

ANÁLISE BIOQUÍMICA DE NITROGÊNIO EM *Coffea canephora* FRENTE A TOLERÂNCIA À SECA

Gabriella Silva de Aguiar, Danilo Rodrigues Amaral, Isabela Faria Corrêa, Taís Cristina Bastos Soares.

Universidade Federal do Espírito Santo/, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto Universitário, s/n, Guararema – 29500-000 – Alegre - ES, Brasil. Gabriella.aguiar23@gmail.com, danilorodriguesamaralipanema@hotmail.com, isabela.f.correa@edu.ufes.br, tais.soares@ufes.br.

Resumo

As mudanças climáticas intensificam períodos de déficit hídrico prolongado, comprometendo a produtividade do cafeeiro. Na seca, as plantas ativam mecanismos fisiológicos e metabólicos, como o ajuste osmótico. Este estudo investigou respostas bioquímicas de 14 genótipos de *Coffea canephora* em épocas contrastantes (chuvosa e seca). O experimento foi conduzido num delineamento em blocos casualizados, com quatro blocos e 20 parcelas de três plantas cada. Amostras foliares do terço médio foram coletadas para determinação do teor de nitrogênio, com análise por ANOVA fatorial (genótipo x época) seguida do teste de Dunnett no software R. Os genótipos que apresentaram maiores teores de nitrogênio na época chuvosa foram genótipos 10 (3,02% para 1,64%), 2 (3,39% para 2,30%) e 40 (3,16% para 1,87%). As testemunhas 120 e 109 apresentaram valores na seca, superiores aos genótipos nessa condição. Os resultados indicam que a limitação hídrica reduziu o teor de nitrogênio, revelando sensibilidade das progênies em relação aos parentais. Dessa forma, genótipos mais estáveis e responsivos às variações sazonais se destacam como promissores para o melhoramento genético.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Ajustes osmóticos. Fisiologia. Nutrientes

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas, Bioquímica.

Introdução

A cafeicultura é uma atividade de grande relevância econômica para o Espírito Santo, abrangendo 68 municípios e alcançando uma produção de 11,1 milhões de sacas em 2024, representando um aumento de 6,4% em relação a 2023 (CONAB, 2024, PEDEAG, 2024). Entretanto, a atividade tem enfrentado desafios crescentes em decorrência das mudanças climáticas. No ciclo de 2023, foram observados índices pluviométricos irregulares, associados aos efeitos indiretos do fenômeno El Niño, seguidos de chuvas escassas a partir de setembro, o que resultou em estresse hídrico em diversas lavouras, especialmente em novembro (CONAB, 2024).

Quando expostas a condições adversas, como a seca, as plantas de café ativam mecanismos de ajuste fisiológico e metabólico que possibilitam a manutenção da homeostase celular. Dentre esses mecanismos, destaca-se o ajuste osmótico, caracterizado pela acumulação de osmólitos, como carboidratos solúveis, aminoácidos livres, proteínas, glicina-betaína e prolina, os quais desempenham papel crucial na proteção celular contra os efeitos do déficit hídrico (OZTURK *et al.*, 2021).

O nitrogênio (N) assume papel central nesse contexto por ser o nutriente mais demandado pelo cafeeiro, principalmente durante a frutificação, quando é translocado das folhas para os frutos e influencia diretamente o crescimento vegetativo, a produção de fotoassimilados e o desenvolvimento reprodutivo (SALAMANCA-JIMENÉZ *et al.*, 2017). O nitrato (NO_3^-) é a principal forma de absorção, que precisa ser reduzido a amônio (NH_4^+) pelas enzimas nitrato redutase (NIA) e nitrito redutase (NRI), sendo posteriormente assimilado em aminoácidos pelo ciclo GS/GOGAT (TAIZ e ZEIGER, 2017). Contudo, esse processo depende diretamente da disponibilidade hídrica, já que a absorção de N ocorre via fluxo de água no solo; assim, déficits hídricos comprometem a assimilação e a distribuição de nutrientes, afetando a fotossíntese, o uso eficiente da radiação e a produtividade (ROCHA *et al.*, 2023).

Diante desse cenário, a análise das respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares de plantas submetidas à seca torna-se fundamental para compreender os mecanismos de tolerância ao estresse hídrico. Além de ampliar o conhecimento sobre as vias metabólicas envolvidas, tais estudos fornecem subsídios para estratégias que visam aumentar a resiliência do cafeeiro, seja pelo melhoramento

genético de genótipos mais tolerantes, seja pela adoção de práticas de manejo adaptadas às condições adversas. Nesse sentido, o presente estudo buscou investigar as respostas bioquímicas de 14 genótipos de *Coffea canephora* em épocas contrastantes (chuvosa e seca), a fim de aprofundar a compreensão sobre a tolerância à seca e contribuir para o desenvolvimento de sistemas produtivos e mais sustentáveis.

Metodologia

Mudas clonais de café Conilon, oriundas do estudo de Souza-Sobreira (2017), foram fornecidas pelo INCAPER. A partir dos clones 120 (parental tolerante) e 109 (parental suscetível), selecionados por apresentarem características de interesse para a cafeicultura, foram obtidos cruzamentos recíprocos (109×120 e 120×109). A partir desses cruzamentos, foram escolhidas progênies de cada população, previamente identificadas em pré-seleção massal com base no desempenho fenotípico, ainda em caracterização, totalizando doze progênies. Seis pré-selecionadas da população 120×109 (três tolerantes – 3T 7T, 6T e três susceptíveis – 4S e 10 e 2S); seis pré-selecionadas da população 109×120 (três tolerantes – 1T, 40T e 50T, e três susceptíveis – 6 44S, 59S). Com os parentais totalizou-se 14 genótipos estudados.

O experimento foi conduzido em área experimental de cultivo comercial (53.819 m²), utilizando delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, e 20 parcelas experimentais com três plantas por parcela num espaçamento de 3 m x 1 m, em duas épocas do ano: seca e chuvosa.

Plantas previamente identificadas foram selecionadas para a coleta nas duas épocas, na mesma planta. Amostras de folhas do 3^o/4^o par foram coletadas entre 8h e 9h nas épocas chuvosa e seca, liofilizadas a -48 °C e maceradas em MagNA lyser (La Roche LTDA). Em seguida, 0,1 g do material foi pesado em tubos digestores, pré-digerido com 1 mL de H₂SO₄ P.A. por aproximadamente 12 h e tratado com 1 mL de H₂O₂ 35%, sendo aquecido a 300 °C por 30 min. Após resfriamento a 150 °C, amostras de coloração amarela receberam nova adição de H₂O₂ e foram aquecidas a 200 °C por 15 min para clarificação. Por fim, adicionaram-se 25 mL de água destilada e as amostras foram homogeneizadas em vórtex.

A quantificação de nitrogênio (NH₄⁺) foi realizada por espectrofotometria (480 nm), utilizando curva padrão preparada com sulfato de amônio [(NH₄)₂SO₄] 0,025%. As concentrações da curva padrão para quantificação de NH₄ utilizadas foram de 0, 1, 2,4,6 e 8 ppm. Foram utilizados 100µL do extrato, 3,9 mL de água destilada, 500µL de tartarato de sódio 10% e 500µL de reagente de Nessler, em tubos de ensaio de 5mL, para o preparo da amostra e obtenção do extrato. Após 20 minutos de repouso, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 480 nm.

Os valores obtidos foram corrigidos por meio de equações para determinar a concentração de N nas amostras, expressa em porcentagem por grama de matéria seca.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) no software R Studio versão 4.1.0 (R CORE TEAM, 2021), a partir de blocos casualizados em um esquema fatorial com testemunhas onde o Fator A representa os genótipos e o Fator B as épocas (12 genótipos x 2 épocas) com quatro repetições. Os parentais na época seca foram na análise considerados testemunhas. Após obtenção da significância as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Foi realizada uma análise de cálculo de média e intervalo de confiança a partir dos dados obtidos.

Resultados

Através da ANOVA foi possível observar que o teor de nitrogênio encontrado para os genótipos estudados, apresentou diferença estatisticamente significativa apenas no Fator B, épocas de avaliação ($p = 0.0$) através da ANOVA (Tabela 1).

O fator A apresentou o valor $p > 0.05$, indicando que não há diferença significativa entre os níveis do fator A. Na interação A x B o valor $p > 0.05$, indicando que não houve interação significativa entre os fatores A e B. Isso significa que o efeito de um fator não depende do nível do outro fator.

O efeito dos blocos também não foi significativo ($p > 0,05$), demonstrando homogeneidade experimental entre repetições.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

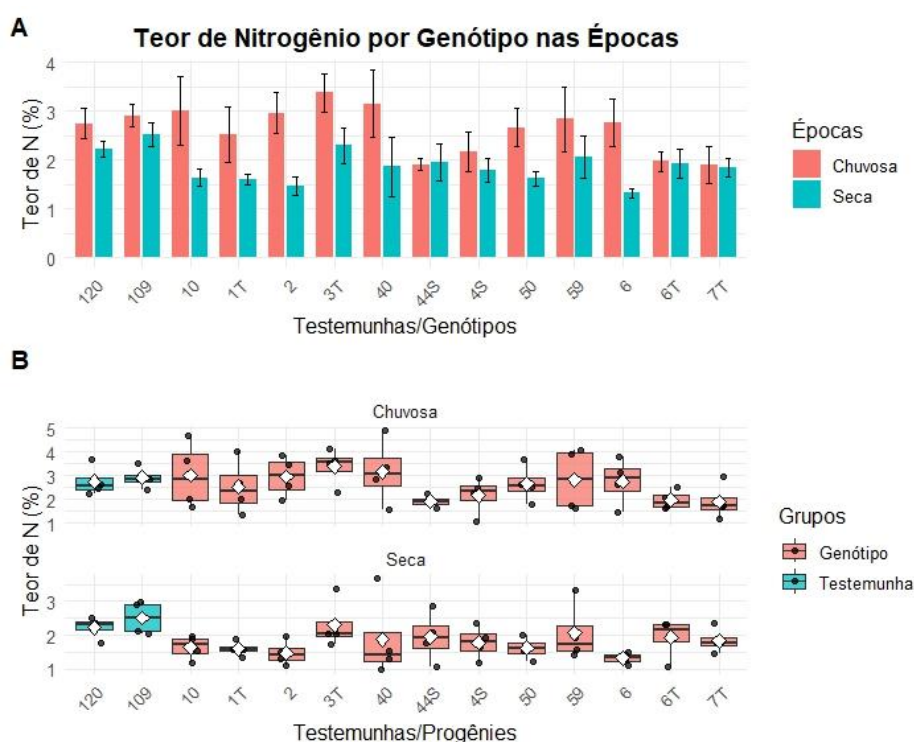
Tabela 1 - Quadro da ANOVA comparativo para o teor de nitrogênio avaliado nas progênes e testemunhas a partir de $p < 0.05$. Fator A = Genótipos, Fator B= épocas de avaliação. Testemunhas = 120 e 109.

Fv	GL	SQ	QM	Fc	p Valor
Fator A	11	7.41387	0.67399	1.12922	0.35135
Fator B	1	16.22967	16.22967	27.19165	0.00*
AxB	11	7.15711	0.65065	1.09011	0.38087
Testemunhas	1	0.15666	0.15666	0.26248	0.60993
Test_vs_fatorial	1	0.229636	0.22936	0.38428	0.5372
Bloco	3	3.65658	1.21886	2.04211	0.115118
Resíduo	75	44.76467	0.59686		
Total	103	79.60794			

Fonte: Autores

De acordo com a ANOVA, apenas o fator estação foi significativo ($p < 0,05$), indicando maiores teores de nitrogênio na época chuvosa em relação à seca, independentemente do genótipo avaliado. As comparações com as testemunhas não mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$). Esse resultado é evidenciado no gráfico de barras, onde se observa o aumento do teor médio de N na estação chuvosa em comparação à seca.

Figura 1 A-B - Distribuição do teor de nitrogênio (%N) nos genótipos e testemunhas por grupo (A). As caixas mostram a variação interquartil, os pontos a dispersão individual e os triângulos a média. O eixo X indica os genótipos/testemunhas e o eixo Y a porcentagem de N (B)



Fonte: Autores

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Os genótipos apresentaram, em geral, maiores valores médios de N na época chuvosa em comparação à seca. A média geral do teor de N foi de 2,64% na estação chuvosa e 1,87% na seca, diferença confirmada pela ANOVA ($p < 0,05$). Esse padrão foi evidente em vários genótipos, como 10 (3,02% na chuvosa e 1,64% na seca), 2 (3,39% e 2,30%) e 40 (3,16% e 1,87%) (Figura 1A). As testemunhas 120 e 109 apresentaram valores na seca de 2,23% e 2,51%, respectivamente, superiores a vários genótipos nessa condição, mas ainda inferiores à maioria das médias observadas na chuvosa, sugerindo que a limitação hídrica impactou mais intensamente as progênes em relação aos parentais.

A variabilidade entre os genótipos pode ser observada tanto pelo desvio padrão quanto pelos intervalos de confiança, indicando que alguns genótipos tiveram uma distribuição mais ampla dos valores de % de N, enquanto outros apresentaram menor variação (Figura 1B).

O gráfico evidencia a diferença entre as épocas, demonstrando a redução do % de N na época seca para a maioria dos genótipos. A separação entre testemunhas e genótipos permite uma análise comparativa mais clara, destacando a resposta diferencial dos materiais genéticos às condições ambientais.

Discussão

Observou-se redução significativa no teor foliar de nitrogênio durante a estação seca, evidenciada em genótipos como o 10 (de 3,02% para 1,64%) e o 2 (de 3,39% para 2,30%), demonstrando a forte dependência desse nutriente em relação à disponibilidade hídrica. Em condições de maior umidade, como no período chuvoso, a absorção e a assimilação de nitrogênio são favorecidas, resultando em maiores concentrações nas folhas. Em contraste, sob estresse hídrico, a atividade de enzimas-chave do metabolismo do nitrogênio como a nitrato redutase, a nitrito redutase e a glutamina sintetase tende a ser reduzida, comprometendo a incorporação de compostos nitrogenados nos tecidos foliares (SAHAY *et al.*, 2021; MARTINEZ *et al.*, 2015; MENG *et al.*, 2016).

A variabilidade observada entre os genótipos evidencia diferentes graus de estabilidade fisiológica frente à seca, indicando que a genética desempenha papel determinante na eficiência de absorção e uso do nitrogênio. Essa heterogeneidade é reforçada pelos resultados comparativos entre as progênes e os parentais, que revelam reduções diferenciadas nos teores foliares durante a estação seca.

Além disso, o déficit hídrico pode ocasionar acúmulo de nitrogênio nas raízes e restringir sua translocação para as folhas, reduzindo a disponibilidade desse nutriente para processos metabólicos aéreos essenciais, como a fotossíntese e a síntese de proteínas (GONZALEZ-DUGO *et al.*, 2012).

Dessa forma, a interação entre fatores genéticos e ambientais deve ser considerada no manejo nutricional do cafeeiro. O entendimento dessas relações é fundamental para a seleção de genótipos mais eficientes e resilientes, bem como para a adoção de estratégias de manejo que minimizem os impactos da seca sobre a produtividade da cultura.

Conclusão

O estudo evidenciou redução significativa do teor foliar de nitrogênio em *Coffea canephora* durante a estação seca, confirmando a influência do déficit hídrico sobre a absorção e assimilação desse nutriente. O fator B apresentou efeito significativo ($p < 0,05$), enquanto o fator A e a interação $A \times B$ não foram relevantes. A variabilidade entre genótipos destacou respostas diferenciais ao estresse, indicando potencial para seleção de materiais mais tolerantes e subsidiando estratégias de manejo nutricional e de melhoramento visando maior resiliência do café conilon às condições de seca.

Referências

CONAB. **Perspectivas para a Agropecuária** - Volume 12 - Safra 2024/2025. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2024.

GONZALEZ-DUGO, M. P.; PALACIOS, R.; RUIZ-SÁNCHEZ, M. C.; DELGADO, J. A.; FERERES, E. Regulation of nitrogen uptake and water use in plants under water stress. **Agricultural Water Management**, v. 104, p. 45-53, 2012.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

MARTINEZ, J. P.; GOMEZ, R.; FERNANDEZ, J. Effects of water deficit on nitrate reductase and glutamine synthetase activities in crop plants. **Plant Science**, v. 239, p. 102-110, 2015.

MENG, S.; ZHANG, C. X.; SU, L.; LI, Y. M.; ZHAO, Z. Nitrogen uptake and metabolism of *Populus simonii* in response to PEG-induced drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 123, p. 78–87, 2016

OZTURK, M. et al. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 1321-1335, 2021.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2021. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em 04 set 2025.

ROCHA, B. C. P. et al. Nitrogen metabolism in coffee plants subjected to water deficit and nitrate doses. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, e23210060, 2023.

SAHAY, R.; KUMAR, V.; SINGH, P. Impact of drought stress on nitrogen metabolism and antioxidant activities in plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 258, p. 153356, 2021.

SALAMANCA-JIMÉNEZ, A.; DOANE, T. A.; HORWATH, W. R. Coffee response to nitrogen and soil water content during the early growth stage. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 180, n. 5, p. 614–623, 2017

SECRETARIA DE AGRICULTURA, ABASTECIMENTO, AQUICULTURA E PESCA DO ESPÍRITO SANTO (SEAG). **Plano Estratégico de Desenvolvimento da Agricultura Capixaba (PEDEAG 4 – 2023/2032)**. Vitória: Governo do Estado do Espírito Santo, 2023.

SOUZA-SOBREIRA, F. B. **Respostas morfofisiológicas e herança materna para tolerância à seca em progênies de café conilon**. 96 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufes.br/items/4b6a09ae-ae21-400e-9c75-1e81379d7091>. Acesso em 10 set 2025.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), e realizado na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), campus de Alegre.