



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA
Rodovia Sul Goiana, km 01, Zona Rural – Rio Verde - GO
CEP: 75.901-970. Fones: (64) 3620-5643. Fax: (64) 3620-5640

CONSTRUÇÃO DE DROUGHTBOX PARA ANÁLISE DA SEGURANÇA TÉRMICA E POTENCIAL PRODUTIVO DENTRO DO GÊNERO *Coffea* spp.

Autor: Victor Hugo Confessor Almeida

Orientadora: Dra. Fernanda dos Santos Farnese

Co-orientadores:

Dr. Jober Condé Freitas Evangelista

Dr. Paulo Eduardo de Menezes Silva

RIO VERDE – GO

Fevereiro - 2025

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

Victor Hugo Confessor Almeida
Licenciado em Química

**CONSTRUÇÃO DE DROUGHTBOX PARA ANÁLISE DA SEGURANÇA
TÉRMICA E POTENCIAL PRODUTIVO DENTRO DO GÊNERO *Coffea* spp.**

Orientador(a): Dra. Fernanda dos Santos Farnese

Co-orientadores:

Dr. Jober Condé Freitas Evangelista

Dr. Paulo Eduardo de Menezes Silva

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em AGROQUÍMICA no programa de Pós-graduação em agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde.

DEDICO ESTE TRABALHO

primeiramente a Deus, minha mãe, minha esposa, família e amigos.

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento desta dissertação contou com a ajuda de diversas pessoas, dentre as quais agradeço:

Aos professores orientadores e coorientados, que durante 24 meses me acompanharam pontualmente, dando todo o auxílio necessário para a elaboração do projeto, em especial: a Dr. Fernanda dos Santos Farnese, ao Dr. Paulo Eduardo de Menezes Silva, ao Dr. Jober Condé Evangelista Freitas.

Aos professores do curso de PPGAq que através dos seus ensinamentos permitiram que eu pudesse hoje estar concluindo este trabalho, em especial: a Dr. Cassia Cristina Fernandes Alves.

A todos que participaram das pesquisas, pela colaboração e disposição no processo de obtenção de dados, especialmente: ao Dr. Roberto Gomes Vital pela ampla colaboração e planejamento entre as análises realizadas, ao Dr. Lucas Loram Lourenço pela colaboração com análises de Trocas Gasosas – Fotossíntese, ao Dr. Márcio Rosa, pela colaboração com análises de fluorescência, ao Dr. Jaliston Júlio Lopes Alves pela colaboração em análises químicas.

Agradeço especialmente: minha mãe: Maria Cícera Confessor, à minha esposa: Jaqueline Soares Lima, as quais me incentivaram a cada momento e não permitiram que eu desistisse.

Agradeço e dedico este trabalho ao meu falecido padrasto ao qual tenho como pai, e agradeço por todo amor, apoio, acolhimento e carinho recebido desde sempre...

Por fim, aos meus amigos, pela compreensão das ausências e pelo afastamento temporário.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema da Droughtbox. Os ramos no compartimento inferior estão ligados a extensores no compartimento superior, onde cada um está ligado a uma placa de aquisição Arduino Uno e a um nanocomputador Raspberry Pi. As folhas são deixadas desidratando dentro da caixa isolada, na qual a temperatura é controlada a através de resistências de aquecimento e a umidade relativa é controlada através da injeção de ar seco ou umidificado.....	15
Figura 2 - Diferentes materiais vegetais dentro gênero Coffea: C. bengalensis (A); C. kapakata (B); C. liberica; C (C). arábica var. Obatã IAC 1669-20 (D);C. arábica var. semperflorens (E); C.stenophylla col 10 (F); C. arábica var. typica (G); C. racemosa (H).....	17
Figura 3 - Cursos temporais das condições ambientais no interior da Droughtbox. (B) condições estáveis, (C) rampas de temperatura com umidade relativa estável e (D) rampas de temperatura e umidade relativa proporcionais.....	22
Figura 4 - Influência da temperatura na perda residual de água e determinação da temperatura de transição de fase (T_p) em materiais vegetais do gênero Coffea. As barras indicam o erro-padrão da média (n=4).....	23
Figura 5 - Influência da temperatura na perda residual de água e determinação da temperatura de transição de fase (T_p) em materiais vegetais do gênero Coffea. As barras indicam o erro-padrão da média (n=4).....	24
Figura 6 - Diferenças na temperatura de transição de fase (T_p) entre folhas de oito materiais vegetais do gênero Coffea. Cada barra representa os valores médios de cada espécie (n=4). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).....	25
Figura 7 - Condutância estomática de 30 °C a 50 °C (A-E) em oito clones de Coffea continuamente irrigados. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As barras indicam o erro-padrão da média (n=4).....	26
Figura 8 - A relação entre a temperatura da folha e do ar com o aumento da temperatura definida dentro da Droughtbox para oito materiais vegetais. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As barras indicam o erro-padrão da média (n=5).....	27
Figura 9 - Taxa assimilatória líquida de carbono (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E) e concentração interna de CO ₂ (Ci), eficiência de carboxilação (A/Ci) e Eficiência do uso da água (A/E) em oito clones de Coffea. Valores seguidos por mesmas letras não diferem significativamente entre si dentro de um mesmo grupo. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As barras indicam o erro-padrão da média (n=5).....	28
Figura 10 - Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) em oito clones de Coffea continuamente irrigados. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As barras indicam o erro-padrão da média (n=5).....	29
Figura 11 - Área de maior abertura estomática (α_{max}); Densidade estomática (D); Tamanho do estômato (S) e Condutividade Estomática Máxima Teórica (g_{wmax}) e fração de epiderme alocada para estômatos (f_{gc}). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as diferentes materiais vegetais ($P \leq 0,05$; Teste de Scott-Knott). As barras indicam o erro-padrão da média (n=5).....	30
Figura 12 - Densidade foliar (D_{leaf}) A; Massa foliar específica (LMA) B; Teor relativo de água (RWC) C; Conteúdo de massa seca foliar (LDMC) D e Suculência Foliar (E). Letras indicam diferenças significativas entre os diferentes materiais vegetais ($P \leq 0,05$; Teste de Scott-Knott). As barras indicam o erro-padrão da média (n=5).....	31

RESUMO

CONFESSOR, V. H. A. **CONSTRUÇÃO DE DROUGHTBOX PARA ANÁLISE DA SEGURANÇA TÉRMICA E POTENCIAL PRODUTIVO DENTRO DO GÊNERO *Coffea* spp.** 48 p. Defesa (Mestrado/Agroquímica) – IF Goiano, Rio Verde, Brasil. Orientador(a): Dra. Fernanda dos Santos Farnese.

Com o aquecimento global e a crescente imprevisibilidade dos padrões climáticos, os eventos extremos tornaram-se uma realidade inegável, impactando diretamente a sustentabilidade agrícola. Este estudo teve como objetivo investigar estratégias fisiológicas de oito diferentes materiais vegetais do gênero *Coffea* sob condições ambiente e em altas temperaturas, desenvolvendo e testando uma nova ferramenta, a Droughtbox. Este sistema inovador permitiu a fenotipagem da condutância mínima residual (g_{min}) e da temperatura de transição de fase (T_p) em materiais do gênero *Coffea*, com controle preciso de temperatura e umidade relativa. Avaliações adicionais de trocas gasosas, fluorescência e características anatômicas forneceram insights sobre adaptações morfológicas e fisiológicas. Os resultados destacaram variações significativas na tolerância térmica e na eficiência hídrica entre os genótipos estudados, destacando-se *Coffea liberica* devido a seu potencial para conservar água, mesmo em temperaturas constantes, manter a temperatura foliar e apresentar alta taxa fotossintética, com alto potencial produtivo. A pesquisa reforça o papel crítico de ferramentas como a Droughtbox na previsão dos impactos das mudanças climáticas na cafeicultura.

Palavras-chave: Transição de fase, respostas ao estresse, mudanças climáticas.

ABSTRACT

CONFESSOR, V. H. A. **DROUGHTBOX construction for thermal security analysis and productive potential within the genus *Coffea* spp.** 48 p. Dissertation (Master's Degree/Agrochemistry) – IF Goiano, Rio Verde, Brazil. Advisor: Dr. Fernanda dos Santos Farnese.

With global warming and the increasing unpredictability of weather patterns, extreme events have become an undeniable reality, directly impacting agricultural sustainability. This study aimed to investigate the physiological strategies of different *Coffea* species under water and thermal stress conditions, developing and testing a new tool, the Droughtbox. This innovative system allowed phenotyping of minimum residual conductance (g_{min}) and phase transition temperature (T_p) in *Coffea* species, with precise control over temperature and relative humidity. Additional assessments of gas exchanges, fluorescence, and anatomical characteristics provided insights into morphological and physiological adaptations. The results highlighted significant variations in thermal tolerance and water use efficiency among the studied genotypes, with *Coffea liberica* standing out due to its potential to conserve water, even at constant temperatures, maintain leaf temperature and present a high photosynthetic rate, with high production potential. The research emphasizes the critical role of tools like the Droughtbox in predicting the impacts of climate change on coffee cultivation.

Keywords: Phase transition, stress response, climate change.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	VI
RESUMO.....	VII
ABSTRACT	VIII
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
2.1. PLANEJAMENTO, CONSTRUÇÃO E TESTES DA DROUGHTBOX	14
2.2. INTERFACE	16
2.3. CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS VEGETAIS DENTRO DO GÊNERO <i>COFFEA</i>	16
2.4. VALIDAÇÃO DA OBTENÇÃO DE G_{MIN} UTILIZANDO A DROUGHTBOX.....	18
2.5. VALIDAÇÃO DA OBTENÇÃO DE T_P UTILIZANDO A DROUGHTBOX.....	19
2.6. TEMPERATURA DO AR VS TEMPERATURA DA FOLHA	19
2.7. TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA	20
2.8. IMPRESSÃO EPIDÉRMICA	20
2.9. CARACTERÍSTICAS FOLIARES	20
2.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
3. RESULTADOS.....	21
3.1. DROUGHTBOX.....	21
3.1.1. <i>Desempenho ao longo do tempo (Droughtbox)</i>	21
3.2. CARACTERIZAÇÃO DO CAFÉ	23
3.2.1. <i>Temperatura de transição de fase</i>	23
3.2.2. <i>Dinâmica da variação da condutância residual</i>	25
3.2.3. <i>Manutenção da temperatura foliar ao longo de um gradiente de temperatura do ar</i>	27
3.2.4. <i>Trocas gasosas e fluorescência</i>	28
3.2.5. <i>Caracterização estomática</i>	29
3.2.6. <i>Características foliares</i>	30
3. DISCUSSÃO.....	32
3.1. EXPLORANDO A FISIOLOGIA VEGETAL COM A DROUGHTBOX: IMPLICAÇÕES PARA A SUSTENTABILIDADE DA CAFEICULTURA 32	
3.2. FATORES DETERMINANTES DA DINÂMICA DA CONDUTÂNCIA MÍNIMA DAS FOLHAS (G_{MIN}) EM DIFERENTES TEMPERATURAS DO AR	32
3.3. TEMPERATURA FOLIAR VS TEMPERATURA DO AR E SUA DINÂMICA FISIOLÓGICA	35
3.4. DIVERGÊNCIAS FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS EM <i>COFFEA</i> : IMPLICAÇÕES PARA ADAPTAÇÃO E SUSTENTABILIDADE AGRÍCOLA	37
4. CONCLUSÕES	39
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

1. A - Taxa de assimilação líquida de carbono.
2. A/C_i - Eficiência intrínseca de carboxilação.
3. A/E - Eficiência do uso da água.
4. BSTFA - N, O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida.
5. C_i - Concentração interna de CO_2 .
6. D_{leaf} - Densidade foliar.
7. E_p - Energia de Ativação.
8. E - Taxa Transpiratória.
9. F_0 - Fluorescência inicial
10. F_m - Fluorescência máxima
11. F_m' - Fluorescência máxima sob luz.
12. $g_{cuticle}$ - Condutância Cuticular.
13. g_{min} - Condutância Residual Mínima.
14. g_s - Condutância Estomática.
15. $LDMC$ - Conteúdo de massa seca foliar.
16. LMA - Massa foliar específica .
17. RWC - Teor Relativo de Água.
18. T - Temperatura.
19. T_p - Temperatura de Transição de Fase.
20. UR - Umidade Relativa.
21. VPD - Déficit de Pressão de Vapor.
22. Φ_{PSII} - Eficiência quântica máxima do fotossistema II.
23. α_{max} - área de maior abertura estomática.

1. INTRODUÇÃO

Com o aumento das temperaturas globais e os padrões climáticos cada vez mais imprevisíveis, os eventos climáticos extremos têm se tornado uma realidade incontestável (Pascal e Moutou, 1999). O fenômeno do aquecimento global está alterando drasticamente os ecossistemas em todo o mundo. Diante dessas mudanças, a flora é submetida a uma pressão evolutiva sem precedentes, tendo que adaptar-se rapidamente ou enfrentar sérias consequências (Scafetta, 2024). Com efeito, as oscilações extremas de calor podem comprometer diversos mecanismos fisiológicos essenciais para o funcionamento adequado da célula vegetal (Hasanuzzaman et al., 2013; Chaudhry e Sidhu, 2021).

No Brasil, os dados climáticos das últimas décadas demonstram um aquecimento constante e acima da média global. Com efeito, nos últimos 65 anos o número de dias com ondas de calor acima do esperado aumentou em 642% no país (IPCC, 2024). Esse aumento na temperatura tem ocorrido em todas as regiões, incluindo Goiás e o Distrito Federal, nos quais uma análise das tendências climáticas entre 1980 e 2020 identificou eventos extremos de temperatura e precipitação, sugerindo mudanças climáticas significativas na região. Além disso, projeções climáticas futuras apontam para aumentos nas temperaturas do ar e possíveis alterações nos regimes de precipitação nas regiões hidrográficas brasileiras, o que pode impactar diretamente o estado de Goiás. Essas mudanças podem intensificar eventos climáticos extremos, como secas e ondas de calor, afetando a disponibilidade hídrica, a agricultura e os ecossistemas locais (Silveira et al., 2020; Silva e Nascimento, 2024).

A temperatura elevada, comumente associada a luminosidade intensa, tem influência direta sobre a sobrevivência das plantas e exercem um impacto fisiológico significativo em seu funcionamento geral (Chand et al., 2022). Sob condições de calor extremo e alta luminosidade, as plantas podem enfrentar estresse oxidativo, danificando suas estruturas celulares e comprometendo processos metabólicos essenciais. Além disso, o excesso de luz pode levar à fotoinibição, um fenômeno no qual a atividade fotossintética é inibida devido à saturação dos pigmentos fotossintéticos (Buchanan et al., 2015; Taiz et al., 2022). Essas condições adversas podem resultar em uma redução na taxa de crescimento, na menor produção de biomassa e na diminuição da qualidade nutricional das plantas, afetando assim toda a cadeia alimentar e a biodiversidade dos ecossistemas (Ferrante e Mariani, 2018).

É comum que altas temperaturas ocorram associadas à redução de água no solo. Em escala local, a temperatura tem um papel preponderante no balanço hidrológico, sendo que temperaturas mais altas levam a um aumento na evapotranspiração de diminuem a umidade do

solo, expondo plantas à seca mesmo quando não há reduções na precipitação (Silva; Nascimento, 2024). Essa interação cria um feedback, onde o aumento da evapotranspiração devido ao calor intensifica a aridez, e a aridez intensifica os efeitos das altas temperaturas nas plantas (Zandalinas et al., 2021). De fato, um dos principais mecanismos pelos quais as plantas mantêm sua temperatura é através da transpiração, processo no qual a água é perdida na forma de vapor através dos estômatos. (Hasanuzzaman et al., 2013; Gleason et al., 2014). Em condições de seca, as plantas rapidamente fecham os estômatos, diminuindo assim a desidratação vegetal. Quando esse estresse ocorre associado a altas temperaturas, no entanto, a resposta é variável e, embora alguns materiais vegetais mantenham os estômatos fechados, outras abrem os estômatos a fim de evitar o superaquecimento dos tecidos. Esse processo, no entanto, pode acelerar a morte das plantas na seca, já que a água do solo se esgota rapidamente e as plantas passam a depender exclusivamente dos seus reservatórios internos de água (Marchin et al., 2022).

Além dos estômatos, as plantas também podem perder água por outras duas vias: as cutículas e as cascas. Mesmo após o fechamento estomático, as plantas continuam perdendo água pelos estômatos parcialmente fechados e pela cutícula, processo conhecido como transpiração residual ou transpiração mínima (g_{min}) (Machado et al., 2021). A cutícula é uma camada cerosa que recobre a epiderme das folhas e dos caules, atuando como uma barreira física que reduz a evaporação da água presente nos tecidos vegetais (Chand et al., 2020; Chaudhry e Sidhu, 2021). Por fim, as cascas das plantas também podem ser uma fonte de perda de água, especialmente em espécies lenhosas, onde a água evapora por fissuras ou lenticelas, aumentando a demanda hídrica em períodos de seca (Wolfe, 2020; Lintunen et al., 2021; Loram-Lourenço, 2022). Estudos recentes têm indicado um papel central das perdas residuais de água pela folha e pelo caule na sobrevivência de plantas em condição de seca, uma vez que diminuem substancialmente o tempo para a falha hidráulica letal (Machado et al., 2021; Loram-Lourenço et al., 2022).

Um aspecto que torna a dinâmica de perda de água em condições de déficit hídrico e altas temperaturas ainda mais complexa refere-se às alterações desencadeadas na estrutura da cutícula (Billon et al., 2020; Chaudhry e Sidhu., 2021). Com efeito, a partir de determinadas temperaturas, podem ocorrer alterações na orientação molecular dos lipídeos e da matriz polimérica que constitui a cutícula, levando à formação buracos hidrofílicos que permitem maior difusão da água (Eckl e Gruler, 1980). Dentre as alterações causadas pela temperatura na cutícula pode-se citar o amolecimento ou mesmo a liquefação parcial das ceras, a alteração da estrutura da cutina e a expansão térmica da cutícula, tornando-a mais porosa e menos eficiente

em reter água (Le et al., 2011; Menezes-Silva, 2019; Bueno et al., 2019). O limiar de temperatura a partir do qual a integridade dos polímeros da cutícula pode ser afetada é chamado de temperatura de transição (T_p) e pode variar consideravelmente de acordo com a espécie (Chand et al., 2022). Quando a temperatura de transição é ultrapassada, a perda de água aumenta drasticamente devido à formação dos buracos hidrofílicos e à perda de integridade estrutural da cutícula, com consequentes aumentos em g_{min} , agravando os efeitos do estresse hídrico (Lichtenthaler, 1998; Menezes-Silva, 2019; Zandalinas et al., 2021). Portanto, a temperatura de transição é um ponto crítico para a cutícula das plantas, e ultrapassá-la pode ter consequências graves para a sobrevivência vegetal (Chand et al., 2020; Wolfe, 2020).

Os métodos convencionais de determinação de T_p , como a medição da perda de água de folhas desidratadas em bancada e a utilização de incubadoras para controlar a umidade relativa, enfrentam desafios significativos em relação ao controle rigoroso das condições ambientais, como temperatura e umidade, o que pode comprometer a acurácia das medições. Além disso, essas medidas são laboriosas e demandam um tempo consideravelmente longo, o que limita a sua aplicabilidade a um grande número de espécies (Billon et al., 2020). Uma alternativa inovadora é a Droughtbox, uma ferramenta desenvolvida para superar essas limitações, permitindo medições mais precisas e controladas da condutância residual do ramo e sua sensibilidade à temperatura durante períodos de seca (Billon et al., 2020).

Uma importante cultura que pode ter seu crescimento, desenvolvimento e produtividade afetados pelas altas temperaturas é o café. Dentre as mais de 90 espécies do gênero *Coffea*, apenas duas, *C. arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta), são economicamente relevantes, sendo que *C. arábica* responde sozinha por aproximadamente 70% da produção mundial de grãos de café (Bunn et al., 2015). Tanto *C. arabica* quanto *C. canephora*, no entanto, foram descritas como sendo sensíveis a altas temperaturas (Martins et al., 2016; Kath et al., 2020), de forma que estudos de modelagem climática preveem a perda de até 30% das áreas atualmente adequadas para o cultivo do café devido ao aquecimento global (Bunn et al., 2015). Nesse contexto, explorar a variabilidade genética do café, incluindo espécies silvestres, variedades e cultivares que não são exploradas comercialmente, ganha relevância crescente por fornecer diversidade genética, a qual pode ser crucial para a sobrevivência e adaptação da cafeicultura em um futuro próximo. Algumas dessas espécies possuem, inclusive, sabor comparável aos cafés de mais alta qualidade atualmente comercializados (Davis et al., 2021). Por fim, investigar a tolerância térmica em materiais não comerciais também é central para a conservação da biodiversidade. Muitas dessas espécies estão ameaçadas pela perda de habitat e pelas mudanças climáticas e compreender como elas

respondem a altas temperaturas pode ajudar na formulação e aplicação de estratégias para sua preservação, garantindo que esse reservatório genético continue disponível para futuras gerações.

O presente estudo buscou construir e testar, no Laboratório de Estudos Aplicados em Fisiologia Vegetal (Leafv), uma Droughtbox capaz de otimizar as leituras de T_p . Em seguida, a ferramenta foi utilizada para analisar oito materiais vegetais de café, cada uma com características e origens distintas que contribuem para a diversidade e riqueza genética do gênero *Coffea*, visando prever o impacto das altas temperaturas sobre este gênero. Os resultados obtidos permitiram observar variabilidade na tolerância às altas temperaturas dentro do gênero *Coffea*, além de comprovar a efetividade da Droughtbox, tornando o Leafv o primeiro laboratório brasileiro a contar com essa ferramenta, capaz de auxiliar sobremaneira nos estudos de mudanças climáticas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Planejamento, construção e testes da Droughtbox

A Droughtbox é constituída por uma caixa cúbica de 70 cm de altura x 50 cm de largura x 90 cm de comprimento, totalizando $3,15 \cdot 10^5 \text{ cm}^3$ feita de placas de poliestireno de 40 mm de espessura, com uma porta frontal e dois compartimentos (**Figura 1**). No compartimento superior (comp. A), oito células de carga de capacidade máxima (cmx) de 100 g TAL221 (SparkFun Electronics, USA) cada uma ligada via serial a sua respectiva placa arduino UNO AG, Itália (bloco I e II). No compartimento inferior principal (comp. B) são colocadas hastes de cobre para as medições dos g_{\min} , que são fixadas às células de carga através de orifícios na placa do teto do compartimento.

Um sensor de temperatura e umidade relativa do ar Sensor de Umidade e Temperatura (DHT22 AM2302, Aosong Electronics Co., Ltd., China) está suspenso no compartimento do ramo para monitorizar as alterações destas duas variáveis no interior do compartimento. Um arduino fica responsável pelo controle climático, controlando as resistências de aquecimento (RIC 120x120, Nobre, Brasil) um dissipador de calor é também colocado neste compartimento para permitir o aumento da temperatura até um máximo de 50 °C. A umidade relativa no compartimento B é regulada através da injeção diferencial de ar seco ou saturado de água com duas válvulas controladas eletronicamente pelo mesmo Arduino.

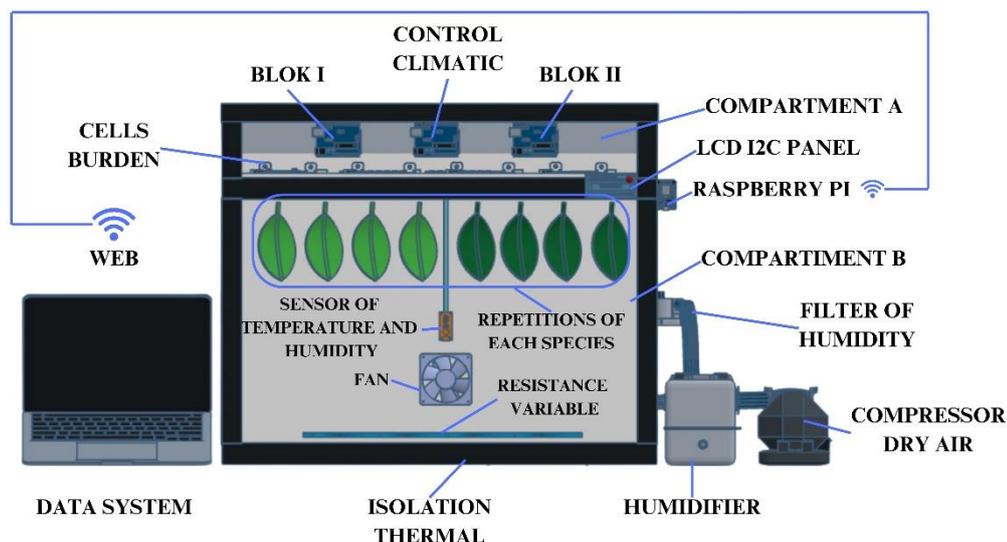


Figura 1 - Esquema da Droughtbox. Os ramos no compartimento inferior estão ligados a extensores no compartimento superior, onde cada um está ligado a uma placa de aquisição Arduino Uno e a um nanocomputador Raspberry Pi. As folhas são deixadas desidratando dentro da caixa isolada, na qual a temperatura é controlada a através de resistências de aquecimento e a umidade relativa é controlada através da injeção de ar seco ou umidificado.

Um pequeno ventilador, instalado no compartimento B, movimenta o ar para minimizar as variações espaciais na temperatura (T) e na umidade relativa (UR). A Droughtbox é controlada por um nanocomputador Raspberry-Pi 4 (Raspberry Pi Foundation, Reino Unido), que permite programar e definir as temperaturas-alvo e as condições de umidade relativa no compartimento B. Dois códigos de programa registram a massa dos ramos e as condições de temperatura e umidade relativa em intervalos de tempo especificados, tanto em condições climáticas fixas quanto variáveis. no desempenho da Droughtbox na regulação de temperatura e umidade.

O sistema possui capacidade de simular diversas condições ambientais, com controle preciso de temperatura e umidade relativa. Torna-se possível a configuração de diferentes cenários onde possa apresentar condições constantes e rampas de temperatura e umidade. A configuração de umidade proporcional à temperatura é a mais comum por exigir menos tempo de estabilização.

2.2. Interface

O experimento foi desenvolvido para inovar a interação de resposta entre as células de carga e a exposição dos dados em tempo real. O código utilizado permite a coleta e simulação de dados em tempo real de várias portas USB, atualizando gráficos interativos com dados de peso ao longo do tempo e aplicando regressão linear para análise dos dados coletados. As portas USB disponíveis são selecionadas e a coleta de dados é iniciada, com dados sendo registrados, tabelas e gráficos sendo atualizados em intervalos regulares, e a opção de download dos dados coletados ao final da coleta. A comunicação de interface é realizada por meio de uma aplicação web construída com *Streamlit*, que permite a integração dos dados coletados com a nuvem, facilitando o acesso e a análise remota.

2.3. Caracterização de materiais vegetais dentro do gênero *Coffea*

Mudas de oito materiais vegetais do gênero *Coffea* (**Figura 2; Tabela 1**) (*C. bengalensis* (A); *C. kapakata* (B); *C. liberica*; C (C). *arábica var. Obatã* IAC 1669-20 (D); *C. arábica var. semperflorens* (E); *C. stenophylla* col 10 (F); *C. arábica var. typica* (G); *C. racemosa* (H)) foram gentilmente cedidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR). A origem de cada um dos materiais vegetais utilizados está descrita na Tabela 1. Para fins de simplificação, todos os materiais utilizados nesse estudo serão denominados simplesmente “materiais vegetais”, independentemente de serem espécies silvestres, variedades ou cultivares. As plantas foram mantidas em Viveiro Florestal no Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, com localização geográfica 17° 80'24.33" de latitude sul e 50° 90'29.45" de longitude oeste e 748 m de altitude. As plantas foram irrigadas diariamente por aspersão e fertilizadas mensalmente com adubação organomineral NPK conforme recomendação técnica. Na época das análises, os materiais vegetais tinham aproximadamente 2 anos e 6 meses de cultivo. As análises foram realizadas no Laboratório de Estudos Aplicados em Fisiologia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde.

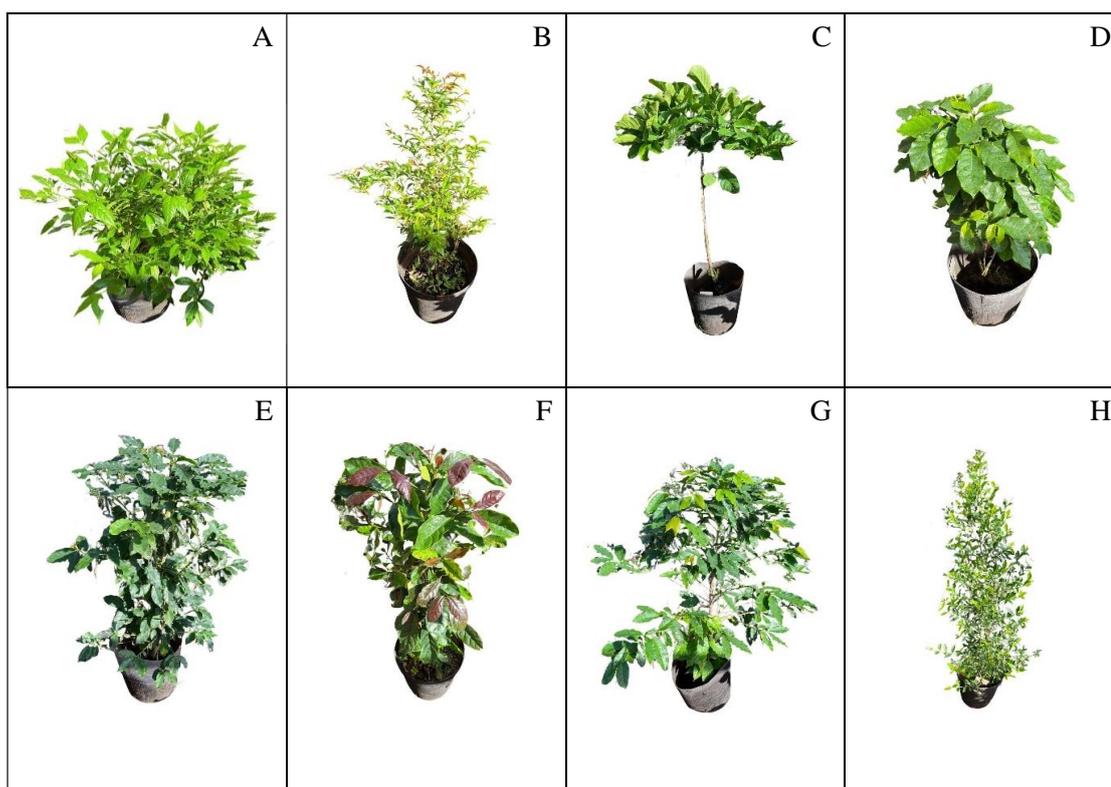


Figura 2 - Diferentes materiais vegetais dentro gênero *Coffea*: *C. bengalensis* (A); *C. kapakata* (B); *C. liberica*; C (C). *arábica* var. *Obatã* IAC 1669-20 (D); *C. arábica* var. *semperflorens* (E); *C.stenophylla* col 10 (F); *C. arábica* var. *typica* (G); *C. racemosa* (H).

Tabela 1- Materiais vegetais empregados no estudo, bem como sua origem. cv:cultivar; var: variedade.

Material Vegetal	Origem
<i>C. arábica</i> var. <i>obatã</i> IAC 1669-20	cv: cruzamento Villa Sarchi (var. <i>C. arabica</i>) e Híbrido de Timor (híbrido natural entre <i>C. arabica</i> e <i>C. canephora</i> (Robusta))
<i>C. arábica</i> var. <i>typica</i>	var <i>C. arábica</i>
<i>C. bengalensis</i>	Espécie silvestre
<i>C. kapakata</i>	Espécie silvestre
<i>C. libérica</i>	Espécie silvestre
<i>C. racemosa</i>	Espécie silvestre
<i>C. stenophylla</i> col 10	var espécie <i>Coffea stenophylla</i>
<i>C. semperflorens</i>	Variedade de <i>C. arabica</i>

Fonte: elaborada pelo próprio autor.

2.4. Validação da obtenção de g_{\min} utilizando a Droughtbox

Para validação da Droughtbox, a transpiração residual da folha (g_{\min}) foi determinada gravimetricamente a partir da perda de peso consecutiva de folhas dessecantes. Folhas de cada um dos materiais vegetais foram coletadas, transportadas para o laboratório no escuro e com atmosfera saturada com água e, a seguir, foram mantidas em uma placa de hidratação em ambiente escuro *overnight*, para garantir a saturação de água dos tecidos das folhas e o completo fechamento estomático. Em seguida, as folhas foram fotografadas e medidas para obtenção da área foliar. Foi utilizada cera de parafina para fechar a região do pecíolo. Para materiais vegetais de área foliar visivelmente menores foram coletados ramos por necessidade mínima de peso significativo na câmara climática. As folhas foram então suspensas na Droughtbox para determinar os valores de g_{\min} em condições fixas, com a temperatura (T) e a umidade relativa (UR) fixadas. O peso (p) de cada ramo foi registrado em intervalos de 5 minutos. Assumimos que as alterações no peso representaram moléculas de água (n_p , mmol) que saíram dos ramos por transpiração, o que permitiu o cálculo de E ($\text{mmol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) conforme a Equação (1).

$$E = - \frac{\text{slope}(n_p; t)}{LA + BA} \quad (1)$$

Sendo t o tempo em segundos, LA a área foliar dos dois lados (m^2), derivada da massa seca da folha de cada ramo medida e das relações empíricas entre a massa seca da folha e a área fresca da folha (ou seja, SLA), e BA a área de superfície (m^2) do caule, determinada a partir das medições do comprimento do caule e do diâmetro basal, assumindo a forma de um cone. Finalmente, o g_{\min} é calculado a partir da porção linear da curva de perda de água, ou seja, após o fechamento dos estômatos, de acordo com a Equação (2):

$$g_{\min} = \frac{E}{VPD} \cdot 93.01 \quad (2)$$

Com E representando a transpiração em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, o VPD do ar em kPa, e 93,01 a pressão atmosférica na Droughtbox em kPa. Para calcular o g_{\min} , utilizou-se a força motriz derivada, ou seja, o VPD, das medições da temperatura foliar registradas para cada espécie (mais detalhes abaixo).

2.5. Validação da obtenção de T_p utilizando a Droughtbox

O objetivo desta análise foi determinar a temperatura de transição de fase (T_p) através da medição do g_{min} em folhas expostas a diferentes temperaturas. A coleta e hidratação das folhas foi realizada de acordo com o descrito no item 2.4. Para todos os materiais vegetais, as folhas e os ramos foram expostos a uma combinação de aumento da temperatura do ar (30, 35, 40, 45 e 50°C), prezando por manter a redução da umidade relativa (UR) fixada máxima em 60% para manter a concentração de água em 10,6 g/kg, a diminuição de UR com as temperaturas seguiu a média de respectivamente 35, 32, 27, 22 e 18% para valores supracitados de temperatura.

A duração (horas) da medição em cada temperatura variou da seguinte forma: 2,5h para intervalos entre 30 e 40 °C e 1,5h para a temperaturas de 45 a 50 °C, respectivamente. Essas sequências de tempo garantem que os estômatos estejam fechados, que os valores g_{min} se mantenham estáveis no final de cada etapa de temperatura, e que os ramos não fiquem sem água quando expostos às temperaturas mais elevadas. Em cada etapa de temperatura, o g_{min} foi calculado utilizando a força motriz derivada das medições da temperatura das folhas. A dependência do g_{min} em relação à temperatura foi determinada utilizando um gráfico de Arrhenius, que é o logaritmo natural do g_{min} contra o inverso da temperatura em Kelvin.

2.6. Temperatura do ar vs temperatura da folha

Foram examinadas possíveis diferenças entre a temperatura do ar e a temperatura das folhas para cada um dos oito materiais vegetais avaliados neste estudo. Assim, separadamente, cinco repetições por espécie foram amostradas e instalados dentro da Droughtbox, como descrito acima. Para a avaliação, foi utilizado um termômetro infravermelho profissional sem contato, modelo WT326D (Wintact, China). O dispositivo foi calibrado previamente, e a medição foi realizada diretamente na superfície das folhas (adaxial e abaxial), a uma distância de 15-30 cm. Cada leitura foi repetida em três pontos distintos da folha, gerando um valor médio representativo. Os ramos foram expostos às mesmas condições de temperatura e umidade relativa durante o mesmo período de tempo utilizado para medir a temperatura foliar (T_p), variando de 30 a 50°C e de 40 a 18% de umidade relativa (UR), ao longo de 2,5 horas, para os diferentes materiais vegetais de *Coffea*. A temperatura do ar e da folha foram registradas a cada 5 minutos.

2.7. Trocas gasosas e fluorescência

A taxa de assimilação líquida de carbono (A), a condutância estomática (g_s), a concentração interna de CO_2 (C_i) e a taxa transpiratória (E) foram determinadas em um sistema aberto, sob luz saturante de $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e pressão parcial de CO_2 de 421 Pa. Essas medições foram realizadas usando um analisador de gases de infravermelho (LI-6400, Li-Cor Inc., Nebraska, EUA), equipado com uma fonte de luz azul/vermelho (modelo LI-6400-02B, LI-COR).

Os dados de Fluorescência foram obtidos com o uso de fluorômetro de pulso modulado *FluorPen* FP110 (Photon Systems Instruments (PSI). Inicialmente, as folhas avaliadas foram submetidas ao escuro durante um período mínimo de 30 minutos. Assim, os parâmetros F_o (fluorescência inicial), F_m (fluorescência máxima) e F_m' (fluorescência máxima sob luz), utilizando esses valores para calcular a eficiência quântica máxima do PSII (Φ_{PSII}) e outros índices de eficiência fotossintética.

2.8. Impressão epidérmica

A análise da epiderme foliar foi realizada por meio de impressão epidérmica utilizando adesivo instantâneo à base de cianoacrilato aplicado em lâminas de microscopia. As amostras foram obtidas exclusivamente da face abaxial das folhas, uma vez que os materiais vegetais estudadas de *Coffea* apresentam estômatos restritos a esta região. Para cada impressão, foi exercida uma pressão suficientemente firme entre a folha e a lâmina de microscopia por um período mínimo de 1 minuto. Foram coletadas cinco repetições para cada espécie avaliada, garantindo a representatividade das amostras.

As lâminas contendo as impressões epidérmicas foram analisadas em um microscópio biológico trinocular modelo Bio3-SSI (Bel Equipments, Itália). As imagens foram capturadas e as medições realizadas utilizando o software PRECiV, com a finalidade de mensurar os seguintes parâmetros: área estomática máxima (α_{max}), densidade estomática (D), área estomática total (S) e condutância estomática máxima (g_{wmax}).

2.9. Características foliares

Folhas completamente expandidas e expostas ao sol foram coletadas em todas as repetições. As folhas foram transportadas para o Laboratório de Estudos Aplicados em Fisiologia Vegetal no escuro, em ambiente com a umidade do ar saturada com água. No laboratório, uma pequena porção do pecíolo foi cortada embaixo da água e a folha foi

imediatamente colocada na placa de hidratação, onde permaneceu *overnight*. Ao fim do período de hidratação, o pecíolo foi removido e a folha imediatamente pesada para determinação da massa túrgida, com o auxílio de uma balança de precisão. Cada folha foi fotografada para determinação da área foliar. A espessura foliar (LT) foi medida em cinco pontos ao longo do limbo, com o auxílio de um paquímetro e evitando-se as nervuras. A seguir, as folhas foram mantidas em estufa, a 72 °C, até obtenção da massa seca constante. Esses dados foram utilizados para o cálculo da suculência foliar (*LS*) (equação 3), da massa foliar específica (*LMA*) (equação 4) e do conteúdo de massa seca foliar (*LDMC*) (equação 5) e densidade foliar (D_{leaf}) (equação 6).

$$LS(g\ m^2) = \frac{\text{massa túrgida (g)} - \text{massa seca (g)}}{\text{área foliar (m}^2\text{)}} \quad (3)$$

$$LMA(g\ m^{-2}) = \frac{\text{massa seca foliar (g)}}{\text{área foliar (m}^2\text{)}} \quad (4)$$

$$LDMC\ (g\ g^{-1}) = \frac{\text{massa seca foliar (g)}}{\text{massa túrgida foliar (g)}} \quad (5)$$

$$D_{leaf}\ (g\ cm^{-3}) = \frac{LMA\ (g\ cm^{-2})}{LT\ (cm)} \quad (6)$$

O teor relativo de água (*RWC*) foi calculado com base nas massas fresca e seca (equação 7).

$$RWC = \frac{\text{peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{peso fresco}} \times 100 \quad (7)$$

2.10. Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada usando o teste Shapiro-Wilk, sendo os dados submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias calculadas pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

3.1. DROUGHTBOX

3.1.1. Desempenho ao longo do tempo (Droughtbox)

A Droughtbox construída em laboratório foi capaz de controlar e estabilizar as variáveis de temperatura, umidade relativa (*UR*) e déficit de pressão de vapor (*VPD*) de maneira precisa

ao longo de uma análise total de 24 horas (**Figura 3**). A Droughtbox mostrou-se eficaz em manter temperatura e umidade estáveis, essenciais para medições precisas de condutância residual (g_{res}) e temperatura de transição de fase (T_p). Com um tempo de avaliação de 24 horas e controle estável por pelo menos 4 horas, ela assegurou um período de análise mínimo de 2 horas e 30 minutos. Esses testes comprovam sua eficiência em simular condições climáticas variadas, permitindo a coleta de dados detalhados. A Droughtbox supera métodos tradicionais, oferecendo maior precisão e eficiência por meio de suas funções automatizadas e programáveis em estudos de fisiologia vegetal.

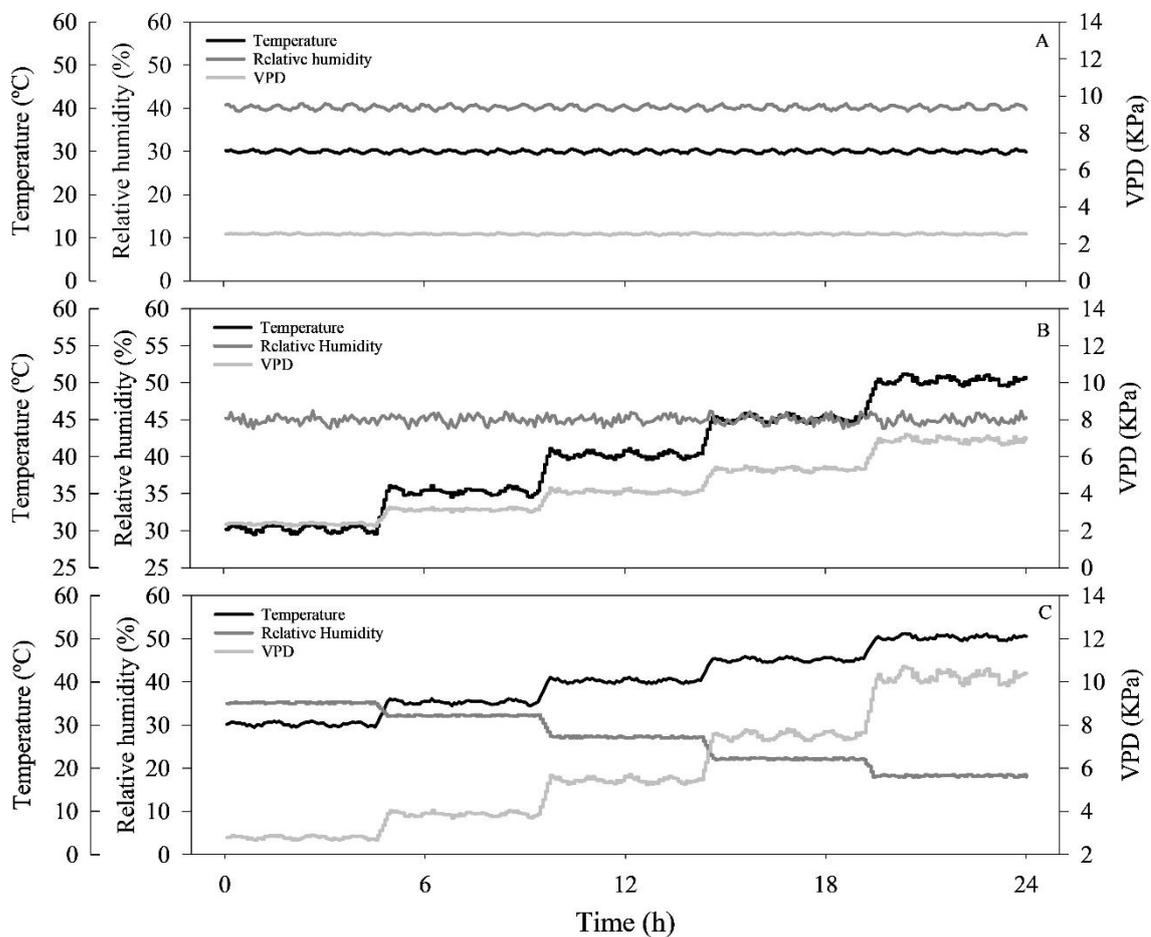


Figura 3 - Cursos temporais das condições ambientais no interior da Droughtbox. (B) condições estáveis, (C) rampas de temperatura com umidade relativa estável e (D) rampas de temperatura e umidade relativa proporcionais.

3.2. CARACTERIZAÇÃO DO CAFÉ

3.2.1. Temperatura de transição de fase

A temperatura de transição de fase (T_p) variou consideravelmente entre os materiais vegetais analisadas, ficando sempre acima de 40 °C (**Figura 4, Figura 5**) Com efeito, os valores de T_p variaram entre 40,2°C para *C. stenophylla* e 45,1°C para *C. kapakata*. Os maiores valores de T_p foram observados em *C. racemosa*, *C. typica*, *C. kapakata* e *C. obata*. Os demais materiais vegetais apresentaram os menores valores de T_p e não diferiram entre si.

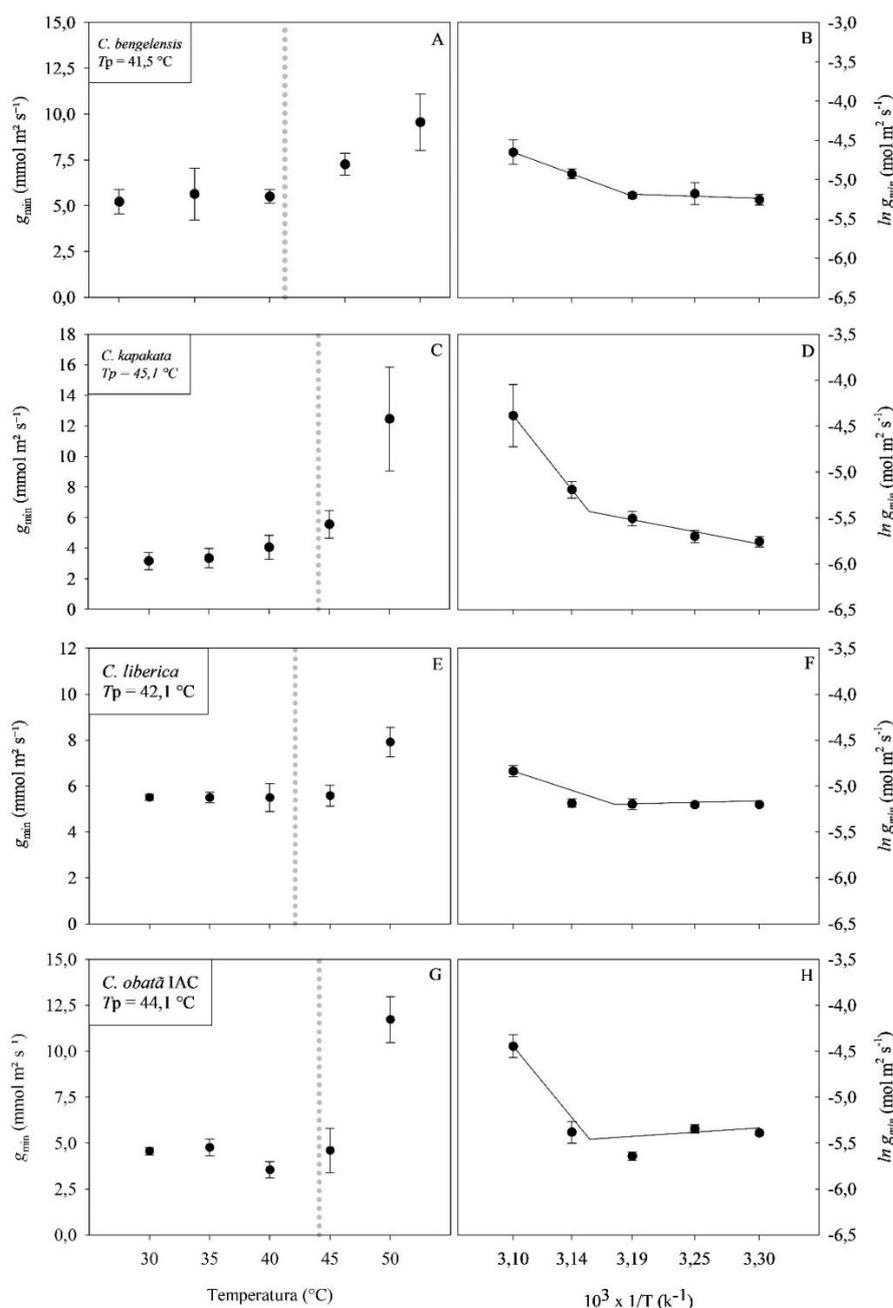


Figura 4 - Influência da temperatura na perda residual de água e determinação da temperatura de transição de fase (T_p) em *materiais vegetais* do gênero *Coffea*. As barras indicam o erro-padrão da média ($n=4$).

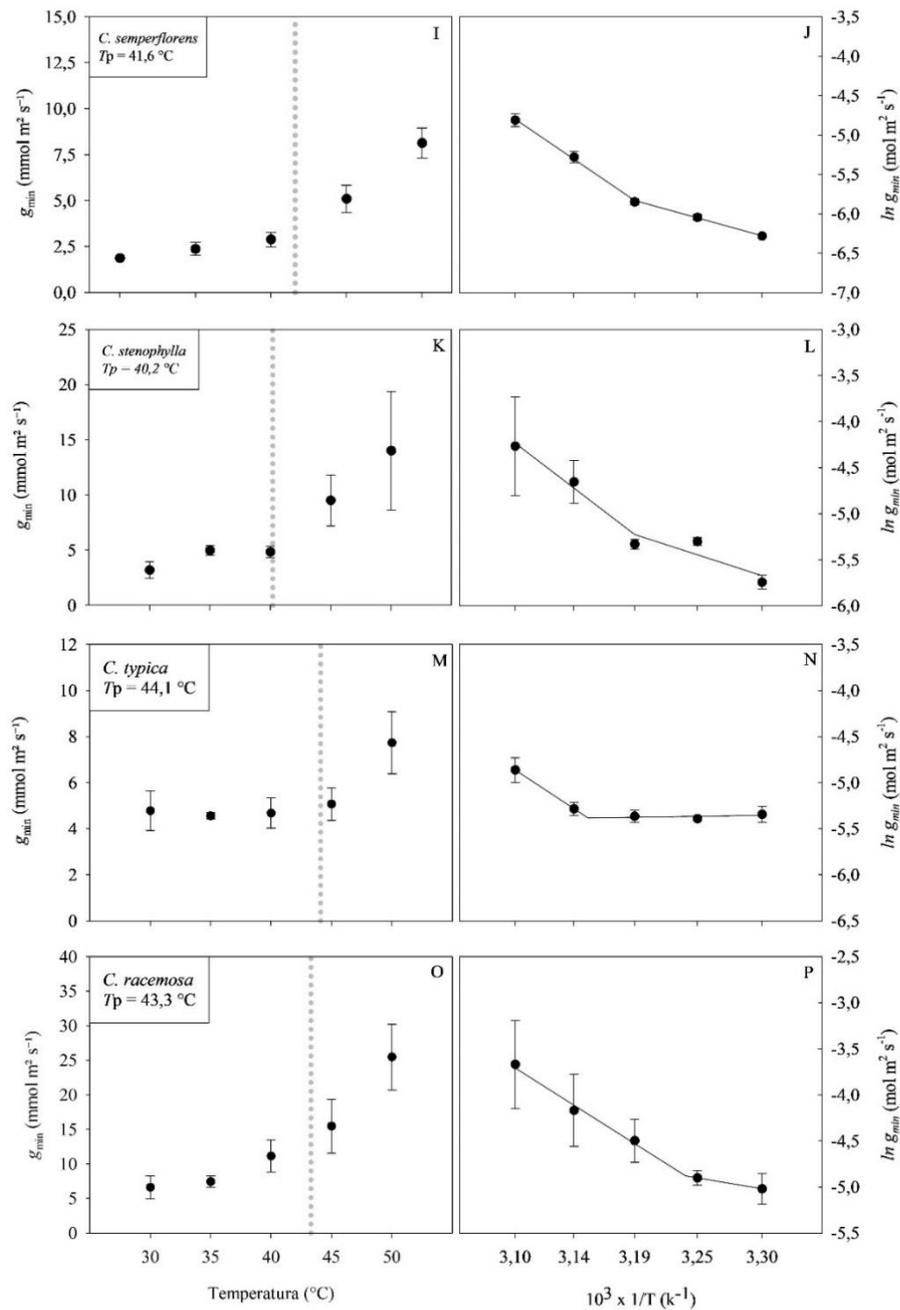


Figura 5 - Influência da temperatura na perda residual de água e determinação da temperatura de transição de fase (T_p) em materiais vegetais do gênero *Coffea*. As barras indicam o erro-padrão da média ($n=4$).

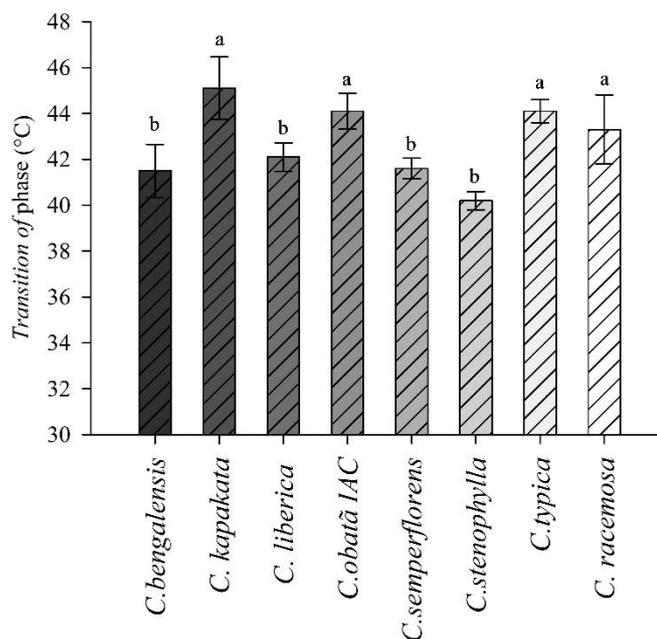


Figura 6 - Diferenças na temperatura de transição de fase (T_p) entre folhas de oito materiais vegetais do gênero *Coffea*. Cada barra representa os valores médios de cada espécie (n=4). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

3.2.2. Dinâmica da variação da condutância residual

A perda de água ao longo do gradiente de temperaturas foi muito mais variável entre os materiais vegetais analisados do que o T_p . Ao contrário do esperado, nem sempre a planta com maior T_p apresentou a menor perda de água. Por exemplo, embora *C. racemosa* tenha apresentado um alto T_p , sua perda residual de água foi maior do que a maioria dos outros materiais vegetais em todas as temperaturas analisadas (**Figura 9**). A análise da condutância mínima estomática (g_{min}) a 30°C revelou diferenças significativas entre os materiais avaliados. *C. bengalensis*, *C. kapakata*, *C. typica* e *C. racemosa*, apresentaram os maiores valores médios, destacando-se das demais plantas. *C. Obatã* IAC e *C. stenophylla* exibiram valores intermediários, enquanto *C. liberica* apresentou o menor de g_{min} (**Figura 7 A**). A 35°C, *C. racemosa* e *C. bengalensis* mantiveram os maiores valores de g_{min} , diferenciando-se dos demais materiais vegetais. *C. liberica*, *C. obatã*, *C. stenophylla* e *C. typica* apresentaram valores intermediários e estatisticamente semelhantes entre si. Já *C. kapakata* e *C. semperflorens* registraram os menores valores médios (**Figura 9****Figura 7 B**). Em 40°C, *C. racemosa* destacou-se com a maior média de g_{min} , enquanto todos os outros materiais vegetais exibiram valores significativamente menores (**Figura 7****Figura 9 C**).

Na temperatura de 45°C, *C. racemosa* manteve-se com os maiores valores médios de g_{\min} . *C. stenophylla* e *C. bengalensis* apresentaram valores intermediários e estatisticamente semelhantes entre si, enquanto os demais materiais vegetais exibiram os menores valores médios de condutância mínima estomática (**Figura 7 D**). Por fim, a 50°C, *C. racemosa* continuou apresentando os maiores valores médios de g_{\min} . *C. kapakata*, *C. obata* e *C. stenophylla* exibiram valores intermediários, enquanto os demais materiais vegetais registraram os menores valores médios nesse tratamento (**Figura 7 E**).

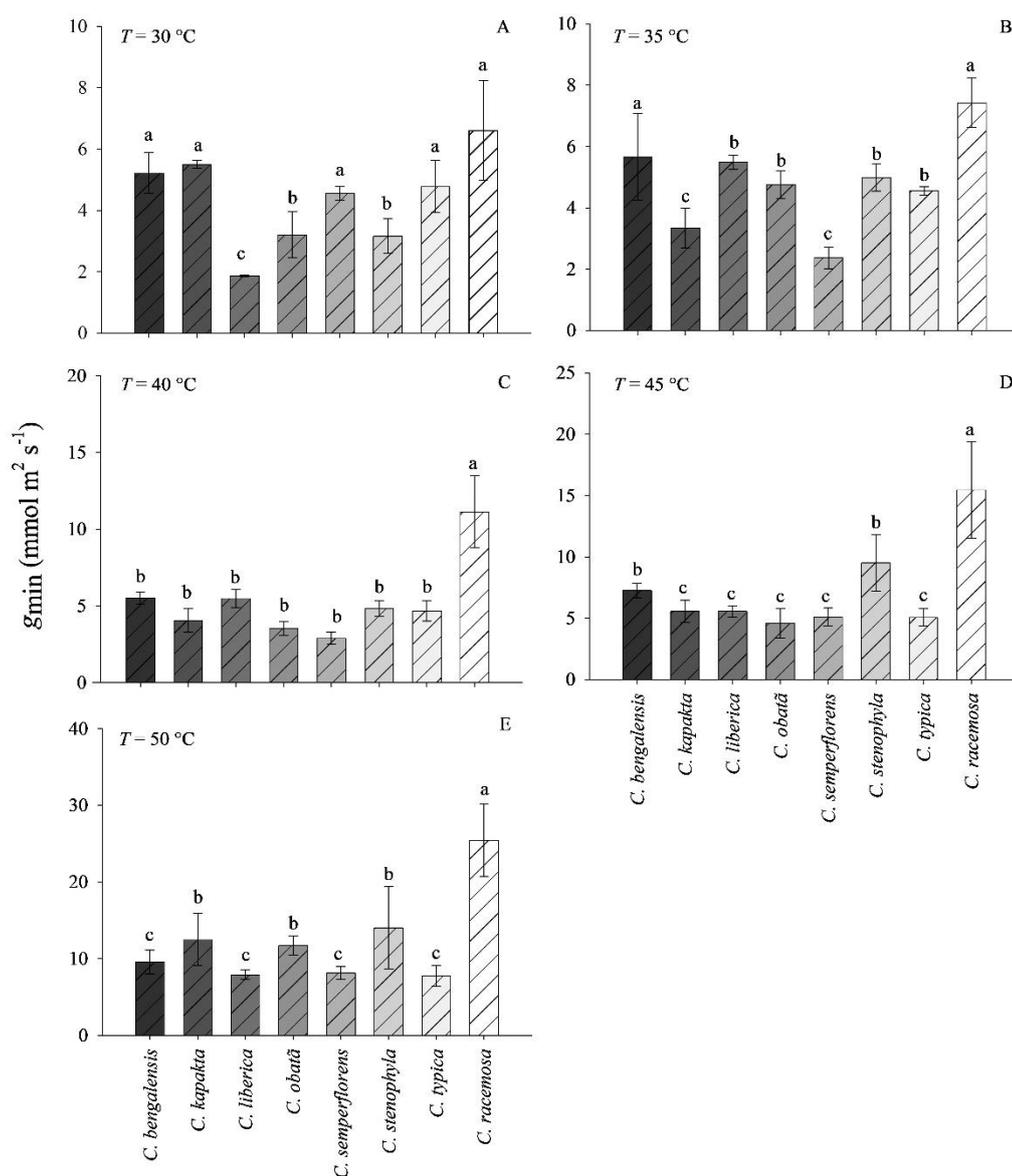


Figura 7 - Condutância estomática de 30 °C a 50 °C (A-E) em oito clones de *Coffea* continuamente irrigados. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As barras indicam o erro-padrão da média ($n=4$).

3.2.3. Manutenção da temperatura foliar ao longo de um gradiente de temperatura do ar

Nos oito materiais vegetais, a temperatura da folha tendeu a ser inferior à temperatura do ar durante a desidratação (após o fechamento dos estômatos). Os resultados da temperatura foliar (T_{leaf}) em função da temperatura do ar (T_{air}) indicam que, até 35 °C, não houve diferenças estatísticas entre os materiais de *Coffea*, com valores médios de T_{leaf} estatisticamente semelhantes entre si (**Figura 8**). A partir de 40 °C, no entanto, alguns foram mais eficientes em manter menores temperaturas foliares. A 40 °C, *C. liberica* e *C. obata* apresentaram as menores médias de T_{leaf} , enquanto todos os outros materiais exibiram valores estatisticamente superiores. Em 45°C, *C. liberica* e *C. obata* mantiveram as menores temperaturas foliares, enquanto *C. racemosa* apresentou valores médios intermediários. Os demais materiais vegetais registraram as maiores temperaturas foliares, diferenciando-se estatisticamente das demais. O mesmo padrão observado a 45 °C se manteve a 50°C.

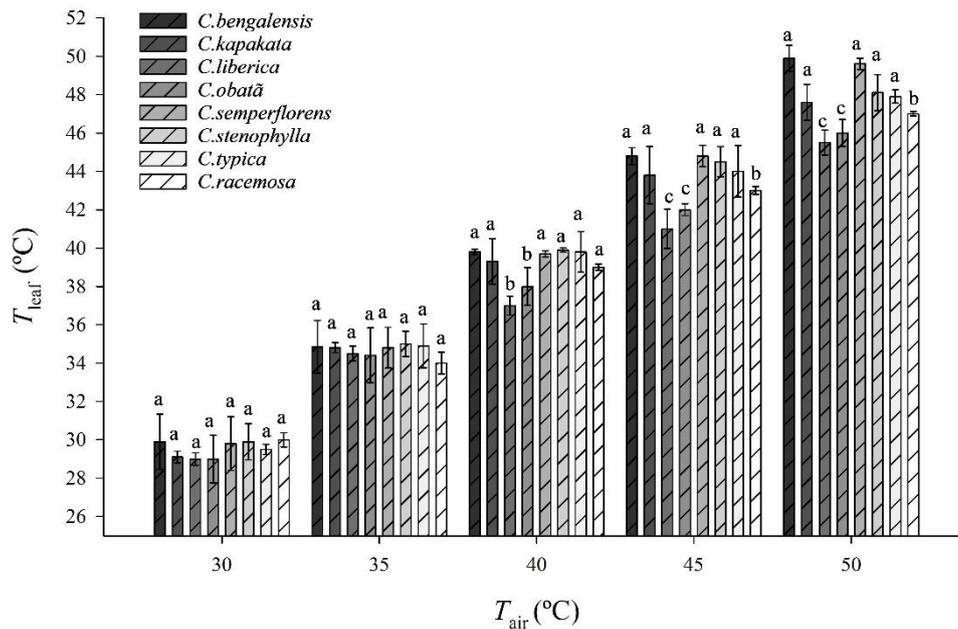


Figura 8 - A relação entre a temperatura da folha e do ar com o aumento da temperatura definida dentro da Droughtbox para oito materiais vegetais. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As barras indicam o erro-padrão da média ($n=5$).

3.2.4. Trocas gasosas e fluorescência

Em relação à taxa de assimilação de CO₂ (*A*), os materiais vegetais *C. bengalensis*, *C. semperflorens* e *C. liberica* apresentaram os maiores valores médios, evidenciando uma maior capacidade fotossintética em comparação às demais (**Figura 9 A**). Para a condutância estomática (*g_s*) e a taxa de transpiração (*E*), *C. bengalensis* apresentou os maiores valores, enquanto *C. semperflorens* e *C. liberica* apresentaram médias intermediárias e os demais materiais vegetais revelaram os menores resultados (**Figura 9 B e C**).

A concentração intercelular de CO₂ (*C_i*) variou levemente entre os materiais vegetais, com *C. bengalensis* e *C. typica* apresentando os valores mais elevados (**Figura 9 D**). Quanto à eficiência intrínseca de carboxilação (*A/C_i*), *C. semperflorens*, *C. bengalensis* e *C. liberica* destacaram-se como as mais eficientes, enquanto os outros materiais vegetais demonstraram valores inferiores (**Figura 9 E**). A eficiência no uso da água (*A/E*) foi superior em *C. kapakata*. Em contrapartida, *C. bengalensis* e *C. stenophylla* apresentaram os menores valores, enquanto os demais apresentaram valores intermediários (**Figura 9 F**).

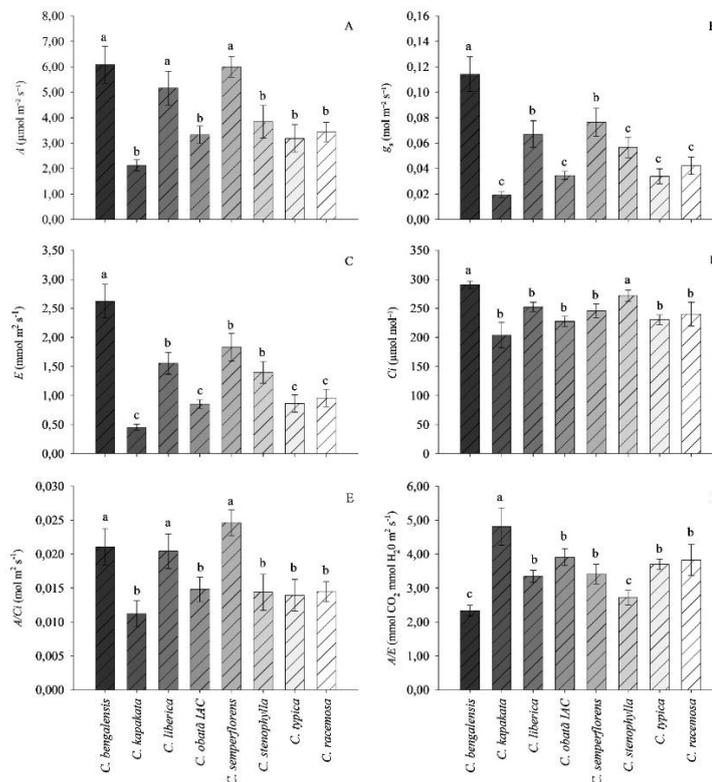


Figura 9 - Taxa assimilatória líquida de carbono (*A*), condutância estomática (*g_s*), taxa transpiratória (*E*) e concentração interna de CO₂ (*C_i*), eficiência de carboxilação (*A/C_i*) e Eficiência do uso da água (*A/E*) em oito clones de *Coffea*. Valores seguidos por mesmas letras não diferem significativamente entre si dentro de um mesmo grupo. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As barras indicam o erro-padrão da média ($n=5$).

Independentemente da espécie analisada, não foram observadas alterações na eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (**Figura 10**).

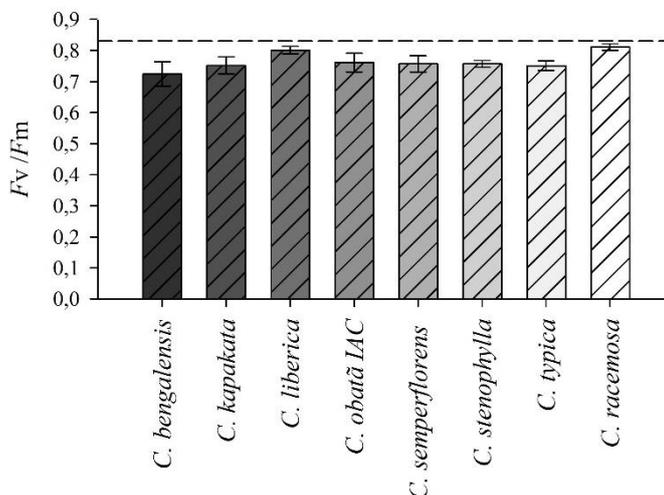


Figura 10 - Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) em oito clones de *Coffea* continuamente irrigados. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As barras indicam o erro-padrão da média ($n=5$).

3.2.5. Caracterização estomática

Os resultados mostraram diferenças significativas entre os materiais vegetais. *C. typica* apresentou os maiores valores para a área de maior abertura estomática (α_{max}), tamanho dos estômatos (S), condutividade estomática máxima teórica (g_{wmax}) e fração de epiderme alocada para estômatos (f_{gc}) (**Figura 11 A, C, D e**). Na densidade estomática, *C. semperflorens* se destacou, seguida por *C. typica*, enquanto *C. obata IAC* e *C. racemosa* tiveram os menores valores (**Figura 11 B**).

Materiais vegetais como *C. bengalensis* e *C. obata IAC* apresentaram valores intermediários para o tamanho estomático, enquanto *C. racemosa* registrou os menores valores (**Figura 11 C**). Para f_{gc} , *C. kapakata*, *C. liberica* e *C. stenophylla* exibiram as menores médias (**Figura 11 E**). Na condutância máxima estomática, *C. bengalensis* teve valores intermediários, enquanto os demais, exceto *C. typica* e *C. semperflorens*, apresentaram os menores valores, semelhantes entre si (**Figura 11 D**).

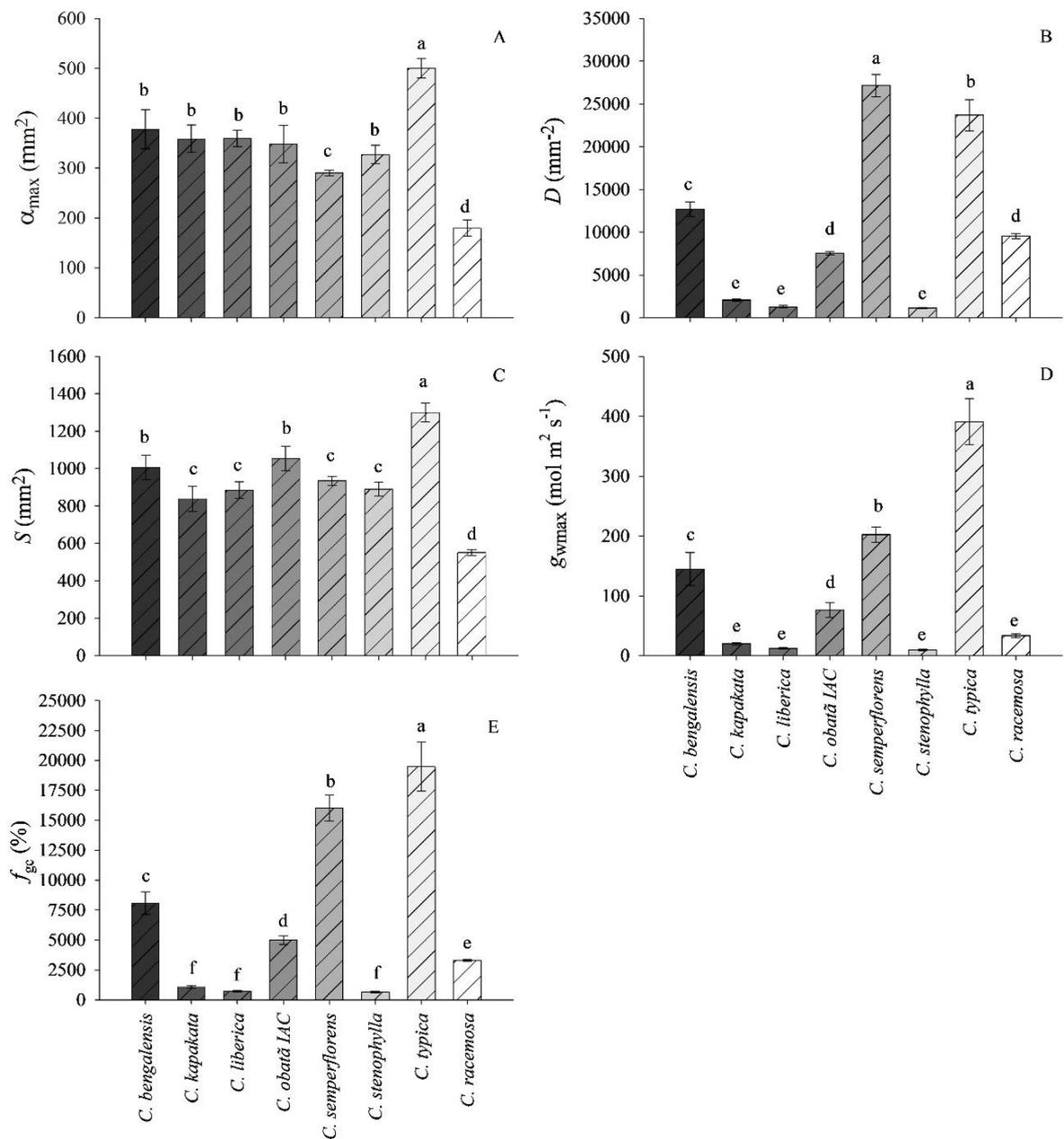


Figura 11 – Área de maior abertura estomática (α_{max}); Densidade estomática (D); Tamanho do estômato (S) e Condutividade Estomática Máxima Teórica (g_{wmax}) e fração de epiderme alocada para estômatos (f_{gc}). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as diferentes materiais vegetais ($P \leq 0,05$; Teste de Scott-Knott). As barras indicam o erro-padrão da média ($n=5$).

3.2.6. Características foliares

Os resultados mostraram variações significativas nos parâmetros foliares entre os materiais vegetais analisados. *C. kapakata* e *C. racemosa* destacaram-se com maior densidade foliar, não havendo diferença entre os demais materiais vegetais (**Figura 12 A**). Em relação à massa foliar específica, *C. liberica* apresentou os maiores valores, seguida por *C. kapakata*. Os

menores valores foram observados para *C. bengalensis*, *C. semperflorens* e *C. stenophylla* (**Figura 12 B**). O teor relativo de água, por sua vez, foi elevado na maioria dos materiais analisados, exceto em *C. obatã* IAC, que apresentou valores inferiores (**Figura 12 C**). Por outro lado, o conteúdo de massa seca foliar foi maior em *C. obatã* IAC, com valores intermediários em alguns materiais vegetais e menores em *C. kapakata*, *C. liberica* e *C. typica* (**Figura 12 D**).

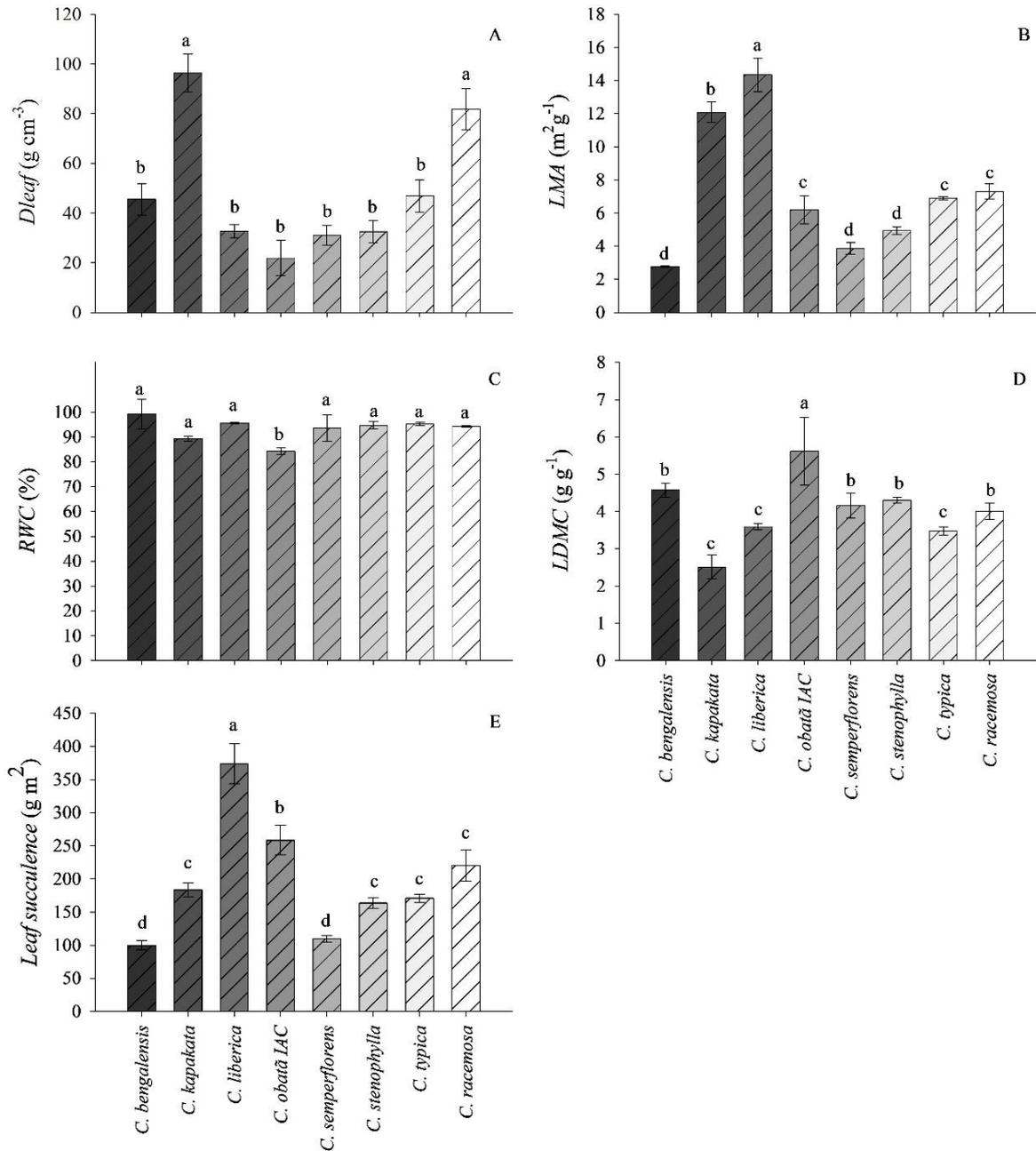


Figura 12 - Densidade foliar (D_{leaf}) A; Massa foliar específica (LMA) B; Teor relativo de água (RWC) C; Conteúdo de massa seca foliar ($LDMC$) D e Suculência Foliar (E). Letras indicam diferenças significativas entre os diferentes materiais vegetais ($P \leq 0,05$; Teste de Scott-Knott). As barras indicam o erro-padrão da média (n=5).

Os resultados na suculência foliar indicaram diferenças significativas entre os materiais vegetais analisadas. *C. liberica* apresentou os maiores valores, destacando-se dos demais. *C. obata* IAC exibiu valores elevados, mas inferiores aos de *C. liberica*, formando um grupo distinto. Materiais vegetais como *C. kapakata*, *C. stenophylla*, *C. typica* e *C. racemosa* apresentaram valores intermediários e estatisticamente semelhantes entre si. Por outro lado, *C. bengalensis* e *C. semperflorens* exibiram os menores valores, diferenciando-se das demais (**Figura 12 E**).

3. DISCUSSÃO

3.1. Explorando a Fisiologia Vegetal com a Droughtbox: Implicações para a Sustentabilidade da Cafeicultura

A utilização da Droughtbox em experimentos de fisiologia vegetal revelou *insights* valiosos sobre a resposta das plantas ao estresse térmico e às variações ambientais. O controle preciso das condições ambientais, como temperatura, umidade relativa e déficit de pressão de vapor (VPD), permitiu a estabilização dessas variáveis durante os experimentos, garantindo a confiabilidade dos resultados e a obtenção dos dados em menor tempo (**Figura 3**). Notou-se uma determinação eficaz das taxas de perda de água residual (g_{min}) após o fechamento estomático, possibilitando uma análise detalhada da resposta das plantas ao estresse térmico. A Droughtbox também possibilitou a identificação precisa da temperatura de transição de fase (T_p) para diferentes materiais vegetais de café, revelando variações significativas entre elas, além de permitir simular e avaliar a influência da temperatura do ar na temperatura da folha. A validação da metodologia empregada confirmou a eficácia e a estabilidade da Droughtbox, estabelecendo-a como uma ferramenta promissora para o presente trabalho e também para estudos futuros em fisiologia vegetal e adaptação de culturas agrícolas (Billon et al., 2020).

3.2. Fatores determinantes da dinâmica da condutância mínima das folhas (g_{min}) em diferentes temperaturas do ar

Um número crescente de estudos evidencia que, dentro de um determinado contexto climático, as diferenças na perda de água residual entre materiais vegetais provavelmente refletem ajustes bioquímicos e morfoanatômicos foliares associados às suas estratégias de crescimento contrastantes (Barnard e Bauerle, 2013; Bueno et al., 2019; Machado et al., 2021; Wang et al., 2024; Aun et al., 2024). O g_{min} de uma espécie é determinado pela combinação de

condutância do vapor d'água pela área peristomática e cuticular ($g_{\text{peristomatal}}$ e g_{cuticule} , respectivamente), mas conforme a temperatura ultrapassa T_p , a contribuição relativa de g_{cuticule} aumenta substancialmente, enquanto $g_{\text{peristomatal}}$ tende a permanecer constante na maioria das espécies. A eficácia da barreira hidrofóbica formada pela cutícula das plantas em altas temperaturas está positivamente correlacionada com um maior investimento na produção de estruturas de proteção. Isso ocorre provavelmente devido à presença ou ao aumento da abundância de ceras mais estáveis termicamente, que melhoram a resistência da cutícula ao calor (Bueno et al., 2019; Slot et al., 2021).

Os resultados indicam que a temperatura de transição de fase da cutícula (T_p) é um parâmetro crítico para a regulação da perda de água em *Coffea*, pois ultrapassar o limiar variando de aproximadamente 40,2 °C em *C. stenophylla* a 45,1 °C em *C. kapakata* (**Figuras 4 – 6**) provoca alterações na organização lipídica que podem duplicar ou triplicar a perda de água (Eckl & Gruler, 1980; Chen et al., 2021; Slot et al., 2021). Contudo, um T_p elevado não garante, isoladamente, baixa perda de água: embora *C. kapakata*, *C. typica*, *C. racemosa* tenham apresentado os maiores valores de T_p , não necessariamente elas foram os materiais vegetais que apresentaram menores perdas de água, demonstrando que a alta tolerância térmica nem sempre está associada à conservação hídrica, o que adiciona um grau ainda maior de complexidade na resposta das plantas às mudanças climáticas.

As diferenças entre os materiais vegetais do gênero *Coffea* em relação às perdas residuais de água à medida que se aumenta a temperatura refletem a complexidade dos mecanismos fisiológicos e anatômicos que regulam a homeostase hídrica. De forma geral, os dados experimentais demonstram que, aos 30 °C, materiais vegetais como *C. racemosa*, *C. semperflorens* e *C. typica* apresentam perdas de água similares (**Figura 7**). Entretanto, a partir de 35 °C e para todas as temperaturas subsequentes, *C. racemosa* destaca-se por registrar uma perda residual significativamente maior. Uma possível explicação seria que *C. racemosa* poderia apresentar menor T_p e, uma vez ultrapassado esse limiar, essa espécie passaria a perder mais água que os demais materiais vegetais. Conforme discutido acima, no entanto, *C. racemosa* exibe um dos maiores valores de T_p , situando-se em torno de 45,1 °C (conforme ilustrado nas **Figuras 4, 5 e 6**), o que indica uma cutícula relativamente resistente às variações térmicas (Eckl e Gruler, 1980). Outra possibilidade, portanto, seria uma alta condutância estomática, como reflexo das características estomáticas da espécie (Machado et al., 2020). Porém, a análise dos parâmetros da impressão epidérmica demonstrou que *C. racemosa* apresenta, em comparação com os demais materiais vegetais, parâmetros que estariam

implicados em baixa perda de água pelos estômatos (Franks e Beerling, 2009; Zailaa et al., 2024), como baixos valores de condutância estomática teórica máxima (g_{wmax}), baixa densidade estomática (D), pequeno tamanho dos estômatos (S) e uma pequena porção da epiderme alocada para estômatos (**Figura 11**). Os dados anatômicos foram confirmados pelas trocas gasosas em temperatura ambiente, já que *C. racemosa* foi um dos materiais vegetais com menor g_s (**Figura 9B**).

Uma hipótese plausível para o comportamento observado em *C. racemosa* é o possível aumento na abertura dos estômatos com o aumento da temperatura. Mesmo que *C. racemosa* não apresente alta g_s em condições de base, o fato de perder mais água em temperaturas elevadas pode estar relacionado a uma estratégia compensatória para evitar o superaquecimento dos tecidos foliares. Essa hipótese é reforçada pelos dados de temperatura foliar, já que *C. racemosa* conseguiu evitar que sua temperatura foliar subisse tanto quanto ocorreu para outros materiais do gênero *Coffea* (**Figura 8**). Sob essa perspectiva, o aumento da abertura estomática, mesmo que parcial, funcionaria como um mecanismo de resfriamento por meio da transpiração, dissipando o calor acumulado e protegendo os tecidos contra danos térmicos (Hasanuzzaman et al., 2013; Chand et al., 2022). Esse comportamento já foi observado para outras espécies expostas à altas temperaturas (Marchin et al., 2022) e pode ser particularmente relevante se os tecidos de *C. racemosa* apresentarem maior sensibilidade às altas temperaturas em comparação com os demais materiais vegetais analisados, o que exigiria uma maior transpiração para manter a homeotermia foliar. Esse resultado é relevante porque demonstra que, embora o T_p seja um parâmetro relevante, a quantidade de água perdida em cada temperatura pode ser mais integrador e fornecer um quadro geral mais amplo de quais materiais vegetais estão em maior risco de falha hidráulica em condições de altas temperaturas.

Além dos cafés analisados apresentarem diferentes valores de T_p , o incremento percentual na perda de água após ultrapassarem esse limiar também variou consideravelmente. Os menores aumentos percentuais foram observados para *C. typica* e *C. semperflores*, as quais aumentaram a perda de água em 6,14 e 11,88 %, respectivamente. Curiosamente, dois dos maiores incrementos na perda de água quando a temperatura do ar foi superior ao T_p foram observadas justamente em materiais vegetais com maior T_p , *C. racemosa* e *C. kapakata*, as quais apresentaram incrementos de, respectivamente, 134,30 e 126,50%. Entretanto, ao contrário de *C. racemosa*, que apresentou um aumento gradual em g_{min} à medida que a temperatura do ar aumentava, indicando um possível mecanismo de resfriamento foliar, em *C.*

kapakata o incremento na perda de água parece estar mais diretamente associado ao T_p , pois só ocorreu após esse ponto ser ultrapassado e não foi acompanhado pela manutenção da temperatura da folha. É possível que, embora *C. kapakata* tenha o T_p numericamente mais alto dentre todos os materiais vegetais analisados, uma vez ultrapassado esse ponto, a planta tinha poucos mecanismos para evitar a perda de água, como menor disponibilidade de tricomas ou o pequeno tamanho das folhas (Wang et al., 2019), o que tornaria essa espécie silvestre particularmente dependente da estabilidade da sua cutícula. Essa hipótese, no entanto, precisa ser analisada com maior profundidade.

No espectro oposto, foi possível observar que alguns materiais vegetais foram mais eficientes em manter baixas taxas de perda de água com a variação da temperatura do ar, destacando-se *C. liberica*, *C. semperflorens* e *C. typica*, principalmente a partir de 40 °C. A resposta observada em *C. liberica* pode ser atribuída a múltiplas características anatômicas e fisiológicas: ela apresenta valores muito baixos de densidade estomática, fração da epiderme alocada para estômatos e baixa condutância estomática máxima teórica (Franks e Beerling, 2009) (**Figura 11**), além de possuir a maior massa foliar específica (*LMA*) entre os materiais vegetais avaliadas (**Figura 12**). Estudos indicam que folhas com alta *LMA* tendem a ter barreiras físicas mais espessas e densas, o que limita a difusão de água e, assim, reduz a perda hídrica (Sack & Scoffoni, 2011 ; Monteith & Unsworth, 2013). *C. typica*, por sua vez, apresentou baixos índices de perda de água possivelmente devido à alta estabilidade de sua membrana em altas temperaturas, evidenciada por um T_p elevado. É provável que essa estabilidade tenha compensado os altos valores de g_{wmax} observados, garantindo que, mesmo com uma estrutura que potencialmente facilitaria a perda de água, o mecanismo de transição de fase cuticular minimize essa perda (Eckl & Gruler, 1980). Esses achados reforçam que, dentro de cada espécie, ultrapassar o T_p marca um ponto crítico para a homeostase hídrica, mas a eficiência global da barreira cuticular também depende de outros fatores fisiológicos e anatômicos (Monteith & Unsworth, 2013 ; Davis et al., 2021; Márquez et al., 2022).

3.3. Temperatura foliar vs Temperatura do ar e sua dinâmica fisiológica

A relação entre a temperatura do ar (T_{air}) e a temperatura foliar (T_{leaf}) em materiais vegetais do gênero *Coffea* revela mecanismos adaptativos cruciais para a manutenção da homeostase térmica (**Figura 8**). Nesse sentido, foi possível observar que alguns materiais vegetais, particularmente *C. liberica* e *C. obata*, foram mais eficientes na manutenção da temperatura foliar, principalmente quando a temperatura do ar se elevou para acima de 35°C, seguidos por

C. racemosa. A manutenção de uma temperatura foliar inferior à temperatura do ar é um indicativo de estratégias fisiológicas para dissipação de calor (Curtis et al., 2012). Uma das formas mais eficientes de resfriamento foliar é a transpiração, podendo diminuir a temperatura da folha em até 8°C (Schuster, Burghardt & Riederer, 2017; Márquez et al., 2022). Apesar disso, *C. typica* e *C. obata* aparentemente adotaram outras técnicas, já que não apresentaram alta transpiração em temperatura ambiente (**Figura 9**) e apresentaram baixas taxas de perda de água mesmo quando a temperatura do ar se elevou (**Figura 7**). Para coníferas já foi observado que a transferência não- evaporativa de calor da folha para a atmosfera é um mecanismo importante para resfriamento foliar em condições de seca e é influenciado pelas estruturas na superfície das folhas, como nervuras e pelos (Muller et al., 2021). Em *C. liberica* outros fatores que podem estar envolvidos representam a alta suculência aliada à elevada *LMA* (Curtis et al., 2012; Kitodom et al., 2022), os quais possivelmente atuam como tamponante térmico, reduzindo a amplitude térmica diária e retardando o aumento de T_{leaf} (Schuster, Burghardt & Riederer, 2017; Márquez et al., 2022). O retardo no aumento de T_{leaf} é importante principalmente quando se considera que *C. liberica* e *C. obata* não apresentaram elevados valores de T_p .

Por outro lado, materiais vegetais como *C. bengalensis* e *C. semperflorens*, que possuem menor suculência, apresentaram temperaturas foliares mais elevadas, indicando uma maior dependência de mecanismos ativos, como a regulação estomática, para dissipar o calor. No entanto, a eficiência dessa estratégia pode ser limitada em condições de déficit hídrico, quando o fechamento estomático reduz a capacidade de resfriamento evaporativo (**Figura 8**). Assim, esses materiais vegetais podem estar mais vulneráveis a estresses térmicos prolongados, especialmente em ambientes semiáridos, onde a manutenção da transpiração contínua não é sustentável. Essa diferença fisiológica indica um *trade-off* entre a capacidade de retenção de água e a eficiência na dissipação térmica. Enquanto materiais vegetais suculentos podem manter a temperatura foliar baixa sem grandes perdas de água, aquelas com menor suculência tendem a depender de mecanismos mais dinâmicos, como a regulação estomática. Esse balanço parece estar relacionado a estratégias evolutivas distintas para lidar com ambientes heterogêneos, em que a capacidade de manter uma baixa T_{leaf} sem comprometer a economia hídrica confere uma vantagem competitiva significativa (Blackman, Brodribb & Jordan, 2012; Damatta & Ramalho, 2006).

3.4. Divergências Fisiológicas e Anatômicas em *Coffea*: Implicações para Adaptação e Sustentabilidade Agrícola

Os dados de fluorescência não se alteraram entre os materiais vegetais analisados, indicando bom funcionamento dos sistemas coletores de luz, embora os resultados obtidos para trocas gasosas destacaram diferenças marcantes entre os em *Coffea*, refletindo variações em suas capacidades fisiológicas e adaptativas. Os materiais vegetais *C. bengalensis*, *C. semperflorens* e *C. liberica* apresentaram as maiores taxas de assimilação de CO₂ (*A*), evidenciando maior eficiência fotossintética em comparação às demais e, portanto, maior potencial produtivo (**Figura 9 A**). Essas diferenças estão intimamente relacionadas à condutância estomática (*g_s*) (**Figura 9 B**), visto que *g_s* é o principal determinante de *A*: quanto maior *g_s*, maior *A*, pois os estômatos permanecem mais abertos, permitindo maior entrada de CO₂ para a fixação de carbono (Damatta; Ramalho, 2006; Blackman et al., 2019). Entretanto, esse aumento na abertura estomática também eleva a taxa de transpiração (*E*), conforme observado para *C. bengalensis*, que apresentou altos valores de *g_s* e *E*, refletindo uma estratégia fisiológica voltada para maximizar a troca gasosa em condições favoráveis (**Figura 9 A-B**). *C. semperflorens* e *C. liberica*, por outro lado, mantiveram a mesma taxa fotossintética de *C. bengalensis*, embora com menor *g_s* e, conseqüentemente, com menor *C_i*, indicando melhor aproveitamento do carbono. É possível que, pelo menos em *C. semperflorens*, a alta taxa fotossintética esteja relacionada com as características anatômicas da folha (**Figura 11**), já que essa variedade apresentou alta proporção da epiderme alocada para estômatos e alta densidade estomática, o que tem sido associado a maior taxa fotossintética e a um controle estomático mais preciso (Hawort et al., 2023).

A eficiência hídrica (*A/E*) apresentou padrões distintos entre os genótipos de *Coffea*, sendo significativamente maior em *Coffea kapakata* (**Figura 9 E**), o que indica maior economia de recursos hídricos e potencial adaptativo superior em condições de seca (Schuster; Burghardt; Riederer, 2017). A menor *g_s* observada em *C. kapakata* reduz as perdas de água por transpiração, favorecendo sua estratégia conservativa em ambientes mais secos (**Figura 9 B**). Apesar disso, a baixa fotossíntese desse material vegetal, associado à sua alta taxa de perda de água após o limiar da temperatura de transição pode comprometer seu plantio em áreas expostas a ondas de calor.

A concentração intercelular de CO₂ (*C_i*) variou entre os materiais vegetais, com *C. bengalensis* e *C. stenophylla* exibindo valores mais elevados. Esses resultados sugerem

diferenças nos processos de difusão e na eficiência de carboxilação entre os genótipos, sendo que *C. stenophylla* pode apresentar limitações no uso do carbono assimilado, principalmente porque o alto C_i ocorreu associado a um baixo g_s (**Figura 9 D - E**). Em contraste, a eficiência intrínseca de carboxilação (A/C_i) foi mais elevada em *C. semperflorens*, *C. bengalensis* e *C. liberica*, sugerindo um uso mais eficaz do CO_2 assimilado, aspecto crítico em ambientes com altos níveis de CO_2 atmosférico (Damatta; Ramalho, 2006).

Diante desses achados, surge a questão: é possível obter materiais do gênero *Coffea* que combinem, ao mesmo tempo, maior potencial produtivo (maior A) com maior tolerância à seca e às altas temperaturas? Os resultados indicam que essa resposta é complexa e que a observação de variáveis isoladas, como o T_p , podem levar a interpretações errôneas. Dentre os três materiais vegetais com maior potencial produtivo, *C. bengalensis* e *C. semperflorens* podem se destacar em ambientes com temperaturas amenas. De fato, embora esses materiais sejam eficientes na conservação de água à medida que a temperatura aumenta, não foram capazes de manter a temperatura foliar, o que pode comprometer os processos fisiológicos, incluindo a fixação de carbono e a reprodução. A avaliação da tolerância fotossintética à altas temperaturas nesses materiais auxiliaria a avaliar se o aumento da temperatura dos tecidos vegetais acarreta algum dano para as plantas. *C. liberica*, por outro lado, apresentou características que podem tornar o plantio dessa espécie interessante em regiões propensas à seca e altas temperaturas: além do alto potencial produtivo, essa espécie consegue conservar água e manter a temperatura foliar mesmo com o aumento da temperatura do ar. Curiosamente, *C. liberica* ajudou a salvar a indústria do café da devastadora pandemia de ferrugem da folha de café do século XIX, embora hoje represente menos de 1% da produção mundial de café (Davis et al., 2022). A avaliação da segurança térmica de *C. liberica* realizada neste estudo, no entanto, aponta para um grande potencial dessa espécie em um mundo em aquecimento global.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o presente estudo, ao explorar a fisiologia vegetal com a Droughtbox e analisar comparativamente a condutância mínima das folhas (g_{\min}) e a tolerância à altas temperaturas em materiais vegetais do gênero *Coffea*, evidencia a importância de abordagens inovadoras para compreender as respostas das plantas ao estresse térmico e hídrico. A Droughtbox demonstrou eficácia satisfatória na estabilização de variáveis ambientais, garantindo medições precisas da condutância residual e da temperatura de transição de fase da cutícula (T_p), um parâmetro crítico para entender a barreira cuticular das folhas. Além disso, a análise integrada das variáveis fisiológicas permitiu caracterizar diferenças entre os materiais vegetais quanto à regulação térmica e estratégias de conservação de água, permitindo indicar alguns materiais vegetais com potencial para plantio direto e/ou melhoramento genético, com destaque para *Coffea liberica*. No entanto, dada a complexidade dos sistemas biológicos, novas investigações que incorporem a tolerância dos processos fotossintéticos à altas temperaturas, bem como a avaliação da tolerância à seca, serão essenciais para validar os achados e aprimorar estratégias de mitigação dos impactos climáticos na cafeicultura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERRO, H. The Era of ‘Global Boiling.’ In: **Radical Environmental Resistance**. [s.l.] Emerald Publishing Limited, 2023. p. 1–10.
- ALVES, J. D. Morfologia do Cafeeiro. In: **Cultivares do Café**. [s.l.] Embrapa, 2008.
- ANTHONY, F. The genetic resources of coffee makers. Collection, management of a conservatory and evaluation of the genetic diversity, 1992.
- ASHIHARA, H.; CROZIER, A. Biosynthesis and Catabolism of Caffeine in Low-Caffeine-Containing Species of *Coffea*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 8, p. 3425–3431, 1999.
- AUN, M. A. et al. Evidence of combined flower thermal and drought vulnerabilities portends reproductive failure under hotter-drought conditions. **Plant, Cell & Environment**, v. 47, n. 6, p. 1971–1986, 22 jul. 2024.
- BARNARD, D. M.; BAUERLE, W. L. The implications of minimum stomatal conductance on modeling water flux in forest canopies. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, v. 118, n. 3, p. 1322–1333, 2013.
- BARTLETT, M. K.; SCOFFONI, C.; SACK, L. The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. **Ecology Letters**, v. 15, n. 5, p. 393–405, 2012.
- BERTRAND, B. et al. Potential beverage quality of three wild coffee species (*Coffea brevipes*, *C. congensis* and *C. stenophylla*) and consideration of their agronomic use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 103, n. 7, p. 3602–3612, 22 maio 2023.
- BILLON, L. M. et al. The DroughtBox: A new tool for phenotyping residual branch conductance and its temperature dependence during drought. **Plant, Cell & Environment**, v. 43, n. 6, p. 1584–1594, 11 maio 2020.
- BLACKMAN, C. J. et al. Toward an index of desiccation time to tree mortality under drought. **Plant, Cell & Environment**, v. 39, n. 10, p. 2342–2345, 12 maio 2016.
- BLACKMAN, C. J. et al. Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. **Tree Physiology**, v. 39, n. 6, p. 910–924, 12 maio 2019.
- BLACKMAN, C. J.; BRODRIBB, T. J.; JORDAN, G. J. Leaf hydraulic vulnerability influences species’ bioclimatic limits in a diverse group of woody angiosperms. **Oecologia**, v. 168, n. 1, p. 1–10, 12 maio 2012.

BOURGAULT, R. et al. Constructing functional cuticles: analysis of relationships between cuticle lipid composition, ultrastructure and water barrier function in developing adult maize leaves. **Annals of Botany**, v. 125, n. 1, p. 79–91, 30 jul. 2020.

BRIDSON, D. M. Nomenclatural Notes on *Psilanthus*, Including *Coffea* sect. *Paracoffea* (Rubiaceae Tribe Coffeae). **Kew Bulletin**, v. 42, n. 2, p. 453, 22 maio 1987.

BRUNSELL, N. A.; PONTES, P. P. B.; LAMPARELLI, R. A. C. Remotely Sensed Phenology of Coffee and Its Relationship to Yield. **GIScience & Remote Sensing**, v. 46, n. 3, p. 289–304, 9 jun. 2009.

BUENO, A. et al. Effects of temperature on the cuticular transpiration barrier of two desert plants with water-spender and water-saver strategies. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 5, p. 1613–1625, 27 jul. 2019.

BUNN, C. et al. A bitter cup: climate change profile of global production of Arabica and Robusta coffee. **Climatic Change**, v. 129, n. 1–2, p. 89–101, 13 mar. 2015.

BURGHARDT, M. Ecophysiological relevance of cuticular transpiration of deciduous and evergreen plants in relation to stomatal closure and leaf water potential. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 389, p. 1941–1949, 12 maio 2003.

BURGHARDT, M.; RIEDERER, M. Cuticular Transpiration. **Annual Plant Reviews online**, p. 292–311, 12 maio 2008.

CAMARGO, Â. P.; CAMARGO, M. B. P. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, v. 60, n. 1, p. 65–68, 2001.

CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. [59] Glutathione reductase. In: **Glutamate, Glutamine, Glutathione, and Related Compounds**. [s.l.] Elsevier, 1985. p. 484–490.

CHAND, G. et al. High Temperature Stress: Responses Mechanism and Management. In: **Abiotic & Biotic Stress Management in Plants**. London: CRC Press, 2022. p. 51–93.

CHAUDHRY, S.; SIDHU, G. P. S. Climate change regulated abiotic stress mechanisms in plants: a comprehensive review. **Plant Cell Reports**, v. 41, n. 1, p. 1–31, 11 maio 2021.

COULIBALY, I. et al. Introgression of self-compatibility from *Coffea heterocalyx* to the cultivated species *Coffea canephora*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, n. 6, p. 994–999, 22 maio 2002.

CREEK, D. et al. Xylem embolism in leaves does not occur with open stomata: evidence from direct observations using the optical visualization technique. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 3, p. 1151–1159, 12 maio 2020.

CURTIS, E. M.; LEIGH, A.; RAYBURG, S. Relationships among leaf traits of Australian arid zone plants: alternative modes of thermal protection. **Australian Journal of Botany**, v. 60, n. 6, p. 471, 2012.

DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 55–81, 20 jul. 2006.

DAVIS, A. P. et al. Hot Coffee: The Identity, Climate Profiles, Agronomy, and Beverage Characteristics of *Coffea racemosa* and *C. zanguebariae*. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 2021a.

DAVIS, A. P. et al. Arabica-like flavour in a heat-tolerant wild coffee species. **Nature Plants**, v. 7, n. 4, p. 413–418, 19 abr. 2021b.

DAVIS, A. P. et al. The re-emergence of Liberica coffee as a major crop plant. **Nature Plants**, v. 8, n. 12, p. 1322–1328, 15 dez. 2022.

DUSSERT, S.; LASHERMES, P.; OTHERS. Coffee (*Coffea canephora*). In: **Genetic diversity of cultivated tropical plants**. [s.l.] CRC Press, 2003. p. 255–274.

DUURSMA, R. A. et al. On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. **New Phytologist**, v. 221, n. 2, p. 693–705, 28 jul. 2019.

ECKL, K.; GRULER, H. Phase transitions in plant cuticles. **Planta**, v. 150, n. 2, p. 102–113, 29 jul. 1980.

FARAH, A. **Coffee: Production, Quality and Chemistry**. [s.l.] Royal Society of Chemistry, 2019.

FERRANTE, A.; MARIANI, L. Agronomic Management for Enhancing Plant Tolerance to Abiotic Stresses: High and Low Values of Temperature, Light Intensity, and Relative Humidity. **Horticulturae**, v. 4, n. 3, p. 21, 11 maio 2018.

FILHO, O. G.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, G. R. ORIGEM E CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DO CAFEEIRO. In: **Cultivares do Café**. [s.l.] Embrapa, 2008.

FRANKS, P. J.; BEERLING, D. J. Maximum leaf conductance driven by CO₂ effects on stomatal size and density over geologic time. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 25, p. 10343–10347, 23 jun. 2009.

- GAY, C.; GEBICKI, J. M. A Critical Evaluation of the Effect of Sorbitol on the Ferric–Xylenol Orange Hydroperoxide Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 284, n. 2, p. 217–220, 29 maio 2000.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants 1 2. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 29 maio 1977.
- GLEASON, S. M. et al. Whole-plant capacitance, embolism resistance and slow transpiration rates all contribute to longer desiccation times in woody angiosperms from arid and wet habitats. **Tree Physiology**, v. 34, n. 3, p. 275–284, 11 maio 2014.
- GUERFEL, M. et al. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 119, n. 3, p. 257–263, 28 jul. 2009.
- HASANUZZAMAN, M. et al. Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms of Heat Stress Tolerance in Plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 9643–9684, 11 maio 2013.
- HAWORTH, M. et al. The functional significance of the stomatal size to density relationship: Interaction with atmospheric [CO₂] and role in plant physiological behaviour. **Science of The Total Environment**, v. 863, p. 160908, mar. 2023.
- JONES, H. G. Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 2, p. 119–130, 19 jun. 2007.
- KATH, J. et al. Not so robust: Robusta coffee production is highly sensitive to temperature. **Global Change Biology**, v. 26, n. 6, p. 3677–3688, 17 jun. 2020.
- KAUWE, M. G. DE et al. A test of the ‘one-point method’ for estimating maximum carboxylation capacity from field-measured, light-saturated photosynthesis. **New Phytologist**, v. 210, n. 3, p. 1130–1144, 29 maio 2016.
- KERSTIENS, G. Cuticular water permeability and its physiological significance. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, n. 12, p. 1813–1832, 11 jul. 1996.
- KITUDOM, N. et al. Thermal safety margins of plant leaves across biomes under a heatwave. **Science of The Total Environment**, v. 806, p. 150416, fev. 2022.
- KOOTEN, O.; SNEL, J. F. H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. **Photosynthesis Research**, v. 25, n. 3, p. 147–150, 1990.
- KUO, M. C.; KAO, C. H. Aluminum Effects on Lipid Peroxidation and Antioxidative Enzyme Activities in Rice Leaves. **Biologia Plantarum**, v. 46, n. 1, p. 149–152, 29 maio 2003.

LE, A. et al. Stomatal Responses to Drought Stress and Air Humidity. In: **Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations**. [s.l.] InTech, 2011.

LICHTENTHALER, H. K. The Stress Concept in Plants: An Introduction. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 851, n. 1 STRESS OF LIF, p. 187–198, 20 jul. 1998.

LINTUNEN, A. et al. Bark Transpiration Rates Can Reach Needle Transpiration Rates Under Dry Conditions in a Semi-arid Forest. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 13 maio 2021.

LONG, S. P. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 392, p. 2393–2401, 28 jul. 2003.

LORAM-LOURENÇO, L. et al. Variations in bark structural properties affect both water loss and carbon economics in neotropical savanna trees in the Cerrado region of Brazil. **Journal of Ecology**, v. 110, n. 8, p. 1826–1843, 13 maio 2022.

MACÊDO, C. E. C. DE; KINET, J. M.; LUTTS, S. Aluminum effects on citric and malic acid excretion in roots and calli of rice cultivars. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1, p. 13–23, 29 maio 2001.

MACHADO, R. et al. Where do leaf water leaks come from? Trade-offs underlying the variability in minimum conductance across tropical savanna species with contrasting growth strategies. **New Phytologist**, v. 229, n. 3, p. 1415–1430, 27 jul. 2021.

MARCHIN, R. M. et al. Extreme heat increases stomatal conductance and drought-induced mortality risk in vulnerable plant species. **Global Change Biology**, v. 28, n. 3, p. 1133–1146, 20 fev. 2022.

MARKESTEIJN, L. et al. Ecological differentiation in xylem cavitation resistance is associated with stem and leaf structural traits. **Plant, Cell & Environment**, v. 34, n. 1, p. 137–148, 11 maio 2011.

MÁRQUEZ, D. A. et al. Cuticular conductance of adaxial and abaxial leaf surfaces and its relation to minimum leaf surface conductance. **New Phytologist**, v. 233, n. 1, p. 156–168, 28 jul. 2022.

MÁRQUEZ, D. A.; STUART-WILLIAMS, H.; FARQUHAR, G. D. An improved theory for calculating leaf gas exchange more precisely accounting for small fluxes. **Nature Plants**, v. 7, n. 3, p. 317–326, 28 jul. 2021.

MARTINS, M. Q. et al. Protective Response Mechanisms to Heat Stress in Interaction with High [CO₂] Conditions in *Coffea* spp. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 29 jun. 2016.

MARTIN-STPAUL, N.; DELZON, S.; COCHARD, H. Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. **Ecology Letters**, v. 20, n. 11, p. 1437–1447, 12 maio 2017.

MAX, A. C. et al. A bitter future for coffee production? Physiological traits associated with yield reveal high vulnerability to hydraulic failure in *Coffea canephora*. **Plant, Cell & Environment**, v. 46, n. 3, p. 764–779, 27 jul. 2023.

MEINZER, F. C. et al. Hydraulic architecture of sugarcane in relation to patterns of water use during plant development. **Plant, Cell & Environment**, v. 15, n. 4, p. 471–477, 19 jun. 1992.

MENEZES-SILVA, P. E. et al. Different ways to die in a changing world: Consequences of climate change for tree species performance and survival through an ecophysiological perspective. **Ecology and Evolution**, v. 9, n. 20, p. 11979–11999, 11 maio 2019.

MONTEITH, J. L.; UNSWORTH, M. H. Micrometeorology. In: **Principles of Environmental Physics**. [s.l.] Elsevier, 2013. p. 321–349.

Mudança do clima no Brasil - 2024 — IPCC. Disponível em: <<https://www.ipcc.ch/2024/>>. Acesso em: 13 fev. 2025.

MULLER, J. D. et al. Evidence for efficient nonevaporative leaf-to-air heat dissipation in a pine forest under drought conditions. **New Phytologist**, v. 232, n. 6, p. 2254–2266, 11 dez. 2021.

NARITOMI, J.; SOARES, R. R.; ASSUNÇÃO, J. J. Institutional Development and Colonial Heritage within Brazil. **The Journal of Economic History**, v. 72, n. 2, p. 393–422, 21 maio 2012.

NORMANLY, J. **High-Throughput Phenotyping in Plants: Methods and Protocols**. [s.l.] Humana Press, 2012.

OCHELTREE, T. W.; NIPPERT, J. B.; PRASAD, P. V. V. Stomatal responses to changes in vapor pressure deficit reflect tissue-specific differences in hydraulic conductance. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 1, p. 132–139, 28 jul. 2014.

PÁPISTA, É.; ÁCS, É.; BÖDDI, B. Chlorophyll-a determination with ethanol – a critical test. **Hydrobiologia**, v. 485, n. 1, p. 191–198, 29 maio 2002.

PASCAL, M.; MOUTOU, F. L’impact des catastrophes climatiques sur la nature et l’intensité des interactions homme-faune. Conséquences épidémiologiques. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 29, n. 5, p. 285–288, 11 maio 1999.

PASSIOURA, J. B. Water in the Soil-Plant-Atmosphere Continuum. In: **Physiological Plant Ecology II**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1982. p. 5–33.

PATAY, É. B.; BENCSIK, T.; PAPP, N. Phytochemical overview and medicinal importance of *Coffea* species from the past until now. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 12, p. 1127–1135, 22 maio 2016.

PENDERGRAST, M. **Uncommon Grounds: The History of Coffee and How It Transformed Our World**. [s.l.] Hachette UK, 2010.

PEZZOPANE, J. R. M. et al. Escala para avaliação de estádios fenológicos do cafeeiro arábica. **Bragantia**, v. 62, n. 3, p. 499–505, 9 jun. 2003.

ROCKWELL, F. E.; HOLBROOK, N. M.; STROOCK, A. D. The Competition between Liquid and Vapor Transport in Transpiring Leaves. **Plant Physiology**, v. 164, n. 4, p. 1741–1758, 28 jul. 2014.

SACK, L.; SCOFFONI, C. Minimum epidermal conductance (gmin, aka cuticular conductance). **PrometheusWiki**, v. 35, n. 1, p. 257–262, 11 jul. 2011.

SALOJÄRVI, J. et al. The genome and population genomics of allopolyploid *Coffea arabica* reveal the diversification history of modern coffee cultivars. **Nature Genetics**, v. 56, n. 4, p. 721–731, 22 maio 2024.

SAMAL, A.; CHOUDHURY, S. DAS. **Intelligent Image Analysis for Plant Phenotyping**. [s.l.] CRC Press, 2020.

SANO, Y. Bordered Pit Structure and Cavitation Resistance in Woody Plants. In: **Secondary Xylem Biology**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 113–130.

SCAFETTA, N. Impacts and risks of “realistic” global warming projections for the 21st century. **Geoscience Frontiers**, v. 15, n. 2, p. 101774, 11 maio 2024.

SCHEIBER, LUKAS; SCHOHER, J. **Water and Solute Permeability of Plant Cuticles**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2009.

SCHUSTER, A.-C.; BURGHARDT, M.; RIEDERER, M. The ecophysiology of leaf cuticular transpiration: are cuticular water permeabilities adapted to ecological conditions? **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 19, p. 5271–5279, 11 jul. 2017.

SINCLAIR, T. R.; LUDLOW, M. M. Who Taught Plants Thermodynamics? The Unfulfilled Potential of Plant Water Potential. **Functional Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 213–213, 1985.

SKELTON, R. P. et al. Gas exchange recovery following natural drought is rapid unless limited by loss of leaf hydraulic conductance: evidence from an evergreen woodland. **New Phytologist**, v. 215, n. 4, p. 1399–1412, 28 jul. 2017.

- SLOT, M. et al. Large differences in leaf cuticle conductance and its temperature response among 24 tropical tree species from across a rainfall gradient. **New Phytologist**, v. 232, n. 4, p. 1618–1631, 11 jul. 2021.
- SMITH, R. F. A History of Coffee. In: **Coffee**. Boston, MA: Springer US, 1985. p. 1–12.
- STEIGER, D. et al. AFLP analysis of genetic diversity within and among *Coffea arabica* cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, n. 2, p. 209–215, 21 maio 2002.
- STOFFELEN, P. et al. A New Species of *Coffea* (Rubiaceae) and Notes on Mount Kupe (Cameroon). **Kew Bulletin**, v. 52, n. 4, p. 989, 22 maio 1997.
- STRÍKIS, N. M. et al. Modern anthropogenic drought in Central Brazil unprecedented during last 700 years. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 1728, 26 fev. 2024.
- THURBER, F. B. **Coffee: From Plantation to Cup; a Brief History of Coffee Production and Consumption (Classic Reprint)**. [s.l.] Forgotten Books, 1889.
- TORRES, G. A. L. et al. *Coffea arabica* L: History, phenology and climatic aptitude of the state of São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 88, 21 maio 2021.
- TRAILL, L. W. et al. Mechanisms driving change: altered species interactions and ecosystem function through global warming. **Journal of Animal Ecology**, v. 79, n. 5, p. 937–947, 11 maio 2010.
- TYREE, M. T.; HAMMEL, H. T. The Measurement of the Turgor Pressure and the Water Relations of Plants by the Pressure-bomb Technique. **Journal of Experimental Botany**, v. 23, n. 1, p. 267–282, 19 jun. 1972.
- UKERS, W. H. **All About Coffee**. [s.l.] DigiCat, 2022.
- WANG, C. et al. The Smaller the Leaf Is, the Faster the Leaf Water Loses in a Temperate Forest. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 4 fev. 2019.
- WANG, S. et al. Water loss after stomatal closure: quantifying leaf minimum conductance and minimal water use in nine temperate European tree species during a severe drought. **Tree Physiology**, v. 44, n. 4, 2024.
- WOLFE, B. T. Bark water vapour conductance is associated with drought performance in tropical trees. **Biology Letters**, v. 16, n. 8, p. 20200263, 13 maio 2020.
- YIN, X. et al. Evaluating a new method to estimate the rate of leaf respiration in the light by analysis of combined gas exchange and chlorophyll fluorescence measurements. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 10, p. 3489–3499, 28 jul. 2011.

YUYAMA, P. M. et al. Transcriptome analysis in *Coffea eugenioides*, an Arabica coffee ancestor, reveals differentially expressed genes in leaves and fruits. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 291, n. 1, p. 323–336, 2016.

ZAILAA, J.; SCOFFONI, C.; BRODERSEN, C. R. Stomatal closure as a driver of minimum leaf conductance declines at high temperature and vapor pressure deficit in *Quercus*. **Plant Physiology**, v. 197, n. 1, 23 dez. 2024.

ZANDALINAS, S. I.; FRITSCHI, F. B.; MITTLER, R. Global Warming, Climate Change, and Environmental Pollution: Recipe for a Multifactorial Stress Combination Disaster. **Trends in Plant Science**, v. 26, n. 6, p. 588–599, 2021.