíndrica em função do desenvolvimento da parte aérea, sobre um ramo único que cresce verticalmente denominado ortotrópico. A partir desse ramo, desenvolvem-se os ramos horizontais ou plagiotrópicos, também conhecidos como ramos produtivos por apresentarem o desenvolvimento das gemas florais que formam finalmente os frutos (BATISTA, 2010).

As flores do cafeeiro, são formadas nos brotos localizados nas axilas das folhas nos nós dos galhos. O processo do desenvolvimento floral, pode ser observado a partir do desenvolvimento da inflorescência nas axilas das folhas (nós), e a partir do desenvolvimento dos botões florais em cada inflorescência. Com relação à arquitetura do surgimento dos brotos nos ramos, cada nó do ramo plagiotrópico, possui duas axilas opostas. Em cada axila são formados de três a quatro brotos ou gemas florais, e em cada uma delas, entre quatro e cinco flores. Em um nó existem potencialmente entre 24 e 32 botões florais (12 a 16 gemas florais por axila). Cada broto ou gema está constituída por um pedúnculo, que contém vários nós nos quais são inseridas duas folhas minúsculas e opostas (brácteas) e em cujas axilas existem entre três e cinco gemas florais. Este conjunto constitui a inflorescência que também é chamada de glomérulo (ARCILA *et al.*, 2007).

As flores são hermafroditas e também possuem um pedicelo e cálice curto com cinco segmentos, corola formada por cinco pétalas brancas soldadas entre si, e para cada pétala, um

estame curto onde se localizam as anteras. Além disso, apresentam um ovário ínfero com dois lóculos, de forma que cada um contém um óvulo (ARCILA *et al.*, 2007).

Figura 1. - Flor de *C. arabica* L.



Fonte: Jaramillo (2019).

No ciclo fenológico do cafeeiro, uma sucessão de fases vegetativas e reprodutivas ocorrem em aproximadamente dois anos, comportamento diferente da maioria das plantas, já que as inflorescências usualmente são emitidas na primavera e os frutos são formados no mesmo ano (CAMARGO, 1985). Assim o começo da etapa reprodutiva inicia-se com a floração, processo que compreende várias etapas: 1) indução, 2) iniciação, 3) diferenciação, 4) crescimento e desenvolvimento, 5) dormência e 6) antese. A partir deste processo, a colheita resultante dependerá da magnitude do florescimento. Cada uma dessas fases é afetada por fatores exógenos e endógenos que determinam diferentes padrões de crescimento e desenvolvimento das gemas florais, o que também dependerá, do tipo de cultivar e as condições ambientais predominantes (CARVALHO, 2008).

Certamente a transição de gemas do estágio vegetativo para o reprodutivo é um processo biologicamente irreversível, diferenciado em três etapas principais. A primeira conhecida como indução, consiste em um evento iniciado nos tecidos meristemáticos resultante das condições fisiológicas a partir de estímulos ambientais como o fotoperíodo, importante para que a planta esteja apta para o processo de florescimento. Em seguida à evocação, ocorre a formação dos primórdios florais envolvendo processos morfológicos, bioquímicos e fisiológicos que finalmente

permitirão que a gema evocada na terceira etapa ou de iniciação seja reconhecida como uma gema floral (MORAIS *et al.*, 2008; MELO & BARBOSA, 2011). Portanto, após essa série de eventos, as gemas florais brotam e crescem de forma contínua durante dois meses (G), passando pelo processo de floração (FL) até a frutificação (F) e a maturação (M) (ALVES *et al.*, 2003).

Do mesmo modo, o começo do evento da floração, a partir da formação da gema floral, pode ser diferenciado em diferentes fases: 1) indução, 2) iniciação, 3) diferenciação, 4) crescimento e desenvolvimento, 5) dormência e 6) antese. A partir deste processo a colheita resultante, dependerá da magnitude do florescimento, sendo cada uma dessas fases afetada por fatores tanto exógenos como endógenos, o tipo de cultivar e principalmente as condições ambientais que predominem em um certo período para cada processo, que irão determinar finalmente os diferentes padrões de crescimento e desenvolvimento das gemas florais (CARVALHO, 2008).

Igualmente, à medida que a gema floral cresce, vai adquirindo características que permitem ao observador diferenciar sua fase de desenvolvimento. Morais *et al.* (2008) caracterizaram essas mudanças da seguinte forma: nós com gemas indiferenciadas, correspondem ao estágio G1; nós com gemas intumescidas estágio G2; gemas com até três milímetros de comprimento estágio G3; gemas que podem medir de 3,1 a 6 milímetros de comprimento estágio G4; gemas de 6,1 a 10 milímetros com uma característica coloração verde claro estágio G5 e gemas maiores que 10 milímetros e coloração branco estágio G6. Usualmente a abertura das flores (FL) apresenta-se nas primeiras horas da manhã, as quais murcham no segundo dia e caem no terceiro dia encerrando assim ao processo de desenvolvimento floral (Figura 2).

Figura 2. - Fases fenológicas reprodutivas do cafeeiro



Legenda: Caracterização das subfases fenológicas reprodutivas do cafeeiro: **G1** nós com gemas indiferenciadas, **G2** nós com gemas intumescidas, **G3** gemas com até 3 mm de comprimento, **G4** gemas medindo 3,1 a 6 mm de comprimento, **G5** gemas de 6,1 a 10 mm (coloração verde claro) e **G6** gema maior que 10 mm (coloração branca). Fonte: Morais *et al.* (2008).

### 2.2.2 Desuniformidade no processo de floração

O florescimento do cafeeiro é de tipo gregário e todas as plantas de uma região florescem simultaneamente com um número variável de floradas. O comportamento climático, como o início das chuvas precedido por um período de déficit hídrico, são considerados fatores importantes para o desenvolvimento das gemas e o processo de florescimento (SOARES *et al.*, 2005). No começo da etapa reprodutiva, as gemas florais após atingirem um tamanho definido entram em repouso, evento esse que coincide com a estação seca do ano, que logo após o começo das chuvas, serão então promovidas a continuar o desenvolvimento até a floração (GOUVEIA *et al.*, 1984). Foi sugerido que a quebra da dormência (evento esse que acontece no período de seca), ocorre devido a modificações na sinalização da raiz para a parte aérea durante o fim do período de estresse. Assim, após o aumento do potencial hídrico, mensageiros químicos como os fitormônios, seriam capazes de estimular a retomada do processo de desenvolvimento dos botões florais até o momento da antese e aparição da flor (CRISOSTO *et al.*, 1992; NEVES DO NASCIMENTO *et al.*, 2008).

A produtividade da lavoura, depende da fenologia da cultura do café que, é influenciada pelas diferentes condições meteorológicas, como a pluviosidade e temperatura, as quais afetam os diferentes processos de desenvolvimento da planta, entre eles a floração (TEIXEIRA *et al.*, 2012). Nesse contexto, um dos principais problemas ainda enfrentados pela cafeicultura é a falta de sincronia no processo de floração, que afeta a maturação uniforme dos frutos, já que fenômenos como quedas de chuvas esporádicas no período de seca, nas condições tropicais do Brasil, promovem o crescimento e desenvolvimento de gemas florais em estádios avançados. Essas floradas que ocorrem em períodos distintos, resultam em frutos com diferentes estádios de maturação, e esta falta de uniformidade no processo (Figura 3), acarreta no aumento nos custos da colheita, dificulta o controle de pragas e doenças, e também altera a qualidade final da bebida. Portanto, é importante gerar conhecimento que determine para o produtor a implementação de técnicas que permitam um florescimento mais homogêneo e conseqüentemente uma maturação dos grãos mais uniforme (CRISOSTO *et al.*, 1992; MELO & BARBOSA, 2011).

Figura 3. - Desenvolvimento desuniforme de gemas florais de *C. arabica* L.



Fonte: Jaramillo (2019).

### **2.3 Influência do déficit hídrico no florescimento do cafeeiro**

A espécie *Coffea arabica* L. apresenta comportamento de planta de dias curtos. O limite para o dia ser considerado curto e induzir uma diferenciação das gemas florais, é de 13 a 14 horas

diárias de luz efetiva (MONACO *et al.*, 1978; CAMARGO, 1985). Assim em regiões próximas à linha do Equador, onde o cafeeiro é exposto continuamente a fotoperíodo indutivo, a diferenciação floral pode ocorrer durante todo o ano, e este processo passa a ser regulado principalmente, pelo ciclo anual das chuvas (CAMARGO, 1985).

O comportamento fenológico da cultura de café no Brasil, é caracterizado pela ausência de sincronia floral, e conseqüentemente pelo desenvolvimento não uniforme dos botões florais. Esse comportamento promove a antese em tempos distintos, ocasionando vários eventos de floração de intensidade variável. Por este motivo é possível encontrar gemas florais em diferentes níveis de desenvolvimento no mesmo nó em conjunto com flores e frutos (CRISOSTO *et al.*, 1992; MAJEROVICZ & SÖNDAHL, 2005; DE OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Outros fatores como o déficit hídrico acentuado, podem impactar negativamente no ciclo de vida e na produtividade de lavouras em geral, sendo este efeito intensificado pela alta temperatura, embora, em níveis moderados, a deficiência hídrica nas semanas que antecedem a florada torna-se necessária para promover a concentração do florescimento (ALVIM, 1960; CAMARGO A.D. & CAMARGO M.B., 2001; DAMATTA & RAMALHO, 2006). Foi proposto que, cafeeiros hidratados constantemente, como por exemplo, afetados pelas chuvas esporádicas como acontece em condições de campo, apresentam vários eventos de floração, ao contrário de cafeeiros reidratados somente após um período de seca que apresentam floradas mais uniformes (AVELAR, 2018).

Esse fato demonstra a importância de um período de estresse hídrico, pois a estação seca do ano, coincide com o período das gemas dormentes, no qual os botões florais após atingirem de quatro a seis milímetros de comprimento, cessam o seu crescimento (BARROS *et al.*, 1978; ARCILA, 2011). Durante esse período de dormência, as gemas, do ponto de vista anatômico, são aptas para interagir com mudanças endógenas e exógenas, apresentando susceptibilidade ao aumento do potencial hídrico na planta, o que leva a quebrar o estágio de dormência. Assim, uma vez o período de seca tem final com o começo das chuvas, as gemas florais retomam o seu desenvolvimento até a antese (CRISOSTO *et al.*, 1992; ARCILA, 2011).

Por este motivo, passar por um período de restrição hídrica seguido de uma reidratação, é importante para o desenvolvimento floral no cafeeiro. Em trabalhos anteriores, também foi observado que cafeeiros mantidos sob seca e cafeeiros constantemente irrigados, não apresentaram

antese, diferentemente das plantas que após um período de estresse hídrico, uma vez que reidratadas, responderam com a retomada do crescimento da gema até a floração (CRISOSTO *et al.*, 1992).

## 2.4 Papel do etileno no florescimento

O etileno é um hormônio vegetal gasoso presente em angiospermas e gimnospermas, mas também em bactérias, fungos, musgos, samambaias, além de outros tipos de organismos. É produzido naturalmente em todos os tecidos vegetais, e por ser um composto volátil, é facilmente transportado por difusão através das células e espaços intercelulares. O começo da sua biossíntese, pode desencadear numa rápida sinalização, gerando respostas a partir de quantidades mínimas da sua produção e, por este motivo, é também conhecido como o hormônio do estresse (ALONSO & ECKER, 2001; JORDÁN & CASARETTO, 2006; TANG *et al.*, 2008).

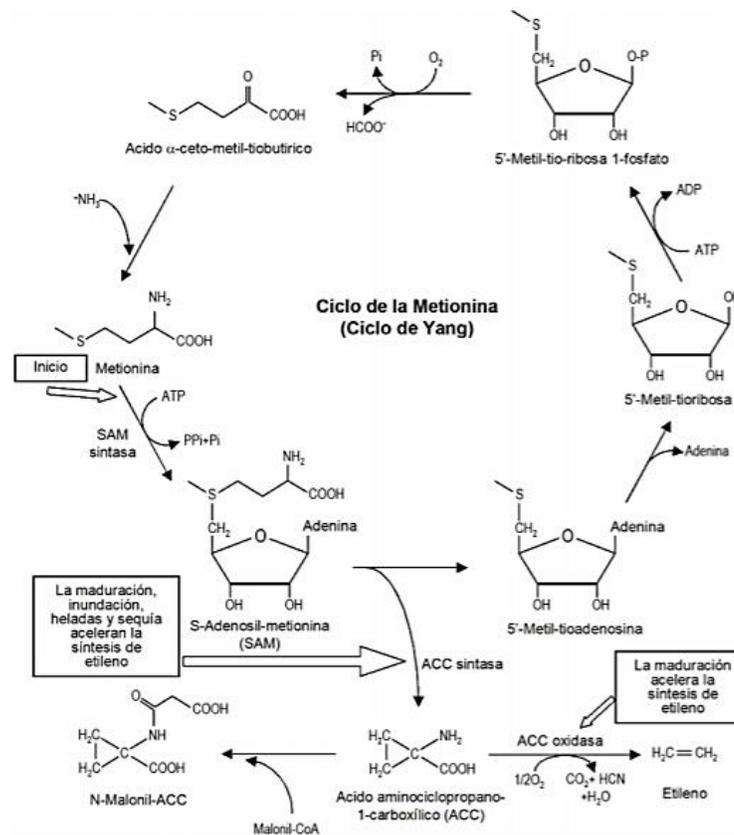
A rede de sinalização do etileno em resposta a diferentes estímulos internos e externos em um organismo vegetal, está regulada por genes associados à expressão das enzimas da rota para sua biossíntese. A síntese do 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintase (ACS) e a 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidase (ACO), pertencentes a famílias multigênicas, são as principais enzimas encarregadas da sua síntese e produção (WANG *et al.*, 2002). De modo que o ciclo, conhecido como o Ciclo da Metionina, por ser o aminoácido metionina o seu precursor ou Ciclo de Yang, começa com a associação da metionina com a adenosina, conformando a S-adenosilmetionina (AdoMet), pela ação da enzima AdoMet sintetase. Consequentemente, é realizada a conversão de AdoMet em ACC pela ação da enzima ACS que, se desdobra em etileno pela ação da enzima ACO, liberando CO<sub>2</sub>, HCN e água. Esta conversão de AdoMet em ACC, libera cinco metil-tio-adenosina, que logo após se dissocia em adenina e ribose (metil-tio-ribose), passando por outras reações para constituir de novo a metionina e desta forma, completar o ciclo (Figura 4).

Durante a vida das plantas, a síntese autocatalítica do etileno, pode ser estimulada principalmente por sinais endógenos, mas também, em resposta a estímulos do ambiente como ferimentos mecânicos pela herbívora, infecção, ou patógenos, estresse hídrico, estresse salino,

mudanças na temperatura, percepção da planta a substâncias químicas, ou pela interação com outros fitormônios (SCHRODER *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2002; MACEDO *et al.*, 2002).

No entanto, sua influência no desenvolvimento floral ainda continua sendo estudada. As respostas das antófitas em presença de etileno, é variada, já que depende do comportamento de cada espécie, assim como também, do seu estado de desenvolvimento. Em plantas de abacaxi, já foi provado que, com a aplicação exógena do etileno, o florescimento pode chegar a ser induzido (MENG *et al.*, 2014; COLLAZAOS *et al.*, 2017), entretanto, em flores de corte como o cravo, lisianto, petúnia e orquídeas, a exposição à produção do hormônio, teve um impacto negativo acelerando processos de senescência, como no caso das rosas, que em presença do fitohormônio, gerou a queda das pétalas (CORDEIRO *et al.*, 2011). Mas em plantas de arroz (WANG *et al.*, 2013) e *Arabidopsis*, o efeito do etileno acarretou na inibição da floração, mas neste sentido, a sua ação pode se considerar negativa ou positiva, dependendo do manejo desejado (ACHARD *et al.*, 2007).

Figura 4. - Ciclo da biossíntese da produção de etileno (Yang, 1979)



Fonte: Jordán & Casaretto (2006).

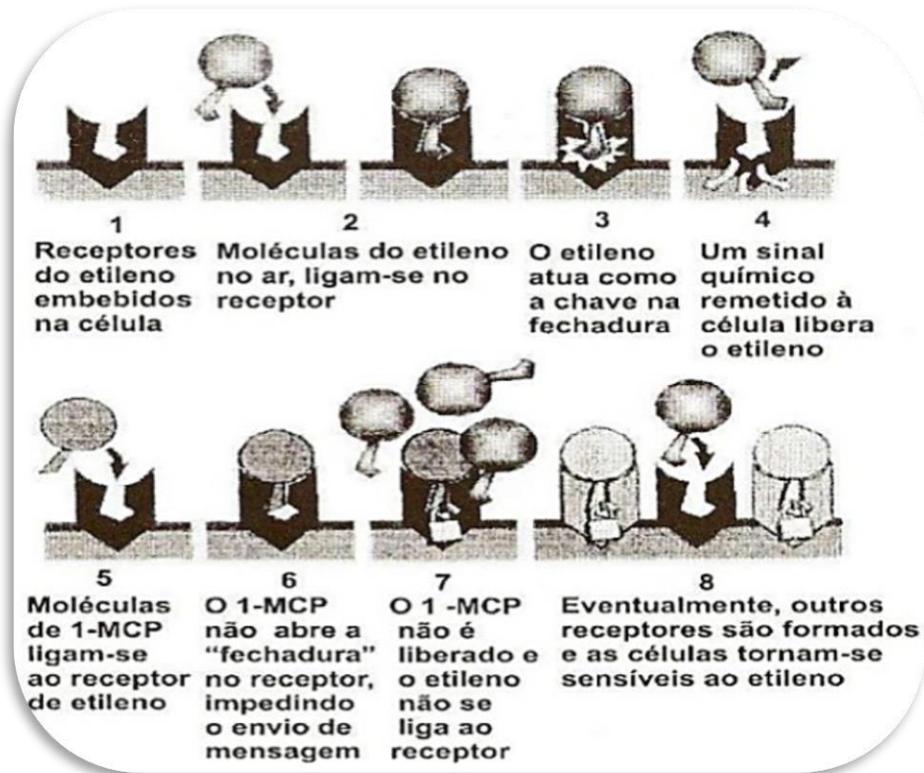
No florescimento do cafeeiro, sua ação ainda continua sendo estudada. Nas observações realizadas por Lima (2015), em cafeeiros pulverizados com o inibidor da ação da biossíntese de etileno 1-MCP (1-metilciclopropeno), os botões florais responderam ante a exposição ao produto, com a antese do botão floral, mas também, com o aumento na expressão dos genes da biossíntese da rota de produção de etileno, avaliados no trabalho. Então, para esta resposta de abertura das gemas, foi sugerido que, a ligação da molécula 1-MCP aos receptores de etileno na membrana do retículo endoplasmático, com a sua ação bloqueadora da percepção do etileno, produz um *feedback* negativo que, estimulou as plantas; a incrementar a produção do fitohormônio, causando o aumento na expressão dos genes envolvidas na rota da sua biossíntese (LIMA, 2015). Por outro lado, visando que a gema floral do cafeeiro precisa de mudanças do potencial hídrico da planta, para gerar a sinalização química da raiz até a parte aérea e quebrar o estágio de dormência da gema (CRISOSTO *et al.*, 1992), foi proposta uma possível conexão entre o etileno e a promoção do florescimento em cafeeiros, onde o hormônio atuaria como um indutor da abertura floral (LIMA, 2015; SANTOS, 2016).

## **2.5 1-MCP como inibidor da ação de etileno**

A acentuada ação do etileno no amadurecimento de frutos e processos de abscisão foliar, para algumas indústrias do setor frutícola e hortícola, pode representar um aspecto negativo, já que a produção e pós-colheita, pode acabar em perdas do produto final. Conseqüentemente, ao longo do tempo, foram sintetizados diversos antagonistas da ação do etileno, utilizados com a finalidade de diminuir e controlar as respostas fisiológicas a este fitormônio, sendo um claro exemplo o 1-Metilciclopropeno (1-MCP) (ANDERSEN,1993; SEREK *et al.*, 2006).

O 1-MCP é uma olefina cíclica que age através da ligação irreversível com os receptores do etileno na célula, evitando a sua mudança de conformação e posterior cascada de sinalização para sua biossíntese (Figura 5). Desta forma, pode ser usado como uma ferramenta valiosa na agricultura, ao minimizar os efeitos do etileno nos tecidos vegetais retardando processos naturais como a senescência (SEREK *et al.*, 1995).

Figura 5. - Mecanismo da inibição do 1-MCP por meio da ligação com os receptores de membrana do etileno.



Fonte: Pereira (2019), adaptado de Blankenship (2001).

É também considerado como um composto não tóxico, inodoro, estável à temperatura ambiente, conhecido por proteger muitas flores de corte como as rosas, atrasando a ação do etileno (PIETRO *et al.*, 2010). Além disso foi o primeiro produto inibidor da ação do etileno patenteado não tóxico, desenvolvido para uso comercial por duas empresas americanas FloraLife Inc. e AgroFresh Inc., com o nome de EthylBloc<sup>®</sup> para culturas ornamentais e SmartFresh<sup>™</sup> para produtos comestíveis, respectivamente. Ambos compostos, como 1-MCP e  $\gamma$ -ciclodextrina, quando misturado com água ou solução tampão, liberam o gás facilitando sua aplicação (SEREK *et al.*, 2006).

Além dos benefícios de implementar o 1-MCP no agronegócio, foi comprovado que o sucesso da sua ação, depende em grande medida da concentração utilizada, a qual deve ser suficiente para saturar os receptores de membrana e competir com o etileno presente. Também, é importante, considerar o tempo de exposição ao produto para garantir que o gás liberado, consiga

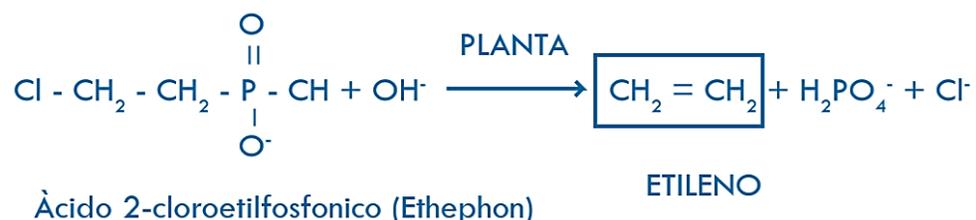
penetrar os tecidos da planta, pois nem todos os casos sua ação é permanente, e às vezes, seu efeito pode desaparecer, variando para cada tipo de cultivar ou espécie (BLANKENSHIP, 2001).

Em cafeeiros o efeito do 1-MCP foi documentado em estudos anteriores (LIMA, 2015), mediante observações com plantas sob condições no campo, e tratadas com cinco concentrações diferentes de 1-MCP. Respostas na indução da abertura da flor, foram observadas nas duas concentrações maiores (50 e 100 mg de i.a. L<sup>-1</sup>), causando um efeito similar a um evento de chuva no campo. Desta forma, foi sugerido que, as gemas florais que não apresentaram a mesma resposta, poderiam encontrar-se em estádios de desenvolvimento menores, o que influenciou na sua capacidade para responder ante a aplicação do produto. Outro trabalho em cafeeiros sob condições no campo e tratados com 1-MCP, apresentaram diferenças significativas na expressão de genes envolvidos na sinalização hormonal da biossíntese e sinalização do etileno (SILVA, 2016).

## 2.6 Ethrel

O etileno por ser gasoso, pode dificultar sua aplicação no campo e gerar maiores custos. Com o intuito de dar solução a este inconveniente, foram sintetizados produtos líquidos que, ao ter contacto com o tecido vegetal, agem liberando o etileno de forma mais lenta (Figura 6). O ácido 2-cloroetilfosfônico (Ethephon i.a.) ou Ethrel, é um composto orgânico utilizado como regulador do crescimento ao liberar o etileno dentro dos tecidos da planta, pouco tempo após da sua aplicação. Ao longo do tempo, seu uso foi valorizado, já que em algumas culturas de interesse agro econômico, sua ação promoveu a indução de processos de floração e amadurecimento (AUCIQUE *et al.*, 2012; AGRO BAYER BRASIL, 2018).

Figura 6. Reação química que mostra como é liberado o etileno, quando o Ethrel é aplicado na planta.



Fonte: Taiz & Zeiger (2007).

Em cafeeiros, ele é aplicado por via úmida, com a finalidade de uniformizar e acelerar a maturação dos grãos para antecipar e melhorar a eficiência das colheitas. No entanto, fisiologicamente os frutos que têm contato com o etileno, apresentam aumento da respiração climatérica promovendo e acelerando o processo de amadurecimento. O produto tem sua função para agir no fruto por contato, onde seu ingrediente ativo na forma líquida, uma vez que penetra no grão de café, interage com o pH interno elevando-o e provocando assim que, o etileno, seja liberado na forma gasosa e sua autocatálise seja promovida (SCUDELER *et al.*, 2004; MOREIRA *et al.*, 2009).

Em estudos anteriores, também foi evidenciada sua ação no desenvolvimento floral. Por exemplo, na flor de pepino, plantas que foram submetidas a diferentes concentrações de Ethrel, apresentaram maior número de flores femininas, por meio de uma interação hormonal que promoveu a diferenciação sexual das mesmas (SELEGUINI *et al.*, 2004). No abacaxizeiro, a aplicação exógena do Ethrel, inibiu a abertura da flor (PINTO, 1980), e em bromélias, repercutiu na indução e sincronização floral, especulando-se que durante este processo foi produzido um desequilíbrio hormonal em favor da biossíntese de etileno, o que desencadeou a indução e desenvolvimento da inflorescência e brotos laterais (PICO & CHAPARRO, 2003).

Com aplicações exógenas do Ethephon em bromélias, também foi observado como a planta apresentou um incremento no volume do tecido nodal, inibição do crescimento de estruturas específicas como brotos, além de mudanças na indução e sincronização floral. E em outro trabalho com mostarda, mostrou como o Ethephon aplicado em baixas concentrações, ajudou a melhorar a evolução da produção de etileno, o que aumentou a área foliar mas, em concentrações maiores, seu efeito foi oposto, inibindo este mesmo processo (PICO & CHAPARRO, 2003).

Assim, o etileno poderia ser considerado como um fitormônio multifuncional que, regula processos de crescimento como o desenvolvimento de folhas, flores e frutos, mas também agindo na promoção do processo da senescência. Contudo, é interessante como um mesmo hormônio em diferentes espécies e situações, pode influenciar processos antagônicos. A forma como o produto (Ethrel) vai agir na planta, igualmente às aplicações com o 1-MCP, vai depender dos níveis ótimos e subótimos de etileno que, quando é aplicado de forma exógena nas plantas, sua função em promover ou inibir os diferentes processos, vai depender em grande medida da concentração

utilizada, do momento e da espécie em questão (PICO & CHAPARRO, 2003; AUCIQUE *et al.*, 2012).

## **2.7 Influência do déficit hídrico e do etileno sobre o desenvolvimento do sistema vascular**

Os hormônios em geral, podem promover ou não a diferenciação e o crescimento cambial através de uma rede regulatória. O câmbio vascular é o meristema que produz xilema e floema secundários por divisão celular periclinal, e o procâmbio é o meristema que produz os tecidos vasculares primários (COSTA *et al.*, 2004). É possível que o etileno afete o desenvolvimento do câmbio, já que em alguns casos parece inibir (ZOBEL & ROBERTS, 1978) e em outros casos estimulá-lo (LOVE, 2009). Mas além do etileno, fitohormônios como as auxinas e as giberelinas (GAs), são estimuladores conhecidos da divisão celular cambial (UGGLA, 1998; BJORKLUND, 2007), e da sua interação, dependem muitos processos essenciais na arquitetura da planta.

Em trabalhos anteriores, o efeito do etileno provocou o crescimento cambial em árvores lenhosas. Em plantas de *Populus* crescidas *in vitro*, foi observada a influência na divisão celular cambial durante o desenvolvimento vegetativo, já que, aplicações do precursor imediato do etileno (ACC) no meio de cultura, estimulou o crescimento do xilema ao aumentar a densidade dos vasos e diminuir seu diâmetro no caule (LOVE, 2009). Entretanto, Davies *et al.* (2000) sugeriram que altos níveis de produção de etileno a partir de raízes de plantas bem irrigadas, podem inibir o desenvolvimento do xilema.

Em milho (ABD EL-RAHIM *et al.*, 1998) e videira (LOVISOLO & SCHUBERT, 1998), e na espécie *Astragalus gombiformis* (BOUGHALLEB *et al.*, 2014), os elementos do xilema no caule, apresentaram menor diâmetro em resposta à baixa disponibilidade de água na raiz. Mas em *Raphanus sativus* L. foi causada uma redução significativa na área do feixe vascular da folha e na espessura da nervura central (AKRAM, 2016).

Em plantas de café, a influência do déficit hídrico no desenvolvimento do sistema vascular ainda não está bem elucidada (AVELAR, 2018; PEREIRA, 2006). No entanto, existem evidências de que períodos de seca podem provocar alterações no sistema vascular das folhas, acarretando na formação de elementos de vasos menores, mais agrupados e em maior quantidade (COSTA *et al.*,

2004; AVELAR, 2018). No caso de gemas florais, Morais *et al.* (2008), por meio de cortes transversais na base do pedicelo de gemas em diferentes estádios de desenvolvimento, observaram uma diferença significativa entre gemas no estágio “*Stage 3*” que, apresentaram desenvolvimento vascular primário, e o estágio “*Stage 4*” que, apresentaram desenvolvimento vascular secundário. Diferenças que marcaram uma distinção na resposta ao retorno da irrigação, uma vez as plantas foram submetidas a um período de déficit hídrico com anterioridade. Pereira (2006), sugeriu que em cafeeiros, na área de um mesmo nó, as gemas florais que estão em diferentes estádios de desenvolvimento, compartilham um origem em comum, e nesse ponto, as características anatômicas das diferentes gemas estão correlacionadas.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 Experimento em Casa de vegetação**

##### **3.1.1 Local**

O experimento foi conduzido na casa de vegetação no Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras MG – Brasil, nos meses de Julho a Agosto de 2019. O material vegetal foi avaliado no Laboratório de Fisiologia Molecular de Plantas e no Laboratório de Anatomia Vegetal, ambos do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

##### **3.1.2 Instalação do experimento**

Para o desenvolvimento do experimento, foram utilizadas 18 plantas adultas de *C. arabica* L., com três anos de idade aproximadamente, e transplantadas em vasos de 50 L (0,37 m de altura e 0,45 m de diâmetro), contendo uma mistura de solo, areia e esterco (3:1:1, v/v/v), com uma camada de cascalho no fundo. Até o início dos tratamentos, as plantas foram mantidas bem

hidratadas (irrigadas duas vezes por semana) e suplementadas com N/P/K (20:5:20) uma vez por mês (Figura 7).

Figura 7. Cafeeiros adultos cultivados em vasos de 50 L, mantidos em condições de casa de vegetação.



Fonte: Jaramillo (2019).

### 3.1.3 Tratamentos e material vegetal

Dez plantas que apresentaram desenvolvimento das gemas florais foram selecionadas (CAMARGO & CAMARGO, 2001). Cinco plantas foram escolhidas aleatoriamente para o tratamento controle, sendo irrigadas duas vezes por semana sob capacidade de campo, (Tratamento 1 – T1) com potenciais hídricos foliares de -0,25 a -0,6 Mpa, e umidade do solo de  $0,31 \text{ m}^{-3}/\text{m}^{-3}$  a  $0,35 \text{ m}^{-3}/\text{m}^{-3}$ . Logo a seguir, as outras cinco plantas foram submetidas a um período de déficit hídrico controlado (Tratamento 2 – T2) durante 15 dias, atingindo potenciais hídricos foliares entre -3,1 a -4,0 Mpa, e umidade do solo de  $0,22$  a  $0,26 \text{ m}^{-3}/\text{m}^{-3}$ . No T2, o fornecimento de água foi suspenso, no momento em que as plantas apresentaram sinais de déficit hídrico, como murcha foliar intensa e queda das folhas. Após 15 dias da suspensão de água, as plantas T2 foram novamente irrigadas duas vezes por semana com a metade da capacidade de campo durante 10

dias, com o objetivo de recuperá-las do período de seca, mas mantendo-se o controle da irrigação, até atingir potenciais hídricos foliares de antemanhã entre -0,25 a -0,9 Mpa e umidade do solo de entre 0,30 a 0,51  $\text{m}^{-3}/\text{m}^{-3}$ .

### 3.1.4 Análises fisiológicas

#### 3.1.4.1 Potencial Hídrico Foliar e Umidade do Solo

As análises de potencial hídrico foliar foram realizadas no período de antemanhã, entre 3 e 5 horas da madrugada com câmara de pressão do tipo Câmara de Scholander, com duas medidas por planta em folhas completamente expandidas do terceiro ou quarto nó de ramos plagiotrópicos localizados no terço médio das plantas. Já a umidade do solo, foi medida com um sensor GP1 Data Logger - Irrigation Monitor, previamente testado para o tipo de solo utilizado e determinando a umidade em um volume de solo específico ( $\text{m}^{-3}/\text{m}^{-3}$ ) (Figura 8).

Figura 8. Câmara de Scholander e sensor de umidade de solo volumétrica.



Fonte: Jaramillo (2019).

### 3.1.4.2 Quantificação de Etileno

Gemas florais nos estádios de desenvolvimento G3 a G4 (MORAIS *et al.*, 2008) e folhas completamente expandidas do terceiro ou quarto nó dos ramos plagiotrópicos do terço médio das plantas, foram coletadas ao final do período de imposição dos tratamentos. A coleta do material vegetal foi feita em tubos de vidro de 10 mL tipo vacutainer, com o material vegetal sendo incubado por um período de 24 horas a 25°C.

Após o período de incubação, por meio de uma seringa de plástico foram retirados 6 mL do gás presente na atmosfera interior de dois tubos (3 mL de cada um dos tubos) contando como uma medição só. O gás coletado, foi inserido em um *Analisador de Gás Etileno Portátil CI-900* (CID – BioScience, Inc.) operando no modo de emulação GC. Por último, o material vegetal de cada tubo foi pesado, e a taxa de evolução do etileno foi dada em ppm g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> para cada amostra (Figura 9).

Figura 9. - *Analisador de Gás Etileno Portátil CI-900* (CID - BioScience Inc.), gemas florais e folhas de cafeeiro coletadas em tubos de vidro (10 mL).



Fonte: Jaramillo (2019).

### 3.1.5 Análises anatômicas

As análises anatômicas do tecido vascular foram feitas nos estádios de desenvolvimento G3 a G4 (MORAIS *et al.*, 2008), em gemas florais que se desenvolveram durante o período de imposição dos tratamentos (T1 e T2), sendo utilizadas cinco repetições por tratamento, com dez amostras no total.

O material vegetal foi coletado em tubos tipo Falcon e fixado em solução FAA na proporção (18:1:1) de: 90 mL de Etanol 70%, 5 mL de Ácido Acético Glacial e 5 mL de Formol (JOHANSEN, 1940). Posteriormente, o material foi transferido para novos tubos com álcool 70% e mantidos a uma temperatura de 4°C por dois meses. A seguir, as amostras foram submetidas a concentrações crescentes de álcool (80, 90 e 100 %) respectivamente, permanecendo aproximadamente por 24 horas em cada uma delas e deixadas por 20 min em vácuo após cada desidratação (JOHANSEN, 1940 modificado). Logo após, as amostras foram mantidas por 7 dias em solução de resina para pré-infiltração, composta de Etanol 100% e resina líquida base (1:1) e, da mesma maneira, transferidas para uma solução de resina pura (Resina ativada) durante 7 dias. Por último, foi realizada a inclusão ou emblocamento em histomoldes com o *kit* HistoResin (Leica Microsystems, Heidelberg, Alemanha) (Figura 10).

Figura 10. - Histo-resina contendo gemas florais de cafeeiro tratadas com o *kit* HistoResin (Leica Microsystems, Heidelberg, Alemanha).



Fonte: Jaramillo (2019).

As seções histológicas com espessura de 7 µm foram feitas no local que conecta a base da gema com o ramo, em micrótomo semiautomático rotativo e posteriormente coradas com azul de

toluidina (O'BRIEN, *et al.*, 1994) tampão acetato 0,1 M, pH 4,7, e lavados com água destilada para retirar o excesso de corante. A montagem das amostras foi feita em lâminas com Verniz vitral, e fotografadas em microscópio de luz com uma câmera acoplada ao computador (Color OLYMPUS America INC., SN Q31237). Para as análises das imagens foi utilizado o *software* ImageJ (National Institutes of Health, EUA), com o intuito de medir a área de desenvolvimento do procâmbio e câmbio vascular.

### **3.1.6 Análises estatísticas**

Os dados obtidos das análises do potencial hídrico foliar e da quantificação da produção de etileno foram verificados quanto à normalidade (ShapiroWilk) e homogeneidade de variâncias (Bartlett). Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste-F e teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **3.2 Experimento em campo**

### **3.2.1 Local**

O experimento foi realizado na Fazenda Cafuá no município de Ijací, MG – Brasil, durante meses de Julho a Agosto de 2019. O trabalho foi implementado em plantas de *C. arabica* L., cultivar Catuaí Vermelho IAC 144 com aproximadamente seis a sete anos de idade, dispostas em espaçamento de 3,6 m entre linhas e 0,5 m entre plantas. O material coletado foi avaliado no Laboratório de Fisiologia Molecular em Plantas e no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

Figura 11. - Cultivar de *C. arabica* L. na fazenda Cafuá no município de Ijací, MG, Brasil.



Fonte: Jaramillo (2019).

### 3.2.2 Tratamentos e Delineamento Experimental

Para o trabalho em campo, foram avaliados o efeito da aplicação exógena dos reguladores de crescimento Ethrel<sup>®</sup> 720 (m/v) (BAYER), agente liberador de etileno em pH acima de 4,1 e 1-MCP (1-Metilciclopropeno), agente inibidor da ação do etileno, utilizando o produto comercial Harvista<sup>™</sup> – AgroFresh – 1,3 % de ingrediente ativo (i.a.). O experimento foi composto por oito tratamentos com três plantas por repetição biológica (24 no total), contando com três concentrações de Ethrel (0,65, 1,3 e 2,6 mL<sup>-1</sup>), três concentrações de 1-MCP (100, 125 e 150 mg de i.a. L<sup>-1</sup>), o grupo controle do surfactante Break Thru<sup>®</sup> (surfactante de organosilicon - S240, Evonik Industries AG, Essen, Alemanha) na concentração de 1,4 mL/L, e o grupo controle formado por plantas sem aplicação de produtos (Tabela 1).

Tabela 1.- Tratamentos utilizados em plantas de *C. arabica* L. em condições de campo. Tratamento 1: Ethrel, Tratamento 2: 1-MCP, Tratamento 3: Break Thru<sup>®</sup>, Tratamento 4: Controle.

Tratamento	Concentração 1 (mg de i.a L <sup>-1</sup> )	Concentração 2 (mg de i.a L <sup>-1</sup> )	Concentração 3 (mg de i.a L <sup>-1</sup> )
1	0,65	1,3	2,6
2	100	125	150
3	*	1,4	*
4	*	*	*

\* Sem concentração

As plantas foram escolhidas de forma aleatória, em duas linhas da cultivar, marcadas em grupos contínuos de três para cada tratamento. Visualmente, a partir do momento em que 70% das gemas florais atingiram o estágio de desenvolvimento G3 a G4 (MORAIS *et al.*, 2008), as plantas foram pulverizadas por inteiro com cerca de 200 mL de cada produto para cada planta, os quais foram previamente preparados nas concentrações anteriormente descritas (Tabela 1), no período da manhã, entre sete e dez horas, com o auxílio de um pulverizador costal de 12 L (S12 – Brudden Sprayers).

A preparação de cada produto foi feita no momento da aplicação, ou seja, para os tratamentos Harvista, este foi dissolvido nas concentrações previamente descritas (Tabela 1) em água acrescida do surfactante Break Thru<sup>®</sup> (surfactante de organosilicone - S240, Evonik Industries AG, Essen, Alemanha) na concentração de 0,025 v/v. Já com relação aos tratamentos com Ethrel, este foi dissolvido em água, nas concentrações previamente mencionadas e imediatamente aplicado nas plantas.

### 3.2.3 Coleta do material

Para o processamento das análises anatômicas do sistema vascular e as análises de quantificação do etileno, folhas e gemas florais nos estádios de desenvolvimento G3 da região equatorial de cada planta, de cada um dos tratamentos, foram coletadas aos 15 e 30 dias após a aplicação dos produtos.

### **3.2.4 Análises fisiológicas**

#### **3.2.4.1 Quantificação de Etileno**

A mesma metodologia implementada para a quantificação do gás etileno, descritas no experimento de casa de vegetação, foram utilizadas para o experimento em campo.

### **3.2.5 Análises anatômicas**

A mesma metodologia implementada para as análises anatômicas, descritas no experimento de casa de vegetação, foram utilizadas para o experimento em campo.

### **3.2.6 Análises estatísticas**

Todos os dados foram verificados quanto à normalidade (ShapiroWilk) e homogeneidade de variâncias (Bartlett), em seguida, foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste-F e Tukey a 5% de probabilidade.

## **4. RESULTADOS**

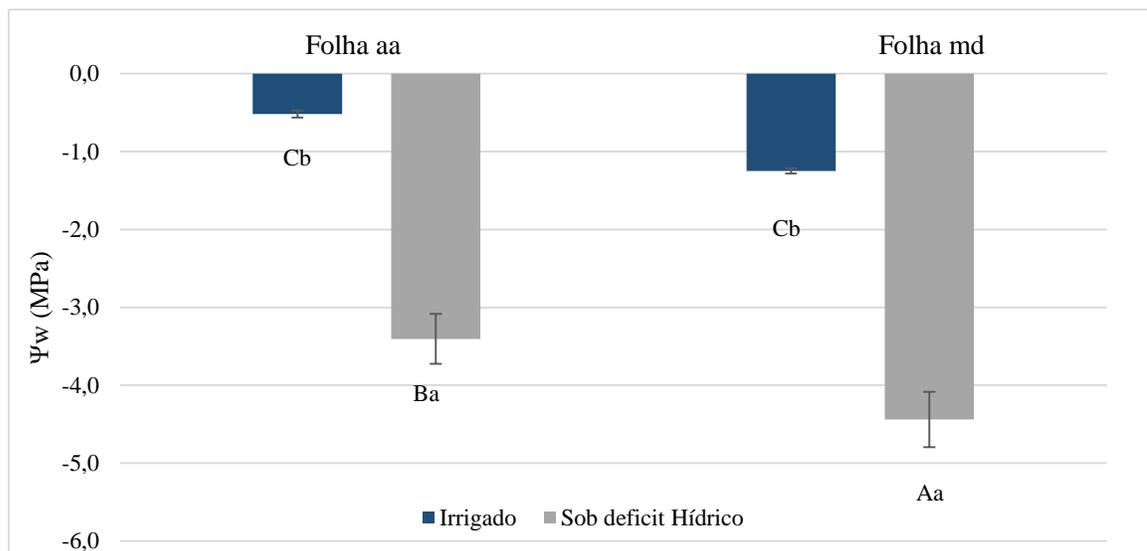
### **4.1 Experimento em Casa de Vegetação**

#### **4.1.1 Análises fisiológicas**

Potenciais hídricos foliares, foram realizados com o intuito de comprovar o desenvolvimento de gemas florais nas condições de estresse hídrico e irrigação. Adicionalmente,

foram obtidas respostas de produção de etileno tanto em folhas como em gemas, e observações no desenvolvimento vascular de gemas G3 e G4. A imposição da irrigação e do estresse hídrico, promoveu diferenças significativas sobre as variáveis analisadas. Os tratamentos promoveram diferentes potenciais hídricos de antemanhã e ao meio dia, para demonstrar que as plantas responderam aos dois tratamentos (Figura 12).

Figura 12. – Potencial hídrico folhar.



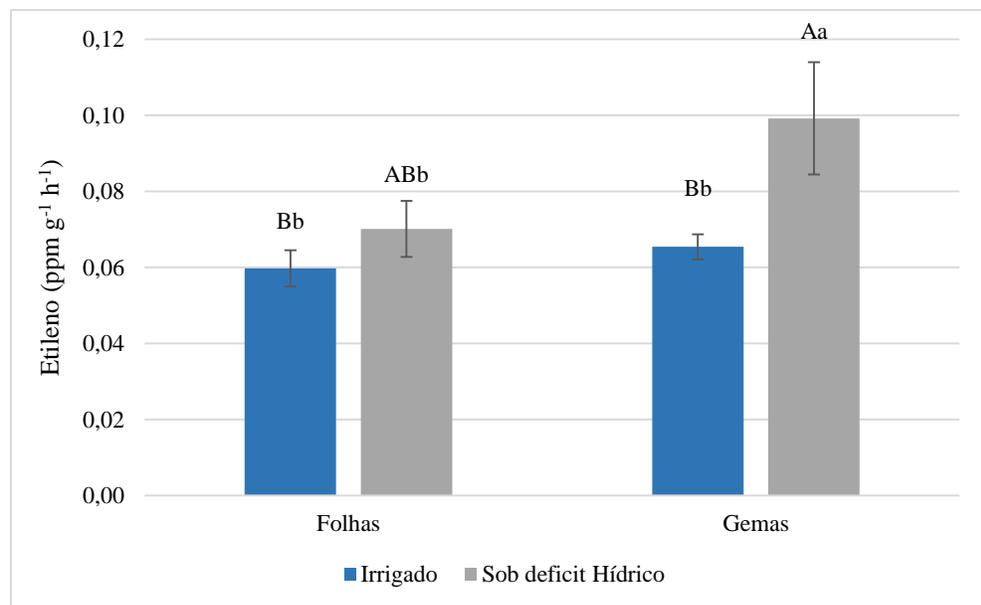
Legenda: Potenciais hídricos foliares medidos antes do amanhecer (aa) e ao meio dia (md) em plantas mantidas sob condições de casa de vegetação com imposição de dois tratamentos: Tratamento 1, plantas irrigadas e Tratamento 2, plantas submetidas a um período de estresse hídrico. As letras maiúsculas comparam entre antemanhã e meio dia, e as letras minúsculas comparam entre os tratamentos (Irrigado e Estresse hídrico). As barras de intervalo indicam o erro padrão. As diferenças das médias de cada tratamento ( $p < 0,05$ ), representadas nas colunas, foram comparadas por meio do P valor para cada tecido e para cada tempo de medição.

Foi observado que os potenciais hídricos foliares, apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Isso é coerente com o percebido fenotipicamente, já que as plantas sob condições de estresse hídrico começaram a apresentar amarelamento e murcha foliar após o período de seca, ao contrário das plantas irrigadas que apresentaram todas as folhas vigorosas e verdes. Para as plantas sob estresse hídrico, os valores do potencial hídrico foliar antemanhã permaneceram próximos durante as diferentes leituras, sendo o mínimo de -3,15 MPa para o valor máximo com umidade do solo de  $0,23 \text{ m}^{-3}/\text{m}^{-3}$  e, -4,0 MPa para o valor mínimo com umidade do solo de  $0,23 \text{ m}^{-3}/\text{m}^{-3}$ . Por outro lado, em plantas submetidas a irrigação duas vezes por semana, o potencial hídrico

foliar antemanhã foi de  $-0,6$  MPa com umidade do solo de  $0,35 \text{ m}^{-3}/\text{m}^{-3}$ , e o valor máximo de  $-0,25$  MPa com umidade do solo de  $0,31 \text{ m}^{-3}/\text{m}^{-3}$ . Por tanto, as gemas se desenvolveram em condições hídricas diferentes durante o mesmo período.

A produção de etileno em folhas e gemas florais foi comparada em plantas irrigadas e plantas sob estresse hídrico. Os resultados demonstraram que a maior produção de etileno foi em gemas sob estresse hídrico (Figura 13).

Figura 13. – Produção de etileno em folhas e gemas florais de café.



Legenda: Produção de etileno de folhas e gemas desenvolvidas sob tratamentos de irrigação e estresse hídrico em condições de casa de vegetação. As letras maiúsculas comparam entre os órgãos folhas e gemas florais, e as letras minúsculas entre os tratamentos em um mesmo órgão ( $p < 0,05$ ). As barras de intervalo indicam o erro padrão. As diferenças das médias de cada tratamento ( $p < 0,05$ ), representadas nas colunas, foram comparadas por meio do P valor para cada tecido e para cada tratamento.

Nas folhas, não foram observadas variações significativas entre os tratamentos. No entanto, os resultados para gemas florais, fortalecem a ideia de que o etileno aumenta quando a planta se encontra em condições de seca, em comparação com gemas florais desenvolvidas em plantas irrigadas. Por conseguinte, e de acordo ao anteriormente mencionado, pode-se observar que as gemas florais foram o tecido mais suscetível a mudanças do estado hídrico da planta, aumentando a produção de etileno.

#### 4.1.2 Análises anatômicas

Com o propósito de observar a vascularização de gemas florais em estádios de desenvolvimento G3 de cafeeiros em diferentes condições hídricas, foram feitas avaliações anatômicas. Por tanto, foram analisados cortes transversais de gemas florais que se desenvolveram em plantas irrigadas (Tratamento 1) e gemas que se desenvolveram após um período de estresse hídrico (Tratamento 2).

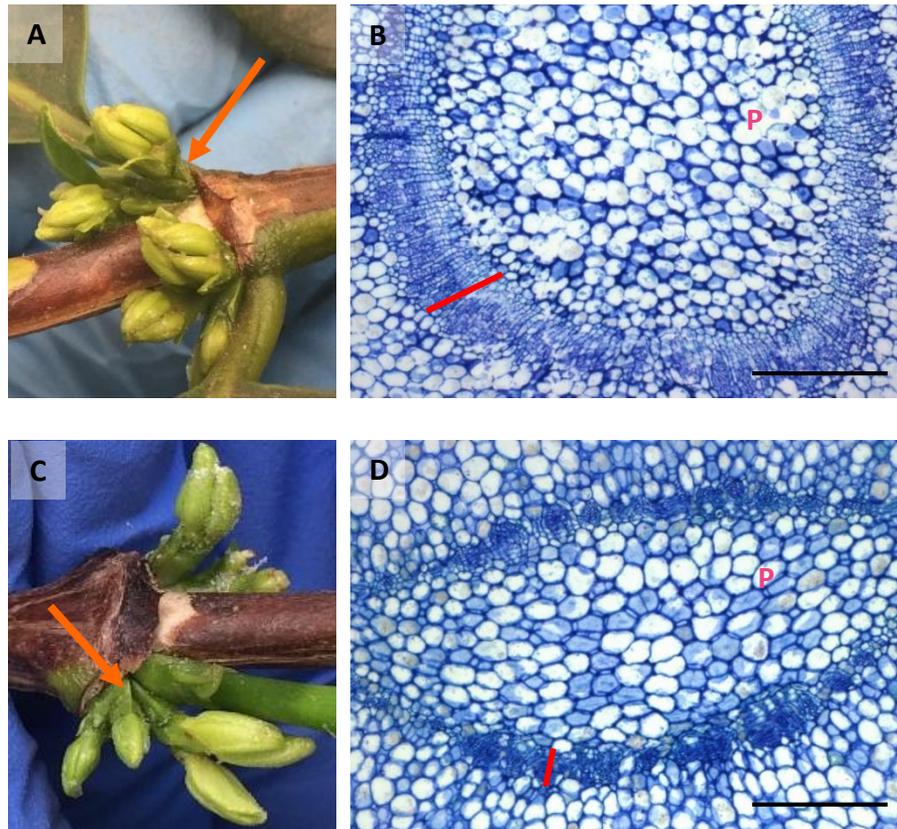
As análises anatômicas, para comparar o desenvolvimento da vascularização de gemas florais entre os dois tratamentos, foram feitas de forma qualitativa. As plantas irrigadas apresentaram gemas em vários estádios de desenvolvimento durante a imposição do tratamento. Todavia, as plantas sob estresse hídrico, uma vez irrigadas, desenvolveram as gemas de modo uniforme, passando em pouco tempo para estádios de desenvolvimento mais avançados (Figura 14). Cabe dizer que, a reidratação após o período de estresse, foi necessária para não danificar as plantas, já que apresentaram valores de potencial hídrico foliar muito baixos e sintomas de amarelecimento das folhas e murcha permanente. Por isso, não foi possível comparar gemas florais no mesmo estágio de desenvolvimento G3 em cada tratamento, mas sim em duas condições hídricas.

Figura 14. – Gemas florais de *Coffea arabica* L.

Legenda: Cafeeiros em condições de casa de vegetação. **A** e **B**, plantas irrigadas com gemas em diferentes estádios de desenvolvimento. **C** e **D**, plantas mantidas sob um período de estresse hídrico com desenvolvimento uniforme das gemas florais dias após a reidratação.

Apesar das gemas florais se desenvolverem sob um mesmo tratamento, foram observadas diferenças na cor e comprimento do meristema floral entre repetições biológicas. Para o tratamento 1, na Figura 15, comparações entre as seções de gemas florais em plantas diferentes, foi observado que a espessura do procâmbio na imagem B, foi maior com 113,71  $\mu\text{m}$  de comprimento, em comparação com o procâmbio da imagem D, com uma espessura de 53,57  $\mu\text{m}$  de comprimento (linhas vermelhas). Também foi observada uma tendência do procâmbio a se diferenciar, sendo estes mais evidentes na imagem B, pelo direcionamento do crescimento das células. Embora as plantas apresentaram as mesmas condições de manejo (Tratamento 1), e terem sido coletadas no mesmo estado de desenvolvimento, a falta de uniformidade de gemas florais de plantas irrigadas foi também refletida no desenvolvimento desuniforme dos meristemas em cada repetição biológica.

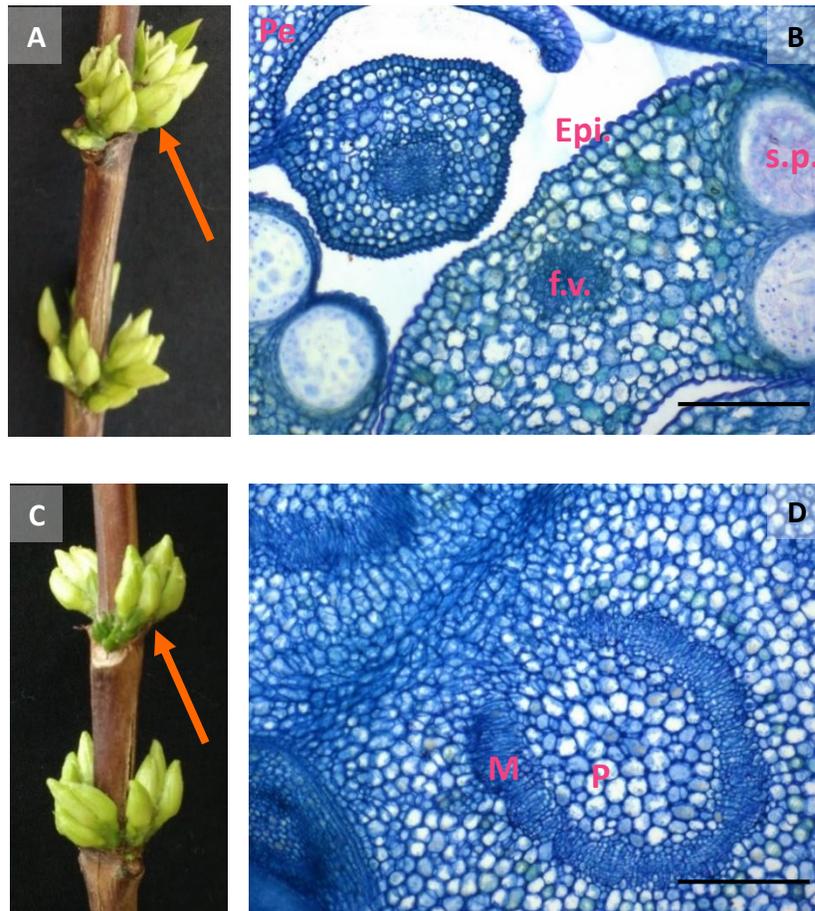
Figura 15. - Seções transversais de gemas florais de cafeeiros irrigados.



Legenda: As setas laranjas em **A** e **C** apontam a área do corte. **B** e **D**, cortes transversais da base de gemas florais. A barra vermelha marca a espessura do procâmbio, **B**: 113.71 µm de comprimento e **D**: 53.57 µm de comprimento. (**P**) Parênquima fundamental. Barra preta horizontal = 150 µm.

Quanto às plantas sob estresse hídrico, para gemas que se desenvolveram durante o período de seca (Tratamento 2), foi observado, na Figura 16, imagem B, a diferenciação de estruturas florais como pétalas e sacos polínicos, com feixes vasculares diferenciados. Entretanto, como pode ser visto na imagem D, existe o início da diferenciação do procâmbio, sem presença de estruturas florais definidas como as observadas na imagem B. Embora as gemas estejam no mesmo estágio de desenvolvimento, uma das observações para as diferenças descritas entre uma gema e outra foram as diferenças no local do corte anatômico das mesmas. Em vista disso, foi percebido que os cortes realizados no micrótomo para a imagem B, não foram feitos no lugar próximo do caule, resultando em cortes mais próximos ao meio da gema floral, o que levou à observação de algumas estruturas que vão compor a flor, ao contrário ao corte da imagem D, o qual foi feito mais próximo da base da gema, no pecíolo, e por isso mais perto do caule.

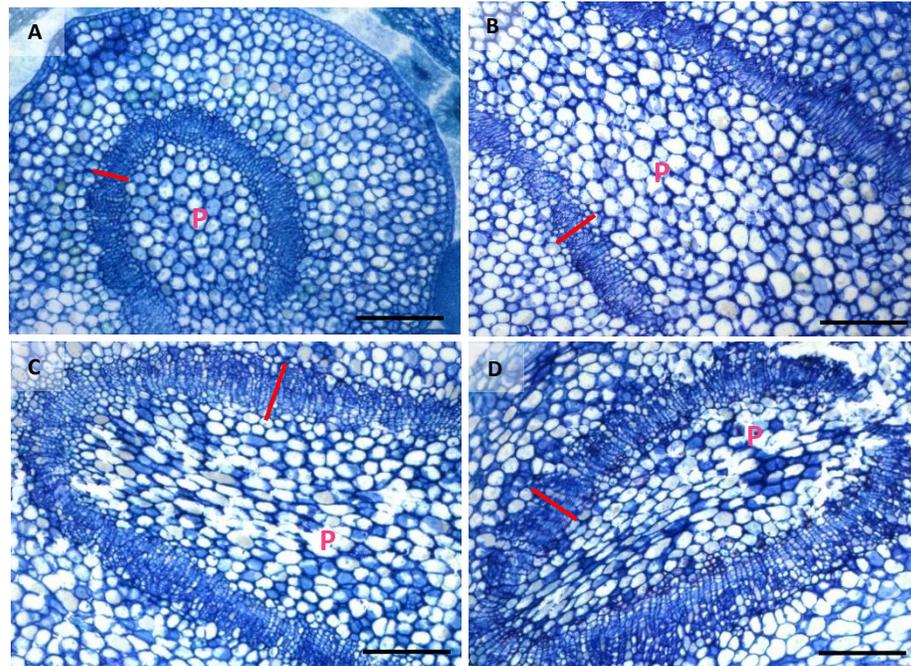
Figura 16. - Seções transversais de gemas florais de cafeeiros que se desenvolveram durante um período de estresse hídrico.



Legenda: As setas laranjas em A e C apontam a área do corte. B e D, cortes transversais de gemas florais. B - (Pe) Pétala, (Epi.) Epiderme, (s.p.) Saco polínico, (f.v.) Feixe vascular. D - (P) Parênquima fundamental e (M) Meristema. Barra preta horizontal = 150  $\mu$ m.

Finalmente, as comparações anatômicas (Figura 17) mostraram como as gemas florais de cafeeiro, que começaram a se desenvolver ao mesmo tempo nos dois tratamentos, apresentaram diferenças na espessura e comprimento do procâmbio. Foi observado, que as gemas florais das plantas irrigadas cresceram em diferentes estádios de desenvolvimento no mesmo nó, e desenvolveram uma área maior do procâmbio em comparação com as gemas sob estresse hídrico. Diferença que no campo não pode ser percebida facilmente, mas sob escalas menores de observação, podem ser detectadas.

Figura 17. - Seções transversais de gemas florais de cafeeiros sob diferentes condições hídricas.



Legenda: **A** e **B**, gemas florais desenvolvidas sob um período de estresse hídrico. **C** e **D**, gemas florais desenvolvidas em plantas irrigadas. As barras vermelhas mostram a espessura do procâmbio. (P) Parênquima fundamental. Barra preta horizontal = 150  $\mu\text{m}$ .

## 4.2 Experimento em Campo

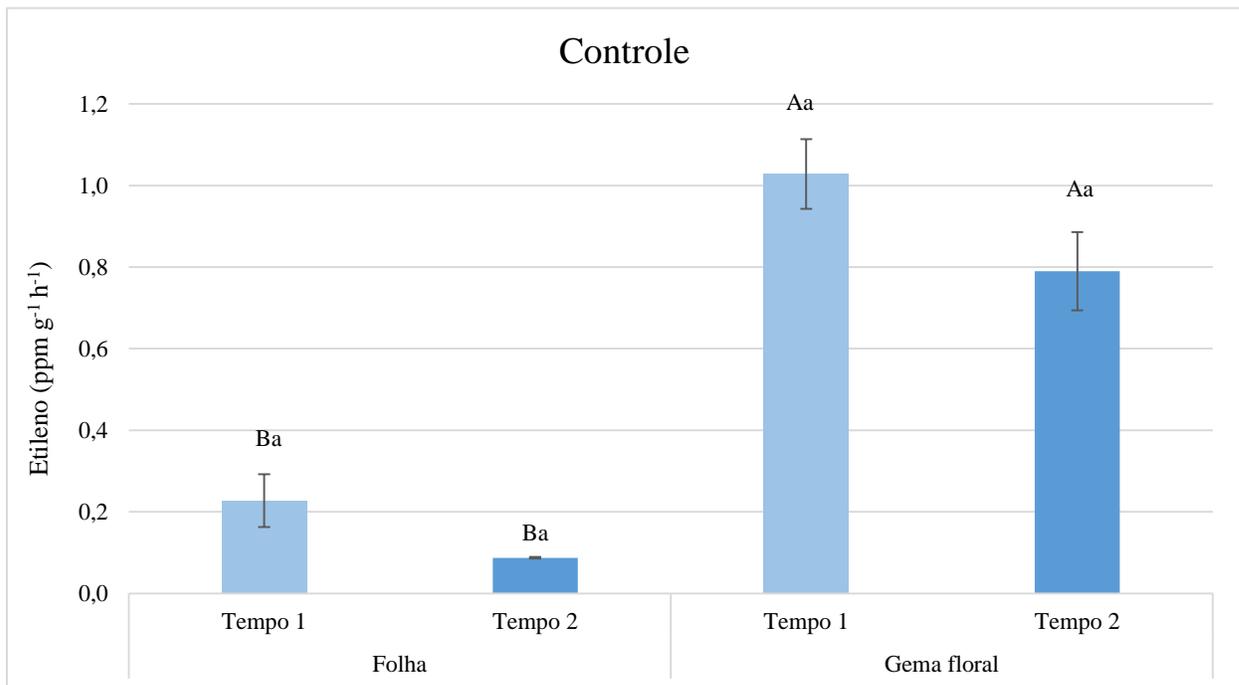
### 4.2.1 Análises fisiológicas

Foram obtidos dados de produção de etileno em diferentes órgãos (folhas e gemas florais), nos diferentes tempos de coleta (Tempo 1 de 15 dias após a aplicação dos produtos e Tempo 2 de 30 dias após a aplicação dos produtos) e nas diferentes concentrações utilizadas nos tratamentos com 1-MCP e Ethrel<sup>®</sup> (Tabela 1).

Em relação às plantas controle, comparações entre o Tempo 1 e o Tempo 2 de coleta no mesmo tipo de órgão, não foram observadas diferenças significativas. Isto quer dizer que, uma folha coletada 15 dias após a aplicação dos produtos e uma folha coletada 30 dias após os mesmos, não apresentaram diferenças estatísticas. Assim mesmo, comparações feitas entre gemas florais coletadas 15 dias após às aplicações e gemas coletadas 30 dias após as mesmas, também não mostraram diferenças estatísticas significativas. No entanto, independentemente do tempo de

coleta, ao se comparar a produção de etileno em folhas e em gemas, verificou-se diferenças significativas (Figura 18). Sendo assim, dentre os órgãos analisados, os maiores valores da produção de etileno foram registrados nas gemas florais, especialmente as coletadas com 15 dias após o início dos tratamentos.

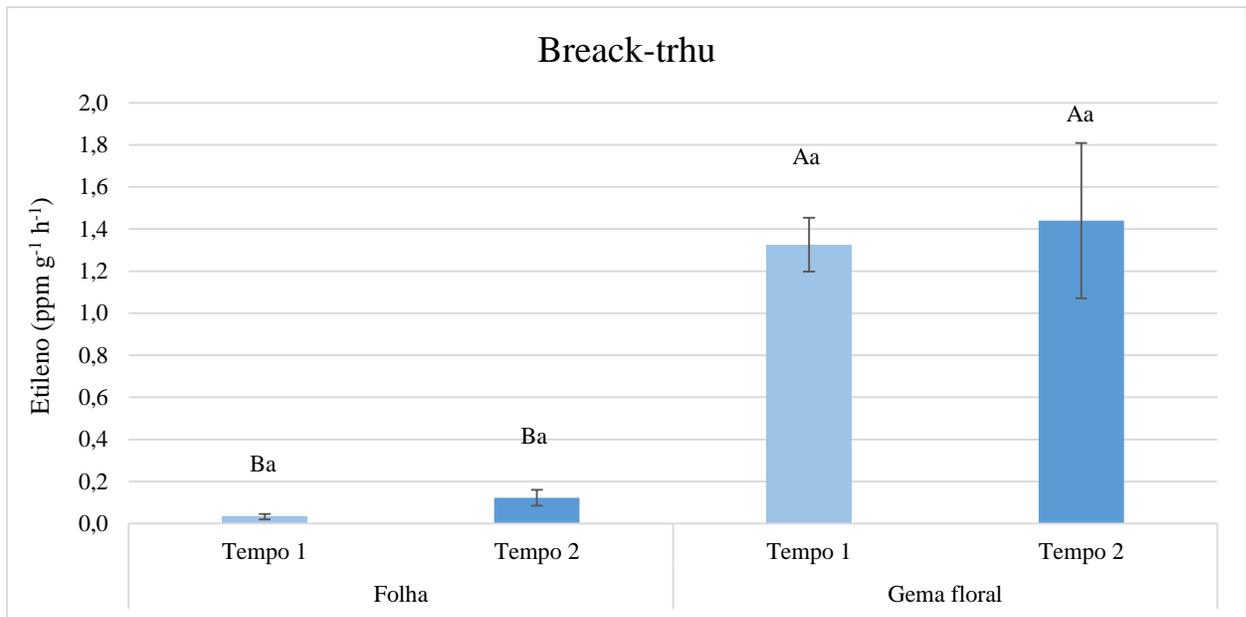
Figura 18. - Produção de etileno de folhas e gemas florais de plantas controle em condições de campo.



Legenda: As letras maiúsculas comparam entre tempos e as letras minúsculas entre um mesmo órgão. Barras de intervalo indicam o erro padrão. As diferenças das médias de cada tratamento ( $p < 0,05$ ), representadas pelas colunas, foram comparadas por meio do P valor para cada tecido para cada tempo de coleta (Tempo 1: 15 dias e Tempo 2: 30 dias, após a aplicação).

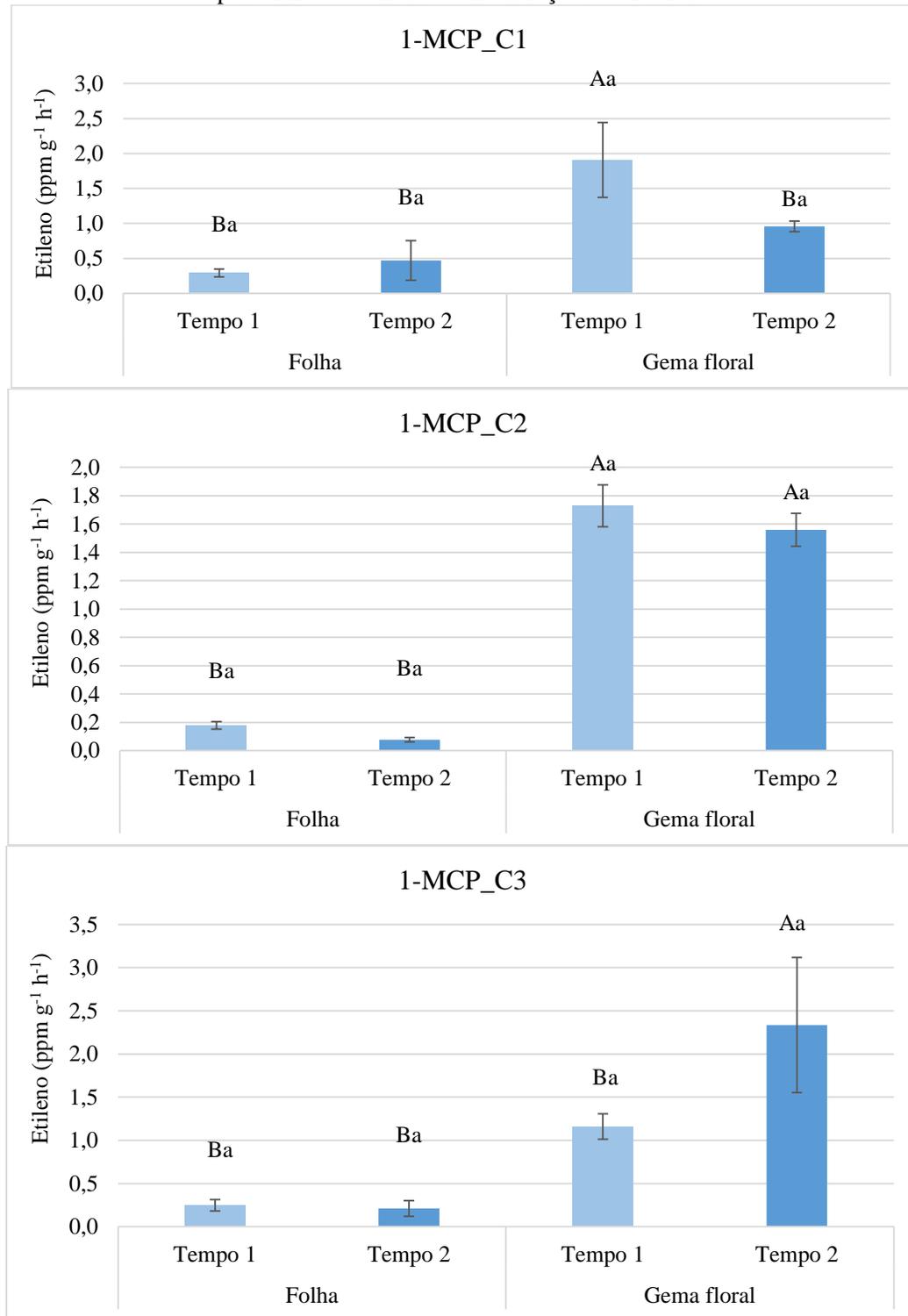
Em plantas pulverizadas com o Break-thru®, o qual foi utilizado como controle do surfactante da calda preparada para o 1-MCP (LIMA, 2015; SILVA, 2016), foi visto que, não houve diferenças entre tempos de coleta para um mesmo órgão. Contudo, as diferenças foram observadas entre folhas e gemas, tendo as gemas uma maior produção de etileno (Figura 19).

Figura 19. - Medidas da produção de etileno de folhas e gemas florais de cafeeiros pulverizados com o surfactante Break-thru® em condições de campo.



Legenda: As letras maiúsculas comparam entre tratamentos e as letras minúsculas entre um mesmo órgão. As barras de intervalo indicam o erro padrão. As diferenças das médias de cada tratamento ( $p < 0,05$ ), representadas nas colunas, foram comparadas por meio do P valor para cada tecido e para cada tempo de coleta (Tempo 1: 15 dias e Tempo 2: 30 dias, após a aplicação).

Figura 20. - Medidas da produção de etileno de folhas e gemas florais de plantas em condições de campo pulverizadas com três concentrações de 1-MCP.



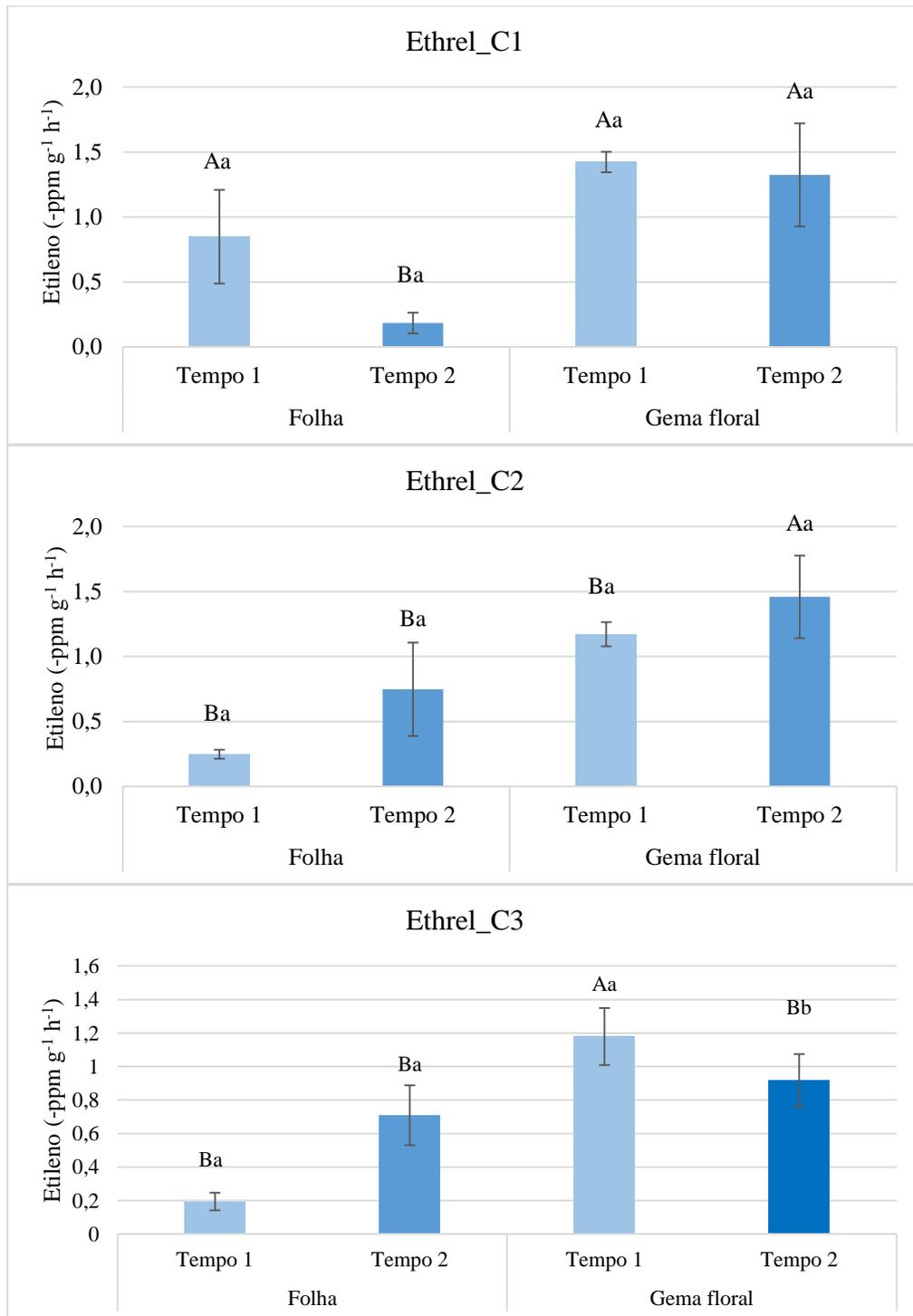
Legenda: As letras maiúsculas comparam entre tratamentos e as letras minúsculas entre um mesmo órgão. As barras de intervalo indicam o erro padrão. As diferenças das médias de cada tratamento ( $p < 0,05$ ), representadas nas colunas, foram comparadas por meio do P valor para cada tecido e para cada tempo de coleta (Tempo 1: 15 dias e Tempo 2: 30 dias, após a aplicação).

Em plantas pulverizadas com três diferentes concentrações do inibidor da ação do etileno 1-MCP, foi observado que as gemas florais, em comparação com as folhas, foi o órgão que apresentou a maior quantidade de etileno independentemente do tempo de coleta. Na concentração 1 (100 mg de i.a L<sup>-1</sup>), foi observado um incremento na produção de etileno das gemas no Tempo 1, que logo após no Tempo 2 diminuiu. Na concentração 2 (125 mg de i.a L<sup>-1</sup>), a quantidade de etileno nas gemas florais, se manteve nos dois tempos, mas na concentração 3 (150 mg de i.a L<sup>-1</sup>), foi observado o contrário para a concentração 1, já que o etileno do Tempo 1 para o Tempo 2 aumentou (Figura 20).

Quanto ao Ethrel<sup>®</sup>, as folhas do Tempo 1, na concentração 1 (0,65 mg de i.a L<sup>-1</sup>), apresentaram maior quantidade de etileno a qual no tempo, foi observado que diminuiu (Figura 21). Em comparação com o etileno quantificado nas gemas, as folhas do Tempo 1, não apresentaram uma diferença estatística significativa. Nessa mesma concentração, o etileno produzido pelas gemas florais, não apresentou diferenças significativas entre os dois tempos, ou seja, que o etileno neste órgão ao longo do tempo (30 dias) se manteve uniforme.

Para aplicações na segunda concentração de Ethrel<sup>®</sup> (1,3 mg de i.a L<sup>-1</sup>), foi observado que entre o mesmo órgão não houve diferenças na quantificação de etileno, mas houve um incremento no Tempo 2 nas gemas florais. Em geral houve diferenças entre as medidas de etileno de folhas e gemas, sendo sempre a quantidade de etileno maior nas gemas florais. Assim, para cada um dos tratamentos não foi visto uma variação de etileno 15 e 30 dias após a aplicação dos produtos, exceto a maior concentração de Ethrel<sup>®</sup> (2,6 mg de i.a L<sup>-1</sup>), em que a partir do primeiro tempo em gemas florais, os níveis de produção de etileno começaram a diminuir num 53%.

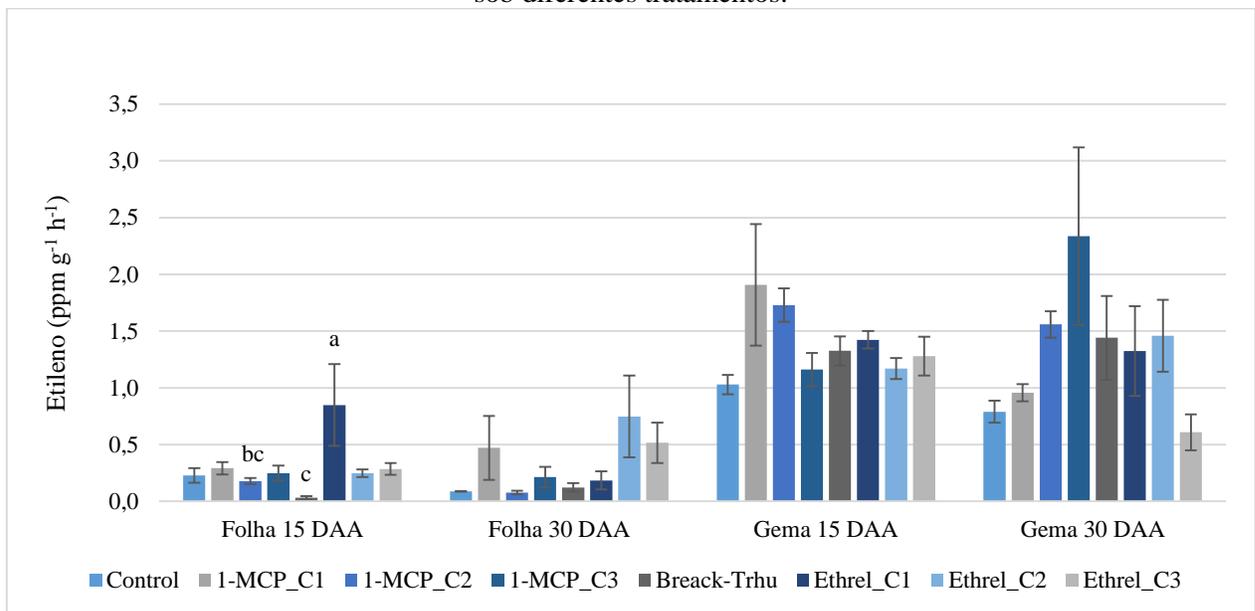
Figura 21. - Medidas da produção de etileno de folhas e gemas florais de plantas em condições de campo pulverizadas com três concentrações de Ethrel®.



Legenda: As letras maiúsculas comparam entre tratamentos e as letras minúsculas entre um mesmo órgão. As diferenças das médias de cada tratamento (teste de Tukey,  $p < 0,05$ ) representadas pelas barras, foram comparadas por meio do P valor para cada tecido para cada tempo de coleta (Tempo 1: 15 dias e Tempo 2: 30 dias, após a aplicação).

Em geral, foi observado que a gema floral apresentou a maior produção de etileno em comparação com as folhas, sendo isso independentemente do tempo de coleta. Se as análises são observadas desde o ponto de vista da resposta à aplicação dos produtos, o 1-MCP foi o que apresentou maior valor em gemas, e o Ethrel® em folhas. No entanto, essa maior concentração caiu ao longo do tempo nas folhas, mantendo-se somente constante em gemas com a segunda concentração de 1-MCP (Figura 22).

Figura 22. - Produção de etileno em folhas e gemas florais de cafeeiro em condições de campo sob diferentes tratamentos.



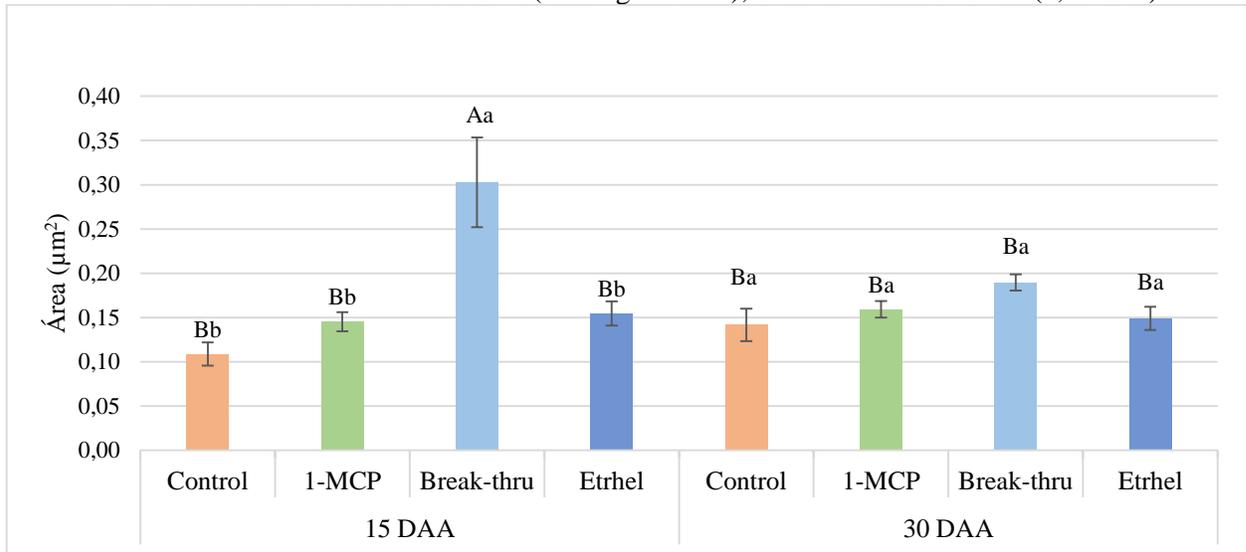
Legenda: Tempos de coleta: T1: 15 dias após a aplicação dos produtos (DAA) e T2: 30 dias após a aplicação dos produtos (DAA). As barras de intervalo indicam o erro padrão. As diferenças das médias de cada tratamento ( $p < 0,05$ ), representadas nas colunas, foram comparadas por meio do P-valor para cada órgão e para cada tempo de coleta.

#### 4.2.2 Análises anatômicas

Um dos resultados esperados no crescimento de gemas florais G3, foi o estímulo no desenvolvimento da vascularização, a partir de aplicações exógenas com 1-MCP (inibidor da ação do etileno) e Ethrel® (estimulador exógeno da produção de etileno). Entretanto, a partir das análises anatômicas no desenvolvimento do procâmbio, os resultados demonstraram que a vascularização das gemas florais foi estimulada 15 dias após à aplicação com o Break-thru®, sendo

superior em cerca de 50% em comparação com os outros tratamentos. Em relação ao tempo de coleta, o efeito do Break-thru sobre a vascularização, diminuiu aos 30 dias após o início dos tratamentos (Figura 23).

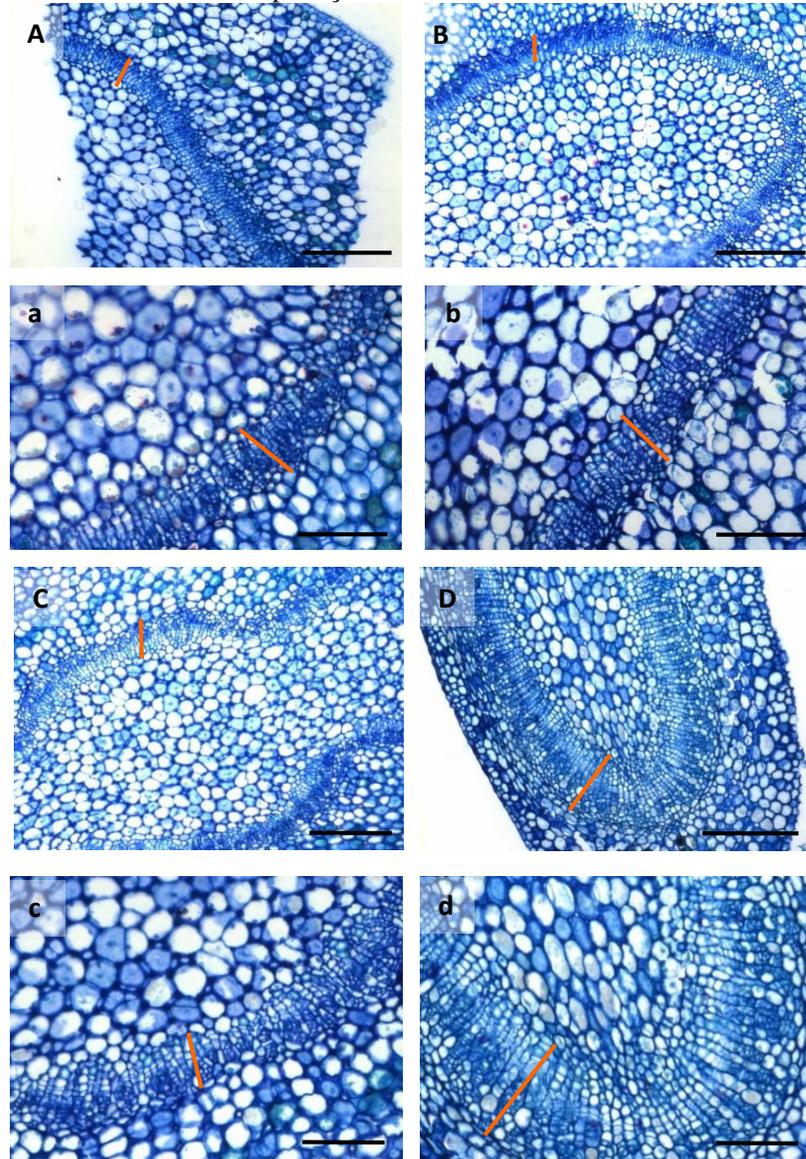
Figura 23. - Medidas da área do desenvolvimento procambial em seções transversais de gemas florais de cafeeiro sob tratamentos com 1-MCP (150 mg de i.a. <sup>-1</sup>), Break-trhu® e Ethrel® (2,6 mL <sup>-1</sup>).



Legenda: Letras maiúsculas compraram os tratamentos entre os tempos de aplicação; letras minúsculas compararam os tratamentos em cada tempo de aplicação. **15 DAA** (15 dias após a aplicação) e **30 DAA** (dias após a aplicação). As barras de intervalo indicam o erro padrão. As diferenças das médias de cada tratamento ( $p < 0,05$ ), representadas nas colunas, foram comparadas por meio do P-valor para cada tecido e para cada tempo de coleta.

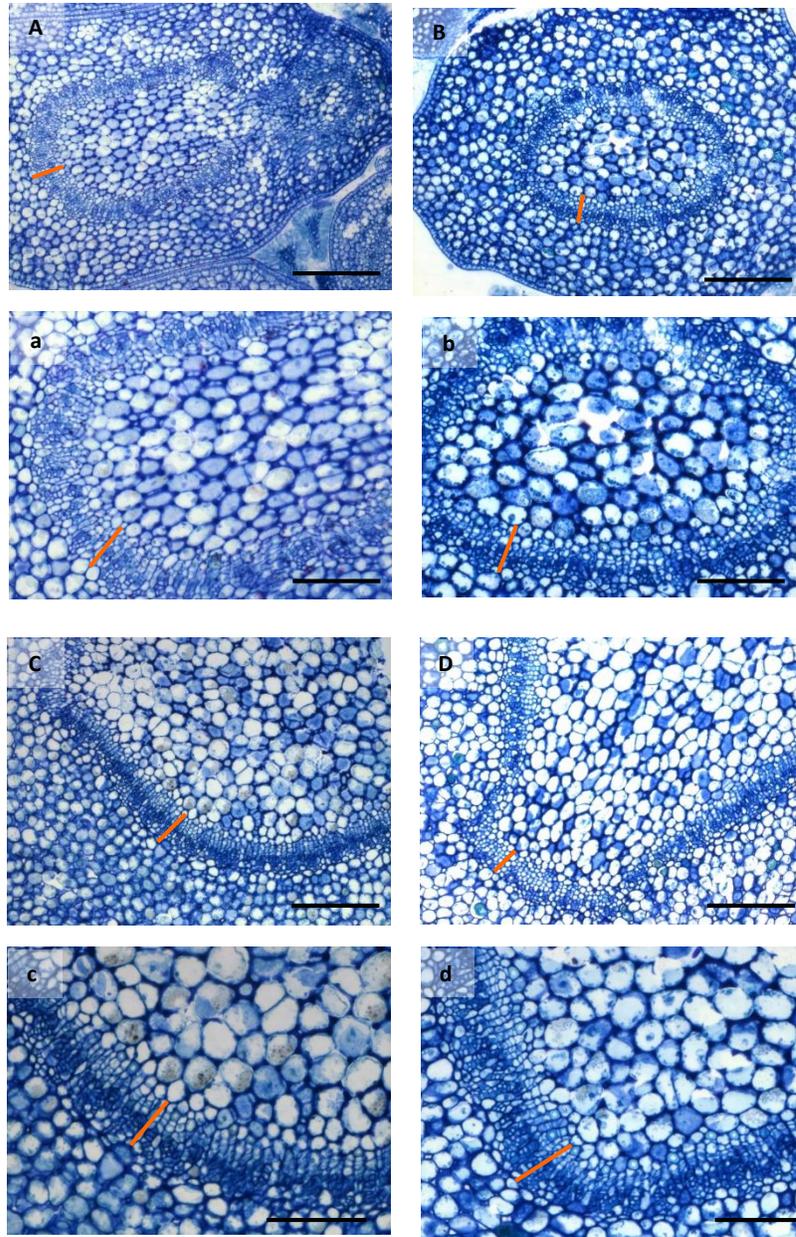
Ao comparar o desenvolvimento do procâmbio entre os dois tempos de coleta, após a aplicação dos produtos, foi observado que não houve uma diferença significativa entre os tratamentos. No entanto, a comparação entre produtos, revelou que o Break-trhu® produz uma resposta diferenciada entre tratamentos no desenvolvimento da proporção da área do procâmbio na área da gema (Figura 24). Assim, 15 dias após as aplicações, foi observado que o desenvolvimento do procâmbio, foi estimulado em plantas pulverizadas com o surfactante Break-trhu®. Isto suporta as observações de um aumento na espessura desta área (Figura 25, imagem D e d), onde o comportamento das células, mostrou tendências a dividir-se em direção ao centro e o exterior da borda da área de diferenciação, indicando o desenvolvimento inicial, para a formação dos tecidos vasculares xilema e o floema.

Figura 24. - Seções transversais do pecíolo de gemas florais de cafeeiro, coletadas 15 dias após a aplicação dos tratamentos.



Legenda: As barras laranja marcam a espessura da área do procâmbio medida em proporção à área da gema. **A**, Controle sem aplicação de produto: 75.67  $\mu\text{m}$ , **a**, imagem A ampliada 10X. **B**, Tratamento com Ethrel<sup>®</sup> na maior concentração: 78.77  $\mu\text{m}$ , **b**, imagem B ampliada 10X. **C**, Tratamento com 1-MCP na maior concentração: 82.41  $\mu\text{m}$ , **c**, imagem C ampliada 10X. **D**, Controle do surfactante Break-thru<sup>®</sup>: 121.70  $\mu\text{m}$ , **d**, imagem D ampliada 10X. Barra preta horizontal = 150  $\mu\text{m}$  para as letras maiúsculas e Barra preta horizontal = 300  $\mu\text{m}$  para as letras minúsculas.

Figura 25. - Seções transversais do pecíolo de gemas florais de cafeeiro, coletadas 30 dias após a aplicação dos tratamentos.

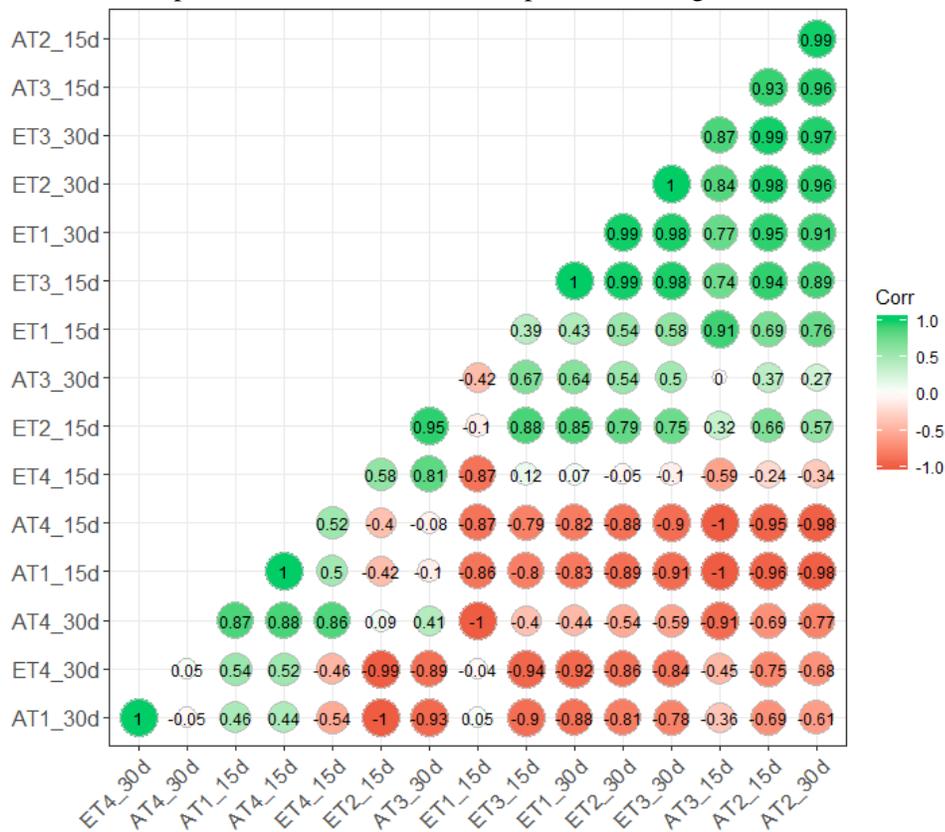


Legenda: As barras laranja marcam a espessura da área do procâmbio medida em proporção à área da gema. **A**, Controle sem aplicação de produto: 79.05  $\mu\text{m}$ , **a**, imagem A aumentada 10X. **B**, Tratamento com Ethrel® na maior concentração: 73.97  $\mu\text{m}$ , **b**, imagem B aumentada 10X. **C**, Tratamento com 1-MCP na maior concentração: 81.00  $\mu\text{m}$ , **c**, imagem C aumentada 10X. **D**, Controle do surfactante Break-thru®: 86.14  $\mu\text{m}$ , **d**, imagem D aumentada 10X. Barra preta horizontal = 150  $\mu\text{m}$  para as letras maiúsculas e Barra preta horizontal = 300  $\mu\text{m}$  para as letras minúsculas.

Por outro lado, 30 dias após a aplicação dos produtos, não foram observadas diferenças significativas no desenvolvimento do procâmbio de gemas florais de cafeeiros. A organização celular foi mais homogênea neste tempo de coleta e sob estas condições, o que levou a outras observações que confirmam, de acordo a trabalhos anteriores (CRISOSTO *et al.*, 1992), que nesta etapa do desenvolvimento da gema floral, os meristemas ainda continuam em divisão celular e diferenciação dos tecidos vasculares (Figura 25).

As relações entre o desenvolvimento vascular das gemas florais e os níveis de produção de etileno podem ser visualizadas na figura 26. As correlações entre a área do procâmbio e o etileno mostraram que a atividade procambial, foi alterada pela ação dos tratamentos em resposta à produção de etileno nas gemas florais.

Figura 26. - Correlação entre os níveis de etileno medidos na maior concentração dos produtos aplicados no campo, e as medidas das áreas do procâmbio de gemas florais de cafeeiro.



Legenda: **A**: área do procâmbio; **E**: produção de etileno; **T1**: Controle; **T2**: 1-MCP; **T3**: Brek-Thru; **T4**: Ethrel; **15d**: 15 dias após a aplicação; **30d**: 30 dias após a aplicação. Os níveis de correlações, positivas ou negativas, estão representadas por meio de valores entre 0 e 1, sendo a intensidade dessa correlação discriminada pelas diferenças entre às cores, indicadas em vermelho (relação negativa) e verde (relação positiva).

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Experimento – Casa de vegetação

#### 5.1.1 Análises fisiológicas

O potencial hídrico foliar tem sido uma das formas mais efetivas para descrever o estado hídrico das plantas (CLARK & HILER, 1973; LÓPEZ *et al.*, 2010). No campo, este potencial medido antes do amanhecer, foi a forma mais assertiva para determinar o momento da irrigação em determinados cultivares (RENA & MAESTRI, 2000; REZENDE *et al.*, 2009). Desta forma, no presente trabalho, com os diferentes valores do potencial hídrico foliar medidos nos dois tratamentos, foi garantido o desenvolvimento de gemas florais em plantas hidratadas e sob estresse hídrico.

Quando observado que as plantas sob o tratamento de estresse hídrico apresentaram valores muito baixos, e conseqüentemente para evitar danos severos nos cafeeiros e abortamento das gemas florais, as plantas foram reidratadas 15 dias após o início dos tratamentos. Um dos fatores que influenciaram para que as medidas dos potenciais hídricos foliares apresentassem valores tão baixos, foi o fato das raízes se encontrar limitadas em vasos de 50 litros, o que representou uma barreira física, que em condições de campo, os cafeeiros não têm, influenciando a uma perda e/ou absorção mais rápida da água com solos de aspecto seco nos vasos (CRISOSTO *et al.*, 1992; CAÑÓN, 2018).

Assim, com o conseqüente efeito da reidratação, as plantas do tratamento 2 uniformizaram o desenvolvimento das gemas florais, limitando para posteriores análises anatômicas, a coleta no estágio de desenvolvimento G3. Além disso, ao aumentar o *status* hídrico da planta após um período de seca, as gemas em poucos dias após a reidratação, cresceram e se desenvolveram de forma rápida, chegando a estádios de desenvolvimento G5 (MORAIS *et al.*, 2008). Foi observado também, como que com um adequado manejo da água, após um período de seca e posterior aumento do potencial hídrico nos cafeeiros, pode ser garantida uma florada mais concentrada e uniforme (GOUVEIA *et al.*, 1984; CRISOSTO *et al.*, 1992; SOARES *et al.*, 2005; MATIELLO *et al.*, 2006; NEVES *et al.*, 2008; LOSS *et al.*, 2015).

Por outro lado, durante o desenvolvimento do experimento, uma das observações mais consistentes foram os valores mais elevados da quantificação de etileno em gemas florais em comparação aos valores das folhas. A distribuição do etileno na planta depende de diversos fatores bióticos e abióticos, como o tipo de órgão e o estado biológico no qual o órgão se encontra. Além disso, essa distribuição depende de fatores ambientais, onde a planta pode enfrentar situações adversas como o estresse hídrico, ataque de patógenos, alagamento, entre outros (PORTA & JIMÉNEZ, 2019). Os maiores valores medidos da quantificação do etileno, foram em gemas que se desenvolveram sob um período de estresse hídrico. Assim, o etileno também incrementa sua biossíntese de forma localizada, uma vez que a planta tem que enfrentar as condições ambientais de desidratação, e as estruturas florais são um dos órgãos mais suscetíveis ante estas situações de estresse (MCMICHAEL *et al.*, 1972; GUINN, 1976; BEN-YEHOSHUA & ALONI, 1974).

Em rosas por exemplo, uma vez submetidas a um processo de reidratação, foi vista uma resposta rápida e transitória do etileno no gineceu, servindo como sinal para garantir a recuperação da água nas flores e promovendo a antese (MENG *et al.*, 2014). Para o presente experimento, as medidas de etileno das gemas florais sob estresse hídrico, neste caso, uma vez reidratadas, foi observado um aumento nos valores do hormônio em comparação com as gemas de plantas irrigadas. Assim, esse sinal possivelmente influenciou para a retomada do rápido desenvolvimento das gemas florais no tratamento 2.

Estudos suportam que durante um período de estresse hídrico, as plantas acumulam sinalizadores nas raízes que, com o aumento do potencial hídrico, podem ser transportados até a parte aérea, como acontece com a quebra da dormência das gemas florais do cafeeiro, onde após um período de seca, com o começo da queda das chuvas, retomam seu crescimento até a floração (CRISOSTO *et al.*, 1992). Mesmo assim, em cafeeiros foi observado uma diminuição da expressão dos genes da biossíntese e sinalização do etileno durante condições de déficit hídrico, em que após uma reidratação, sua expressão aumentou na parte aérea (LIMA, 2015; AVELAR, 2018). Outras investigações, demonstraram em mandarinas, que plantas submetidas a condições de estresse hídrico, acumularam o precursor da biossíntese de etileno ACC (Ácido 1-carboxílico-l-aminociclopropano) e aumentaram os níveis de ABA (Ácido abscísico) nas raízes, que logo após a reidratação resultou no aumento do conteúdo de ACC, e conseqüentemente, na produção de etileno nas folhas (GOMEZ-CADENAS *et al.*, 1996).

Outro possível fator importante para o alto conteúdo de etileno em gemas florais em comparação com as folhas, é que as gemas florais ainda são órgãos em crescimento, e também é possível encontrar maior concentração de etileno em zonas meristemáticas por estas serem áreas em desenvolvimento (AUCIQUE *et al.*, 2012). Nos primeiros estádios de desenvolvimento das gemas florais do cafeeiro, como o estádio G3, anatomicamente, estas gemas ainda apresentam estruturas em diferenciação (CRISOSTO *et al.*, 1992; MORAIS *et al.*, 2008), e as células dessas áreas se encontram em divisão e alongação, processos que são necessários para a diferenciação e crescimento de órgãos (DEDECCA, 1957; ETCHELLS & TURNER, 2012; DE OLIVEIRA *et al.*, 2014). Em *populus*, foi comprovado como o etileno exerce uma função importante como sinalizador para a formação da madeira de tensão, detectando-se nas árvores, um aumento da produção de etileno localizado em estas áreas em formação da madeira (LOVE *et al.*, 2009).

Os cafeeiros submetidos a tratamentos de irrigação e estresse hídrico, também apresentaram diferenças no tempo de desenvolvimento das gemas florais. As gemas desenvolvidas em plantas irrigadas cresceram constantemente e de forma assíncrona durante a imposição dos tratamentos. Em cada repetição biológica, foi vista a presença de flores e gemas em diferentes estádios no mesmo nó, ao contrário de gemas florais desenvolvidas durante o tratamento de estresse hídrico, que uma vez suspensa a irrigação, cessaram seu crescimento (GOUVEIA, 1984).

Após a reidratação dos cafeeiros no tratamento 2, as gemas florais, em poucos dias retomaram rapidamente seu crescimento chegando a estádios mais avançados de desenvolvimento como o G5, em comparação as gemas em plantas irrigadas que, no mesmo tempo, continuaram apresentando gemas nos estádios G2 a G6 e flor. Assim, com as observações anatômicas entre tratamentos, foi perceptível a diferença no desenvolvimento do meristema procambial, sendo maior nas gemas desenvolvidas em plantas irrigadas. Deste modo, elas apresentaram características diferenciais, incluindo maior espessura da área do procâmbio, e uma tendência das células a crescer em direção ao centro e o exterior da borda do meristema (divisões periclinais e anticlinais), indicando, o que seria, o desenvolvimento para a diferenciação dos tecidos vasculares do xilema e o floema (ETCHELLS, PROVOST, & TURNER, 2012).

O xilema e o floema são produzidos a partir de populações estáveis de células mãe, com crescimento primário a partir do procâmbio e crescimento secundário a partir do câmbio vascular. O sistema vascular se estende por todo o corpo da planta, fornece suporte mecânico e serve como

meio de transporte de recursos, permitindo a comunicação de respostas ao estresse biótico e abiótico através de órgãos distantes da planta (CAPMBELL & TURNER, 2017). Para o presente experimento, as gemas florais das plantas irrigadas foram mantidas com um potencial hídrico com pouca variabilidade, ou seja, a planta em disponibilidade hídrica, não apresentou sintomas de estresse. Nestas condições, a planta continuou desenvolvendo gemas florais e, conseqüentemente, tecidos meristemáticos que contêm populações estáveis de células mãe pluripotentes. Esta situação permite a regulação contínua da divisão celular, crescimento e diferenciação sem impedimentos físicos como a restrição da água para continuar com o seu crescimento (RODRIGUES & BARBANTE, 2009; CAPMBELL & TURNER, 2017). Esta situação pode não se apresentar de igual forma quando a planta está sob estresse hídrico, levando-se a concluir que, para as plantas que foram submetidas a um período de seca, o crescimento das gemas parou, até novamente a planta se recuperar do período de estresse.

Foi observado (Figura 18), a maior espessura e desenvolvimento do procâmbio das gemas irrigadas, e também, como isso favoreceu estruturalmente o intercâmbio de água, nutrientes (MORAIS *et al.*, 2008) e sinais bioquímicos com a planta, contribuindo para esse momento, com a possibilidade de continuar o desenvolvimento maior do meristema procambial. No entanto, as gemas desenvolvidas sob condições de estresse hídrico, ao passar por um período severo de seca, cessaram seu crescimento. Embora, como foi revisado anteriormente, as gemas florais de cafeeiro precisam passar por um período de dormência que coincide com a estação seca do ano (GOUVEIA, 1984). Durante este período de latência das gemas, a planta acumula sinais químicos na raiz como fitormônios, que com o aumento do potencial hídrico na planta, são transportados até a parte aérea (CRISOSTO *et al.*, 1992). Nesse sentido, é sugerido que as gemas que se encontravam sob estresse hídrico, no momento da reidratação, receberam sinais da raiz, o que levou ao seu rápido crescimento, ao rápido aumento do potencial hídrico e à maior produção de etileno na parte aérea, e, conseqüentemente, na indução da antese.

## 5.2 Experimento em campo

### 5.2.1 Análises fisiológicas

Para a quantificação da produção de etileno medido em plantas controle, cada órgão demonstrou seguir os mesmos padrões de quantificação das plantas em casa da vegetação. As gemas florais, independentemente do tempo de coleta, apresentaram os maiores valores de etileno em comparação com os órgãos de folha, comportamento que foi observado de igual forma, para cada uma das concentrações dos produtos aplicados em cafeeiros em condições de campo. Este comportamento parece estar associado a variações no clima em conjunto com o momento das diferentes etapas fenológicas da planta de café. Assim foi observado que durante a etapa reprodutiva, aumentou o etileno em gemas florais e estabilizou o etileno produzido nas folhas, já que neste órgão em geral, não houve variações significativas.

Com relação à quantificação de etileno e análises anatômicas, comparando os tempos de coleta foi observado que com 15 dias após a aplicação dos produtos, para plantas pulverizadas com o controle do surfactante Break – thru<sup>®</sup>, houve uma diferença significativa em comparação aos outros tratamentos. Para o Break – thru<sup>®</sup> houve uma resposta de maior desenvolvimento do procâmbio das gemas florais, e maior valor da quantificação da produção de etileno. As análises mostraram uma correlação positiva (Figura 26), onde foi visto que com a maior área de desenvolvimento do procâmbio, maior a produção de etileno. O Break – thru<sup>®</sup> é uma substância não iônica, que atua como surfactante, umectante, dispersante e penetrante. Sua função é reduzir a tensão superficial da água e assim permitir que as partículas dos produtos aplicados sejam facilmente absorvidos pelas plantas, além de promover uma distribuição mais uniforme pelas suas qualidades dispersantes (BASF, 2020).

O surfactante, uma vez aplicado numa superfície biológica, interage de forma físico-química, e este tipo de interação, pelas propriedades hipotensoras do produto, podem alterar a permeabilidade das membranas celulares (CIAT, 1980) deixando as superfícies, por exemplo das folhas, mais susceptíveis a sinais do ambiente. Anteriormente, foi observado que em gemas florais de cafeeiros, em casa de vegetação sob tratamentos de irrigação, houve maior desenvolvimento do procâmbio de gemas florais em comparação com o tratamento de estresse hídrico. Essa observação em relação com a água, poderia ser um dos motivos pelos quais os meristemas das gemas florais

sob tratamento com Break – thru® apresentaram maior desenvolvimento. De forma que os tecidos pulverizados com o produto, uma vez mais sensíveis ao contato e penetração de substâncias, poderiam entrar mais facilmente em contato com a umidade do ambiente, por exemplo o orvalho, e assim facilitar a absorção de partículas de água pelos tecidos, conseqüentemente modificando o diâmetro dos vasos (ABD EL-RAHIM *et al.*, 1998; LOVISOLO & SCHUBERT, 1998; BOUGHALLEB *et al.*, 2014; AVELAR, 2108), ou para este caso, a espessura do procâmbio. O anteriormente mencionado, é apresentado como um possível comportamento da gema floral em resposta à aplicação do produto, mas análises mais minuciosas para a compreensão de como o surfactante age no tecido meristemático da gema floral são necessárias.

Foi observado que para as análises da quantificação da produção de etileno em resposta a aplicação do 1-MCP, na primeira concentração, houve uma alta atividade na gema floral 15 dias após a aplicação, valor que depois decaiu com o tempo. Este comportamento foi observado em estudos anteriores, onde foi avaliada a atividade da expressão de genes da rota da biossíntese do etileno, que com aplicações de 1-MCP em cafeeiros no campo, mostraram um pico de atividade 2 horas após a aplicação, de forma que pasadas 24 horas, a atividade já não foi percebida (SILVA, 2016). Embora, com a terceira concentração de 1-MCP, foi visto que o valor da quantificação de etileno incrementou no tempo, aos 30 dias após da aplicação. Por outro lado, para o Ethrel®, os valores além da quantificação do etileno em gemas serem maiores em comparação com as folhas, foi observado que em folhas, foi o único tratamento que pareceu influenciar de forma significativa, a sua produção de etileno.

Silva (2016), também observou em cafeeiros pulverizados com 1-MCP + Break – thru®, o aumento no teor de água foliar que, mesmo percebido momentaneamente, produz uma redução na transpiração em comparação com plantas controle sem aplicação do produto. Isto ajudou as plantas manterem os níveis internos de água, o que permitiu um fluxo de água das folhas para os botões florais, dando uma resposta, nove dias após a aplicação, de antese nos cafeeiros, mesma observação feita por Lima (2015) em plantas de café com aplicações com o 1-MCP. Desta forma, inibidores da ação da biossíntese de etileno como o 1-MCP, podem contribuir no entendimento de como o fitohormônio intervém no processo de floração do cafeeiro, já que as plantas apresentam respostas diferenciadas ao controle sem aplicação, no desenvolvimento da gema floral e na antese.

Referente as avaliações anatômicas em gemas florais de plantas pulverizadas com a maior concentração de 1-MCP (inibidor da ação do etileno) e o Ethrel® (estimulador exógeno da sua

produção), o desenvolvimento do meristema vascular das gemas florais de cafeeiros sob condições no campo, apresentaram alterações pouco significativas em comparação com o controle, o que não deixa evidente, se estes produtos poderiam estimular um maior desenvolvimento da vascularização em gemas florais no estágio G3, permitindo um maior fluxo de sinais químicos da planta para as gemas. No entanto, este efeito foi observado com a aplicação do controle do surfactante Break – thru<sup>®</sup>, o que levou a observações da área do procâmbio com uma espessura maior, e uma diferenciação mais evidente do tecido meristemático, e diferenciação celular, além da correlação com o maior valor da quantificação de etileno, o que resultou em uma gema com um grau maior de desenvolvimento em comparação ao controle. Embora, ainda o seu mecanismo da ação na gema floral de cafeeiro não tenha sido elucidado.

Os dados relacionados apresentaram diferentes níveis de dependências entre a área do procâmbio e a produção de etileno decorrente dos tratamentos. Foi observada uma correlação altamente inversa (negativa) para T1 (Controle), tanto em 15 como em 30 dias após a aplicação, correspondendo às medidas normais de etileno nas plantas sem aplicação. As correlações para o T2 (1-MCP + Break-trhu<sup>®</sup>) foram diretamente proporcionais com maior intensidade aos 30 dias após a aplicação. Para o T3 (Break-trhu<sup>®</sup>), verificou-se média e alta correlações diretamente proporcionais, a 15 e 30 dias após a aplicação, respectivamente. Os dados para T3 indicaram os maiores níveis de etileno e o maior desenvolvimento do procâmbio das gemas florais, confirmando as observações anteriores, onde foi visto o maior desenvolvimento da espessura do procâmbio entre os dois tempos de coleta e o maior valor da quantificação de etileno para este produto. Em relação ao T4 (Ethrel<sup>®</sup>), houve uma correlação média entre a área do procâmbio e a produção de etileno. Assim, dos produtos aplicados no campo, o Ethrel<sup>®</sup> foi o que menos influenciou para o desenvolvimento da área do procâmbio em relação a quantificação da produção de etileno, e na concentração três com 30 dias após a sua aplicação, foi observado que sua ação decresceu no tempo (Figura 26).

## 6. CONCLUSÃO

O presente estudo fornece novas informações sobre a produção de etileno de folhas e gemas florais de cafeeiros sob condições de irrigação e sob estresse hídrico, em casa de vegetação. Por conseguinte, mostrando por meio de técnicas anatômicas, como o manejo da irrigação afeta a vascularização das gemas florais em estádios jovens de desenvolvimento. Adicionalmente, esse trabalho fornece dados sobre a quantificação da produção de etileno de folhas e gemas em cafeeiros submetidos a pulverizações com Ethrel<sup>®</sup> (estimulador exógeno da produção de etileno), 1-MCP (inibidor da ação do etileno) e Break-thru<sup>®</sup> (controle da calda 1-MCP + surfactante). A partir das análises anatômicas foi possível atribuir uma relação direta do etileno com o desenvolvimento do procâmbio das gemas do cafeeiro, mediante a ação de produtos que interagem com a biossíntese e sinalização do etileno.

Por outro lado, a suposição de que o crescimento de cada botão floral na inflorescência pode estar potencialmente limitado pelo desenvolvimento do tecido vascular, levou no presente trabalho, a uma possibilidade teórica de poder incrementar o tamanho final da gema floral do cafeeiro em menos tempo, se ocorrer uma maior vascularização do pedicelo, o ponto de conexão da gema com o ramo. Assim, os resultados sugerem que, aplicações exógenas de substâncias como o Break – thru<sup>®</sup>, contribuíram para aumentar a área do procâmbio das gemas florais de cafeeiro em estado de desenvolvimento G3, além do incremento na produção de etileno.

## 7. BIBLIOGRAFIA

ACHARD, P. *et al.* The plant stress hormone ethylene controls floral transition via DELLA-dependent regulation of floral meristem-identity genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 15, p. 6484–9, 10 abr. 2007.

AGRO BAYER BRASIL. **Ethrel**. 2018. Disponível em:  
<https://www.agro.bayer.com.br/produtos/ethrel>

ALVES, J. D. *et al.* Estudo da maturação do café por estímulo mecânico. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1. 2003. Porto Seguro. Anais... Porto Seguro: **EMBRAPA Café**, CD-ROM., 2003.

ARCILA, J. *et al.* Sistemas de producción de café en Colombia. **Federación Nacional de Cafeteros de Colombia – Cenicafé**, Capítulo 2. Crecimiento y desarrollo de la planta de café. 2007.

AUCIQUE C.E., DAZA E.S. & ROMERO H.M. Efecto del etileno en el crecimiento y desarrollo de la palma de aceite (*Elaeis guineensis*. Jacq.), en fase de vivero. **Cenipalma** n 169, 2012.

AVELAR, R.P. Regulação do etileno em cafeeiros cultivados sob diferentes níveis de déficit hídrico. **Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras**, 2018.

**BASF**. Break Thru®, coadyuvante para otimizar el desempeño de agroquímicos. 2020. Disponível em: <https://agriculture.basf.com/mx/es/proteccion-de-cultivos-y-semillas/productos/break-thru.html>

BARROS, R. S.; MAESTRI, M.; COONS, M. P. The physiology of flowering in coffee: a review. **Journal of coffee research**, v. 8, n. 2-3, p. 29-73, 1978.

BENETTI, R., IRINEU, J. & CARVALHO, M.L. Diferenciação de gemas florais em cultivares de cafeeiro. **Coffee Science**, Lavras, 6, (1), p. 36-43, 2011.

BATISTA, L.A. Características morfofisiológicas de cafeeiros *Coffea arabica* L.

**Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras**, p. 13, 2010.

BLANKENSHIP, S. Ethylene effects and the benefits of 1-MCP. **Perishables Handling Quarterly**, n.108, 2001.

CAMARGO, A. Florescimento e frutificação de café arábica nas diferentes regiões (cafeeiras) do Brasil. **Pesq, agropec. Brasília**, 20 (7):831-839, 1985.

CAMARGO, A.P. & CAMARGO, M.B. Definição e esquematização das fases fenológicas do Cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Agrometereologia**. Bragantia, Campinas, 60 (1), 65-68, 2001.

CAÑÓN, M. Determinación de las necesidades hídricas en un cultivo de café, en etapa productiva, con base en el conocimiento del balance hídrico. **Tesis (Maestria) – Universidad de Manizales**, 2018.

CAPMBELL, L.& TURNER, S. Regulation of vascular cell division. **Journal of Experimental Botany**, V (68) 1, 1, p 27–43, 2017.

CARVALHO, C.H. Cultivares de café. **Varginha – Minas gerais**, p. 51. 2008. Disponível em: [http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/publicacoes\\_tecnicas/Livro\\_Cultivares.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/publicacoes_tecnicas/Livro_Cultivares.pdf)

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL, **CIAT**. Los surfactantes: clases, propiedades y uso con herbicidas. 1980.

CLARK, R. N. & HILLER, E. A. Plant measurements as indicators of crop water deficit. **Crop Science**, Madison, v. 13, p. 466-469, 1973.

COLLAZOS, R., VOLCA, N.C. & RASCÓN J. Utilización de fitohormonas para la inducción floral del cultivo de pifia (*Ananas comosus* (L.) Merr.) en el distrito de Santa Rosa, Rodríguez de Mendoza, región Amazonas (Perú). **Rev. de investig. agroproducción sustentable**. V. 1, 1, p. 55-62, 2017.

CONAB | ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA DE CAFÉ | v. 6– Safra 2020, n1 - Primeiro levantamento, Superintendências Regionais Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo. Janeiro, 2020.

CORDEIRO D.C., *et al.* Sensibilidade da rosa ‘Osiana’ ao etileno. **Tecnologia Pós-colheita**. v. 70, n 3, p.677-681, 2011.

COSTA, C.G. *et al.* Xilema. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUERREIRO, A.M. **Anatomia vegetal**. Viçosa, MG: UFV, Cap.5. 2004.

CRISOSTO *et al.* Effects of water deficit on flower opening in coffee (*Coffea arabica* L.). **Tree physiology**, v. 10, n. 2, p. 127-139, 1992.

DAVIES, William J. *et al.* Regulation of leaf and fruit growth in plants growing in drying soil: exploitation of the plants' chemical signalling system and hydraulic architecture to increase the efficiency of water use in agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 350, p. 1617-1626, 2000.

DAVIS, A. P. *et al.* An annotated checklist of the genus *Coffea* L. (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 152, n. 4, p. 465-512, 2006.

EIRA, M. *et al.* Coffee seed physiology. **Plant Physiol**, 18 (1):149-163, 2006.

ETCHELLS, J.P., PROVOST, C.M. & TURNER, S.R. Plant Vascular Cell Division Is Maintained by an Interaction between PXY and Ethylene Signalling. **Genetics**, 2012.

GOLBERG, A. D.; RENARD, C.; LANNOYE, R.; LEDENT, J. F. Effects and after-effects of water stress on chlorophyll fluorescence transients in *Coffea canephora* Pierre and *Coffea arabusta* Capot and Aké Assi. **Café Cacao Thé**, Paris, v.32, n. p.11-16, 1988.

GOMEZ, A. Leaf abscission induced by ethylene in water-stressed intact seedlings of *Cleopatra Mandarin* requires previous abscisic acid accumulation in roots. **Plant Physiol.** 112: 401-408, 1996.

GOUVEIA, N. M. *et al.* Estudo da diferenciação e crescimento de gemas florais de *Coffea arabica* L. observações sobre antese e maturação dos frutos. 1984.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. Acerca del café: aspectos botánicos. 2019. Disponível em: [http://www.ico.org/es/botanical\\_c.asp?section=Acerca\\_del\\_caf%E9#bot](http://www.ico.org/es/botanical_c.asp?section=Acerca_del_caf%E9#bot)

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940.

LIMA, A. A. Ethylene regulation under different watering conditions and its possible involvement in coffee (*Coffea arabica* L.) flowering. **Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras**, 151p., 2015.

LOPES, S.M. *et al.* Colheita e processamento do café arábica. **EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais)**. 2011.

LOSS, J.B. *et al.* Floração, maturação e produtividade do cafeeiro conilon submetido a diferentes períodos de estresse hídrico. **III INOVAGRI International Meeting**. Fortaleza - Brasil, 2015.

MAJEROWICZ, N. Estudo da diferenciação e crescimento de gemas florais de *Coffea arabica* L. observações sobre antese e maturação dos frutos. **Tese (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas**, 11, 35p., 1984.

- MATIELLO, J.B. *et al.* Efeito do stress hídrico no abortamento e uniformização da floração em cafeeiros em região quente. In: **Congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras**, 32., Poços de Caldas, MG. Anais: CBP&DCafé/EMBRAPA CAFÉ, 330 p. p.30, 2006.
- MAZZAFERA, P.; CARVALHO, A. Produção e tolerância à seca de cafeeiros. **Bragantia**, 46 (2): 403 – 415, 1987.
- MEIR, S. *et al.* Re-evaluation of the ethylene-dependent and -independent pathways in the regulation of floral and organ abscission. **Journal of Experimental Botany**, V. 70, N. 5, P. 15, 2019.
- MELO, B. & BARBOSA L. Biologia da reprodução de *Coffea arabica*. L. e *Coffea canephora* Pierre. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)** v.6, n.2, p. 01–07, 2011.
- MENG, Y. *et al.* Precise spatio-temporal modulation of ACC synthase by MPK6 cascade mediates the response of rose flowers to rehydration. **The Plant Journal**, v. 79, n. 6, p. 941–950, 2014.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Café no Brasil. 2019. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe>
- MORAES. H.; CARAMORI. P. H.; KOGUSHI. M. S.; RIBEIRO. A. M. R. Escala fenológica detalhada da fase reprodutiva de *Coffea arabica*. **Bragantia, Campinas**, 67 (1), 257-260, 2008.
- MOREIRA F., *et al.* Uso de ethrel na colheita mecanizada e seletiva de café arábica (*Coffea arabica* L.). **Coffee Science**, Lavras, v. 4, n.2, p. 178-182, 2009.
- MURILO, F. Exploring drought tolerance in coffee: a physiological approach with some insights for plant breeding. **Plant Physiology**, vol.16 no.1, 2004.

- NEVES, M. *et al.* Alterações bioquímicas de plantas e morfológicas de gemas de cafeeiro associadas a eventos do florescimento em resposta a elementos meteorológicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.5, p.1300-1307, 2008.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N., MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, 59, 368-373, 1965.
- DE OLIVEIRA, R.R. *et al.* Flower development in *Coffea arabica* L.: new insights into MADS-box genes. **Plant Reprod** 27, 79–94, 2014.
- PICO, A. & CHAPARRO, A. Cambios en el patrón de desarrollo floral de *Neoregelia 'Flandria'* (Bromeliaceae) analizados mediante cadenas de Markov. **Acta Biológica Colombiana**, vol. 8, n 1, 2003.
- PEREIRA, J.P. Desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro: anatomia de vasos do xilema e dinâmica de carboidratos. **Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras**, p. 22, 2006.
- PEREIRA, O. Caracterização do amadurecimento e uso de inibidores do etileno na conservação pós-colheita de macaúba. **Portal macaúba**, 2019. Disponível em:  
<http://www.portalmacauba.com.br/2019/06/caracterizacao-do-amadurecimento-e-uso.html>
- PIETRO, J.; MATTIUZ, B.H. & MATTIUZ, C.F. Influência do 1-MCP na conservação pós-colheita de rosas cv. Vega. **Ciência e Agrotecnologia**, vol. 34 n 5, 1176-1183, 2010.
- PINARD, F. Sur les chemins des caféiers. **Études rurales**, 2007. Disponível em:  
<https://journals.openedition.org/etudesrurales/8498>
- PINTO, G.A. Efeitos de fitorreguladores na abertura de flores e aspectos qualitativos e quantitativos do abacaxizeiro 'Pérola'. **Pesq. agropec. bras**, Brasília, vol. 15, n 4:423-429, 1980.

PORTA, H. & JIMÉNEZ, G. Papel de las hormonas vegetales en la regulación de la autofagia en plantas. **Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, México, 22: 1-11, 2019.

QUEIROZ, R.B. *et al.* Iniciação e diferenciação floral em cultivares de cafeeiro. **Instituto Agrônomo de Campinas**, 2007. Disponível em:  
[http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb\\_anais/simposio5/p146.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb_anais/simposio5/p146.pdf)

RENA, A. B.; MAESTRI, M. Relações hídricas no cafeeiro. **ITEM: Irrigação & Tecnologia Moderna**, Brasília, n. 48, p. 34-41, 2000.

REZENDE, F.C. *et al.* Efeitos do potencial de água da folha na indução da floração e produção do cafeeiro (*Coffea arabica*, L.). **Coffee Science**, Lavras, v. 4, n. 2, p. 126-135, 2009.

RODRIGUES, M.A. & BARBANTE, G. Meristemas: fontes de juventude e plasticidade no desenvolvimento vegetal. **Hoehnea**, v.36 n.4, 2009.

SANTOS, I. Influência do etileno na regulação do florescimento de *Coffea arabica* L. **Disertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras**, p. 23 – 60, 104, 2016.

SANTOS, J. & NOVAIS, R. Cafés do Brasil têm produtividade média superior a 32 sacas por hectare em 2018. **Consórcio Pesquisa Café**. 2018. Disponível em:  
<http://www.consorciopesquisacafe.com.br/index.php/imprensa/noticias/888-2018-09-28-15-30-46>

SCUDELER, F. *et al.* Cobertura da pulverização e maturação de frutos do cafeeiro com ethephon em diferentes condições operacionais. **SciELO**, Bragantia, Campinas, v.63, n.1, p.129-139, 2004.

SELEGUINI, A. *et al.* Efeito da aplicação de diferentes concentrações de ethrel no florescimento e produção de pepino cultivado em ambiente protegido no município de Ilha Solteira-SP. **Embrapa Hortaliças**, Brasília, v. 22, n. 2, 2004.

SEREK, M.; SISLER, E.C.; REID, M.S. 1-methylcyclopropene, a novel gaseous inhibitor of ethylene action, improves the life of fruit, cut flowers and potted plants. **Acta Horticultura**, Wageningen, v.394, p.337-345, 1995.

SILVA, A.C. *et al.* Produtividade e potencial hídrico folhar do cafeeiro Catuaí, em função da época de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.1, p.21–25, 2008.

SOARES, R.A. *et al.* Irrigação e fisiologia da floração em cafeeiros adultos na região da zona da mata de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.27, n.1, p. 117-125, 2005.

TEIXEIRA A.L., *et al.* A moderna cafeicultura dos cerrados brasileiros. **SciELO. Pesqui. Agropecu. Trop.**, vol.42 no.2, 2012.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Plant Physiology third edition. **Sinauer Associates, Inc.**, EE.UU. 690 pg. 2004.

TRUSOV, Y.; BOTELLA, J. R. Silencing of the ACC synthase gene ACACS2 causes delayed flowering in pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.]. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 14, p. 3953–3960, 6 set. 2006.

VALE, A.R.; PEREIRA, R.A.; NAVES, F. A cafeicultura em Minas Gerais: uma breve comparação entre as regiões sul/sudoeste e triângulo mineiro/alto Paranaíba. **XXI Encontro Nacional de Geografia Agrária**. Uberlândia-MG, 2012. Disponível em: [http://www.lagea.ig.ufu.br/xx1enga/anais\\_enga\\_2012/eixos/1374\\_1.pdf](http://www.lagea.ig.ufu.br/xx1enga/anais_enga_2012/eixos/1374_1.pdf)

VILELA, P. S.; RUFINO, J. L. S. Caracterização da Cafeicultura de Montanha de Minas Gerais. Belo Horizonte: **INAES**, 2010. Disponível em: <http://www.sistemafaemg.org.br/web/files/1791326436247148171218200173247190199432722.pdf>

WANG, Kevin L.-C.; LI, Hai; ECKER, Joseph R. Ethylene biosynthesis and signaling networks. **The plant cell**, v. 14, n. suppl 1, p. S131-S151, 2002.

WANG, Qin *et al.* Rice CONSTITUTIVE TRIPLE-RESPONSE2 is involved in the ethylenereceptor signalling and regulation of various aspects of rice growth and development. **Journal of experimental botany**, v. 64, n. 16, p. 4863-4875, 2013.

ZAPATA, L. N. Evaluación de la incidencia de la aplicación folhar de ácido giberélico en la floración de árboles de *Coffea arabica* L. y su impacto frente al cambio climático. **Disertação (Mestrado) – Universidade de Manizales**, p. 7, 2013.

ZOBEL, Richard W. & ROBERTS, Lorin W. Effects of low concentrations of ethylene on cell division and cytodifferentiation in lettuce pith explants. **Canadian Journal of Botany**, v. 56, n. 8, p. 987-990, 1978.