

# Prolina em Cafeeiros Submetidos à Déficit Hídrico<sup>1</sup>

P. Mazzafera\*, J.P.F. Teixeira\*\*

## ABSTRACT

Seedlings of two *Coffea arabica* genotypes (Catuai and BA-10 C1110-10) presenting different drought tolerance levels were submitted to controlled water stress conditions. Leaf area, relative root surface, root and shoot dry weight, transpiration rate and proline content of 2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup>, and 4<sup>o</sup> leaf pairs, from the apex, were evaluated. C1110-10 seedlings presented higher leaf area, relative root surface, root and shoot dry weight than Catuai seedlings, but had a lower transpiration rate. In both genotypes, the 2<sup>o</sup> leaf pair had a higher proline content. Although proline levels increased with increased water deficit, it was not possible to distinguish between the two coffee seedlings based on this parameter. Proline accumulation seemed to be related to injury imposed by water stress.

## RESUMO

Mudas de um ano e meio uma introdução da Índia (BA-10 C1110-10) e um cultivar (Catuai) de *Coffea arabica* L., diferindo quanto a tolerância à seca, foram submetidas a condições controladas de déficit hídrico. Avaliou-se a área foliar, superfície relativa da raiz, peso seco de raiz e parte aérea, transpiração e teor de prolina no 2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> par de folhas, a partir do ápice da planta. A introdução C1110-10 apresentou maior área foliar, superfície relativa de raiz, peso seco de raiz e parte aérea do que o Catuai, porém, teve menor taxa de transpiração. Para ambos genótipos, o segundo par de folhas foi o que mostrou maiores valores para prolina. Apesar de ter sido observado aumento do teor do aminoácido a medida que desenvolveu-se o estresse hídrico, o mesmo não diferenciou as mudas de café quanto a sua capacidade de suportar à falta de água no solo. O acúmulo do aminoácido pareceu estar relacionado à injúria provocada pelo estresse.

## INTRODUÇÃO

Algumas plantas quando submetidas à falta de água tendem a aumentar o teor do aminoácido prolina em seus tecidos, (6, 12, 13), motivo pelo qual se tem atribuída a existência de uma relação entre o seu acúmulo e a sobrevivência de plantas sob estresse hídrico (2). Tendo a prolina alta solubilidade, supôs-se que durante a ocorrência de um déficit hídrico, a mesma assume importância como fornecedora de nitrogênio e fonte de carbono (7).

Diante disto, a prolina tem sido estudada com a finalidade de se conhecer as respostas das plantas à falta de água e sua possível aplicação como parâmetro de seleção em plantas (5, 8, 12). Entretanto, a correlação entre tolerância à seca e teor de prolina pode não ocorrer (1) e isto pelo fato de que o potencial de acúmulo deste aminoácido talvez esteja diretamente, e simplesmente, relacionado com a diminuição de água nos tecidos (4).

O presente trabalho teve por objetivo a observação da variação do conteúdo de prolina em folhas de mudas de café submetidas a estresse hídrico, a fim de se averiguar a possibilidade de uso deste aminoácido como parâmetro de seleção de cafeeiros tolerantes à seca, já que sua determinação permite avaliar, rapidamente, um grande número de plantas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas mudas de ano e meio de idade, da introdução BA-10 C1110-10 da Índia e do Cultivar Catuai de *Coffea arabica*. Tais mudas estavam em estufa, plantadas em sacos plásticos contendo a mesma quantidade de substrato (1,5 kg de letossolo roxo). A primeira planta citada, considerada como tolerante, tem sido utilizada no programa de melhoramento do cafeeiro visando tolerância à seca desenvolvido pela Seção de Genética do IAC (9), e a segunda é um cultivar amplamente explorado comercialmente. As sementes que originaram tais plantas foram obtidas por autofecundação e as adubações foram realizadas apenas com fertilizantes químicos e sempre em igual quantidade para os dois genótipos de café.

Vinte e quatro mudas de cada tipo de café foram agrupadas em oito blocos de três plantas e regadas com água até a saturação do solo. Após a saída do excesso de água do substrato, o mesmo foi envolto

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 14 de junho 1988.  
Agradecimentos: Os autores são gratos à Seção de Genética do I.A.C., que cedeu o material vegetal para este trabalho e onde o mesmo foi conduzido parcialmente.

\* Universidade Estadual de Campinas, I.B., Depto. de Fisiologia Vegetal, C.P. 6109, Campinas, SP, CEP 13081.

\*\* Instituto Agrônomo de Campinas, Seção de Fitoquímica

por um saco plástico transparente, que foi fechado na parte superior com fita adesiva, junto ao caule da planta e a um pequeno tubo de 1 cm de diâmetro. Esperava-se com isto, permitir a continuidade entre o ambiente externo e aquele proporcionado pelo envolvimento do substrato com saco plástico transparente, de forma a eliminar o possível efeito tóxico do acúmulo de  $\text{CO}_2$  produzido pelas raízes

Após a rega todas as plantas do Catuai foram pesadas no 1º, 4º, 8º, 9º, 10º, 12º, 16º e 19º dia e do C1110-10 no 1º, 4º, 9º, 10º, 11º, 13º e 15º dia, conforme observou-se o desenvolvimento do estresse hídrico. A partir do 10º dia a frequência das pesagens foi determinada conforme o aspecto visual dos sintomas de murcha e o encerramento das mesmas deu-se quando a maioria das plantas de um determinado genótipo apresentava-se com as folhas perpendiculares ao chão e bastante flácidas.

Nos mesmos dias em que foram feitas as pesagens de todas as plantas, fez-se a amostragem do tecido foliar do segundo, terceiro e quarto pares de folhas para a dosagem de prolina. No 1º dia, somente três plantas de cada genótipo foram amostradas. No 4º dia foram amostradas as três plantas do 1º e mais outras três. No 8º dia, as plantas do 1º e 4º foram novamente amostradas e introduziu-se um novo grupo. Desta forma, a cada amostragem havia um novo grupo de três plantas e repetia-se tal procedimento nas mudas dos dias anteriores, sendo que assim, as plantas do 1º dia sofreram oito amostragens, as do 4º sete, do 8º seis e assim por diante, até que as plantas introduzidas no último dia sofreram apenas uma amostragem. Com a introdução a cada dia de um novo grupo de plantas pretendeu-se excluir a possibilidade da interferência do ferimento causado por uma amostragem anterior, do mesmo modo que com as contínuas amostragens em um mesmo grupo pretendeu-se acompanhar o desenvolvimento do estresse hídrico nas mesmas plantas.

Ainda, para atenuar o efeito dos ferimentos nas plantas que receberam contínua amostragem, feita com um furador de 0.5 cm de diâmetro, procedeu-se da seguinte forma (Fig. 1): Na primeira amostragem foram retirados três discos em linha próximo ao bordo de uma das folhas de cada par; na segunda amostragem os discos foram retirados da outra folha do par, próximo ao bordo; na terceira amostragem os discos foram retirados da mesma folha que sofreu a primeira amostragem, porém, do outro lado da nervura, próximo ao bordo; para a quarta amostragem procedeu-se da mesma maneira na folha oposta; na quinta amostragem foi utilizada, novamente, a folha da primeira, do lado também da primeira amostragem, mas, próxima à nervura central; e assim por diante.

Imediatamente à coleta dos discos, estes foram imersos em 5 ml da solução metanol: clorofórmio: água (12:5:1 v/v/v) e armazenados a  $-5^\circ\text{C}$ . A determinação de prolina foi efetuada de acordo com o método de Rena e Masciotti (11).

Após o término do estresse hídrico imposto as plantas foram regadas e, atingida a turgescência, coletou-se as folhas de cada planta, individualmente, e determinou-se com integrador (Hayashi Denko Co. L.T.D. AAm -5) a área foliar. Em seguida, as folhas foram secas, juntamente com o resto da parte aérea (caule e ramos laterais), em estufa a  $70^\circ\text{C}$  até peso constante. O segundo, terceiro e quarto pares de folhas tiveram a área foliar e o peso seco determinados individualmente para cada planta.

Conhecendo-se o peso seco e a área foliar de cada par de folha de cada planta pode-se calcular o peso seco de três discos, o que possibilitou o cálculo de teor de prolina com base em peso seco. Consequentemente, conhecendo-se a área e o peso seco de três discos, restaurou-se a área foliar total e o peso seco total de parte aérea de cada planta, como também pode-se calcular a área foliar de cada planta a cada amostragem. Portanto, a estimativa da transpiração para os intervalos entre cada retirada de amostras ou pesagem, foi feito em função desta área foliar reconstituída.

A superfície relativa do sistema radicular foi obtida pelo método titulométrico de Ramos e Lima (10),

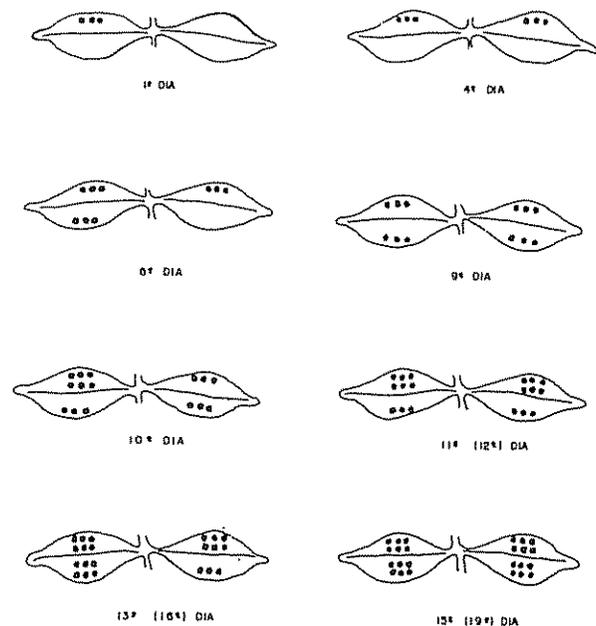


Fig. 1. Esquema para retirada de discos de pares de folhas durante as oito amostragens 1, 2, 3.

para em seguida ser determinado o peso seco em estufa a 70°C até peso constante

### RESULTADOS

Observando-se a Tabela 1 pode-se notar que as plantas de C1110-10 apresentaram maior área foliar, superfície relativa de raiz e peso seco de raiz e parte aérea. Nesta mesma tabela pode-se também observar que o total de água transpirada durante o experimento foi igual para os dois genótipos. A transpiração, calculada com base no total de água transpirada e área foliar total, foi maior no Catuaí

Devido ao fato das mudas estarem confinadas a recipientes com mesmo volume de solo, supondo-se assim que com igual volume água no início do experimento, a mesma quantidade de água transpirada poderia ser pela limitação imposta pelo volume de substrato. Desta forma, fez-se a análise estatística da quantidade de água transpirada e da transpiração no período entre o 1º dia e o 10º dia, quando as amostragens foram coincidentes em ambos tipos de café (Tabela 2). Observou-se que as plantas de C1110-10 perderam maior volume de água do que o Catuaí, confirmando a hipótese levantada anteriormente. No entanto, a transpiração do Catuaí ainda foi maior do

que a do C1110-10. Este maior volume transpirado de água poderia ser explicado pelo fato de que C1110-10 apresentou área foliar (1.8x), peso seco da parte aérea (1.75x), superfície relativa de raiz (1.31x) e peso seco de raízes (1.32x) maiores do que Catuaí, logo, maior superfície transpiração e de captação de água. Consequentemente, aliando-se isto à limitação do volume do solo, explica-se o porque das amostragens em C1110-10 terem sido feitas até o 15º dia, enquanto que em Catuaí elas se estenderam até o 19º dia.

A Tabela 3 apresenta os dados da análise de prolina no primeiro grupo de plantas (amostragens desde 1º dia), que sofreu oito amostragens. Em Catuaí, o segundo par de folhas foi o que mostrou valores significativamente maiores em prolina e apesar do teste F ter acusado diferenças entre os dias, o teste de Tukey 5% não diferenciou o 19º dia como o de valor mais alto em prolina. Para C1110-10 ocorreu o inverso, ou melhor, o 15º dia foi diferenciado estatisticamente e o segundo par de folhas não o foi pelo teste de Tukey 5%, apesar do maior valor em prolina. A comparação entre os dois genótipos, quanto ao teor de prolina no segundo par de folhas, não mostrou diferença entre eles.

Tabela 1. Área foliar (AF), superfície relativa de raiz (SRR), peso seco da parte aérea (PSPA), peso seco da raiz (PSR), total de água transpirada (AT), transpiração (T) em mudas de Catuaí e C1110-10<sup>1</sup>.

Dia de amostragem	Genótipo	AF <sup>2</sup> (cm <sup>2</sup> )	SRR (ml/OH)	PSPA (g)	PSR (g)	AT (g)	T <sup>3</sup> (gH <sub>2</sub> O/cm <sup>2</sup> /dia)
1º	C1110-10	993.11	27.20	12.02	5.47	443.33	0.0298
	Catuaí	451.18	13.90	7.23	5.28	351.67	0.0410
4º	C1110-10	1.004.83	27.27	9.51	4.43	420.00	0.0279
	Catuaí	802.82	22.77	12.35	7.80	448.33	0.0294
8º	C1110-10	914.85	30.10	10.95	5.02	366.67	0.0267
	Catuaí	681.13	19.50	9.55	6.73	443.33	0.0343
9º	C1110-10	1.252.55	37.30	14.28	7.58	390.67	0.0214
	Catuaí	688.75	13.93	8.36	5.33	385.00	0.0294
10º	C1110-10	1.201.71	23.87	15.07	6.92	420.00	0.0233
	Catuaí	538.16	20.83	4.97	3.28	431.66	0.0422
11º	C1110-10	1.127.88	22.10	12.61	5.63	428.33	0.0253
12º	Catuaí	661.92	17.47	5.85	2.95	386.67	0.0307
13º	C1110-10	1.169.03	22.27	13.21	5.47	415.00	0.0237
16º	Catuaí	714.21	30.03	7.14	3.55	428.33	0.0316
15º	C1110-10	1.290.26	22.20	15.61	8.12	430.00	0.0222
19º	Catuaí	428.92	23.27	3.69	1.97	368.33	0.0452
$\bar{x}$	C1110-10	1.119.28A	26.54A	12.91A	6.08A	414.25	0.0250B
$\bar{x}$	Catuaí	620.87B	20.21B	7.39B	4.61B	405.42	0.0355A
C1110/Catuaí		1.80	1.31	1.35	1.32	1.02	0.70

1 Média de 24 repetições

2 Letras diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5%.

3 A transpiração foi calculada com base na área foliar total e total de água transpirada

Tabela 2. Transpiração e água transpirada em Catuai e C1110-10 até o 10º dia<sup>1</sup>.

Grupo de <sup>2</sup> plantas	Genótipo	Transpiração <sup>3</sup>	Água transpirada
		(gH <sub>2</sub> O/cm <sup>2</sup> /dia)	(g)
1º	Catuai	0.0369	150.0
	C1110-10	0.0358	373.3
2º	Catuai	0.0406	280.0
	C1110-10	0.0308	340.0
3º	Catuai	0.0483	305.0
	C1110-10	0.0318	296.7
4º	Catuai	0.0444	273.3
	C1110-10	0.0291	356.7
5º	Catuai	0.0471	273.3
	C1110-10	0.0292	323.3
6º	Catuai	0.0368	250.0
	C1110-10	0.0310	345.0
7º	Catuai	0.0443	243.3
	C1110-10	0.0305	365.0
8º	Catuai	0.0444	296.7
	C1110-10	0.0236	376.7
$\bar{x}$	Catuai	0.0429 a	198.3 b
$\bar{x}$	C1110-10	0.0302 b	347.1 a
	C1110/ Catuai	0.70	1.8

1 Média 24 repetições

2 Cada grupo de plantas (3) corresponde a um dia de amostragem para prolina, assim, o grupo 1 corresponde ao 1º dia, grupo 2 ao 4º dia e assim por diante para cada genótipo

3 Letras diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5%

Em face às considerações feitas anteriormente quanto ao volume de água transpirada, decidiu-se, neste grupo de plantas, analisar estatisticamente o teor de prolina até o 10º dia. Para ambos tipos de café não foi observada diferença entre pares de folhas, assim como para dia de amostragem, evidenciando que os dados de prolina anteriormente citados, a respeito do segundo par de folhas e ao último dia de amostragem, foram originados pelo aumento da severidade do estresse hídrico após o 10º dia. A comparação entre Catuai e C1110-10 no período de dez dias também mostrou não ocorrer diferença em prolina no segundo par de folhas.

No esquema de amostragem realizado, a cada dia em que estas eram feitas era introduzido um novo grupo de três plantas. Portanto, os dados agora apresentados (Tabela 4) são referentes somente a primeira amostragem de cada grupo de plantas, excluindo-se possíveis influências dos fermentos feitos por amostragens anteriores, como pode ter ocorrido na análise das plantas do primeiro grupo, que sofreram oito amostragens.

Para pares de folhas em Catuai, o teste F foi significativo a 5%, mas o teste de Tukey 5% não evidenciou as diferenças. De qualquer modo, o segundo par de folhas apresentou o maior valor. No 16º dia foram encontrados os maiores valores em prolina, o que seria esperado para o 19º dia. Pode-se explicar isto observando-se na Tabela 1 que este último grupo de plantas apresentou os menores valores em área foliar e total de água transpirada, chegando ao final do experimento em melhor estado de hidratação que as do

Tabela 3. Teor de prolina no segundo (2F), terceiro (3F) e quarto (4F) pares de folhas de Catuai e C1110-10, correspondentes ao grupo que sofreu oito amostragens<sup>1</sup>.

Genótipo	Par de Folhas	Dias de Amostragem <sup>2</sup>									
		1	4	8	9	10	12	16	19	$\bar{x}$	
Catuai		(µmoles/g tecido seco)									
	2F	1.844	1.748	1.255	1.585	2.566	1.561	2.391	4.551	2.184A	
	3F	1.294	1.189	1.031	0.898	1.182	1.096	1.204	1.596	1.186B	
	4F	1.133	0.362	1.397	0.948	1.524	1.009	1.114	2.304	1.285B	
	$\bar{x}$	1.424	1.261	1.228	1.144	1.757	1.222	1.570	2.806	1.552	
		1	4	8	9	10	11	13	15	$\bar{x}$	
C1110-10		(µmoles/g tecido seco)									
	2F	1.288	1.799	1.804	2.532	1.743	2.515	4.207	14.468	3.794	
	3F	0.991	1.247	1.078	1.323	1.175	1.500	2.044	6.713	2.009	
	4F	1.060	1.103	1.135	1.587	1.147	1.410	2.425	8.641	2.313	
	$\bar{x}$	1.113b	1.383b	1.339b	1.814b	1.355b	1.808b	2.892b	9.941a	2.706	

1 Média de três plantas para os três pares de folhas

2 Letras maiúsculas diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% entre os pares de folhas de um mesmo genótipo e letras minúsculas entre dias em um mesmo genótipo.

Tabela 4. Teor de prolina no segundo (2F), terceiro (3F) e quarto (4F) pares de folhas de Catuaí e C1110-10, correspondendo cada dia à primeira amostragem de um determinado grupo de plantas<sup>1</sup>.

Genótipo	Par de folhas	Dias de Amostragem								
		1	4	8	9	10	12	16	19	$\bar{x}$
		( $\mu$ moles/g tecido seco)								
Catuaí	2F	1 844	0 762	1 494	0 574	0 830	1 074	2 459	2 211	1 406
	3F	1 294	0 872	1 018	0 748	0 588	0 727	2 290	1 486	1 128
	4F	1 133	0 799	1 055	0 647	0 273	0 792	1 914	1 042	0 957
	$\bar{x}$	1 424ab	0 811b	1 188ab	0 656b	0 564b	0 864ab	2 221a	1 580ab	1 164
		1	4	8	9	10	11	13	15	x
		( $\mu$ moles/g tecido seco)								
C111-10	2F	1 288	1 348	1 966	1 657	1 201	1 358	2 404	8 055	2 410
	3F	0 991	0 734	1 349	1 393	1 444	1 259	1 986	7 880	2 130
	4F	1 060	0 780	1 140	1 515	1 389	1 089	2 183	8 715	2 234
	$\bar{x}$	1 113b	0 954b	1 485b	1 522b	1 345b	1 235b	2 191b	8 217a	2 258

1 Média de três plantas para os três pares de folhas

2 Letras minúsculas diferentes indicam significância pelo teste de Tukey a 5% entre dias em um mesmo genótipo

grupo anterior. Isto é corroborado, ainda, observando-se a Tabela 5 e 6, que trazem, respectivamente, a transpiração e a média de água transpirada para cada intervalo de amostragem. Nota-se que o grupo de mudas de Catuaí que foi introduzido na última amostragem apresentava maior transpiração do que as plantas introduzidas no 16º dia, em um nível semelhante ao início do experimento. Quanto à água transpirada, observamos que as plantas do último grupo introduzido perdiam, também, mais água no intervalo do 12º ao 16º dia e do 16º ao 19º dia do que as do grupo que foi amostrada pela primeira vez no 16º dia.

Em C111-10 não foram constatadas diferenças significativas pelo teste F entre pares de folhas. Salientou-se na apresentação dos dados do primeiro grupo de plantas (Tabela 2) que a diferenciação entre pares de folhas era ocasionado pelo estresse hídrico, o qual era mais intenso nos dois últimos dias de amostragem (Tabela 3). Portanto, no presente caso as plantas de C111-10 atingiram a última amostragem com severo déficit hídrico, este sendo detectado visualmente, assim como pelos cálculos de transpiração (Tabela 5) e da água transpirada (Tabela 6) entre amostragens. Tais grupos de plantas de C111-10 (13º e 15º dia) praticamente não perderam água entre a penúltima e última amostragem, caindo a taxa de transpiração para valores médios próximos a 0 0060 gH<sub>2</sub>O/cm<sup>2</sup>/dia e a perda de água transpirada para 15 g. Com isto, os valores de prolina entre os pares de folhas tenderam a se igualar nos pares de folhas do último grupo amostrado. A comparação entre os valores de prolina no segundo par de folhas de C1110-10 e Catuaí não mostrou diferenças significativas.

Também referente aos dados da Tabela 4, analisou-se estatisticamente o teor de prolina até o 10º dia. Para Catuaí e C1110-10 não foram observadas diferenças significativas entre pares de folha, assim como também não se observou diferenças entre os genótipos quando comparados ao segundo par

De acordo com os resultados anteriores (Tabela 3 e Tabela 4), considerou-se que o segundo par de folhas seria o melhor para se analisar o teor de prolina e para diferenciar os dois genótipos estudados. Assim, com exceção das amostras das plantas que foram introduzidas logo no primeiro dia (Tabela 3) e das amostras que foram retiradas das plantas que sofriam a primeira amostragem (Tabela 4), todas as outras análises do teor de prolina foram feitas somente no segundo par de folhas. Desta forma, o primeiro grupo tinha oito dados por planta sobre prolina no segundo par de folhas, as do segundo grupo tinham sete, do terceiro seis e assim por diante até o último grupo que tinha apenas um dado por planta (Tabela 7). A comparação de todos estes valores entre Catuaí e C111-10 mostrou que o último genótipo diferia estatisticamente do primeiro ao nível de 5% pelo teste F. A comparação com os dados até o 10º dia não mostrou diferença entre os genótipos.

A correlação entre os teores de prolina contidos na Tabela 6 com os respectivos valores de transpiração do intervalo de amostragem (Tabela 5) indicou  $r = 0.20$  para Catuaí e  $r = -0.34$  para C111-10, mostrando a baixa correlação entre prolina e déficit hídrico, através da transpiração.

Tabela 5. Transpiração em Catuai e C1110-10 correspondente a cada intervalo de amostragem<sup>1</sup>.

Genótipo	Grupo de <sup>4</sup> plantas amostradas	Intervalo de Amostragem <sup>2</sup>								
		0-1	1-4	4-8	8-9	9-10	10-12	12-16	16-19	$\bar{x}$
		(gH <sub>2</sub> O/cm <sup>2</sup> /dia)								
Catuai	1	<u>0.0413</u>	0.0265	0.0318	0.0387	0.0460	0.0637	0.0488	0.0367	0.0417
	2	0.0346	<u>0.0258</u>	0.0347	0.0221	0.0350	0.0328	0.0336	0.0166	0.0274
	3	0.0449	0.0302	<u>0.0451</u>	0.0452	0.0397	0.0330	0.0229	0.0140	0.0343
	4	0.0480	0.0238	0.0349	<u>0.0404</u>	0.0301	0.0253	0.0204	0.0123	0.0294
	5	0.0628	0.0246	0.0494	<u>0.0333</u>	<u>0.0456</u>	0.0572	0.0374	0.0273	0.0422
	6	0.0373	0.0277	0.0401	0.0416	<u>0.0356</u>	<u>0.0310</u>	0.0202	0.0121	0.0307
	7	0.0345	0.0238	0.0497	0.0416	0.0391	0.0320	<u>0.0187</u>	0.0134	0.0316
	8	0.0427	0.0365	0.0440	0.0475	0.0513	0.0566	0.0470	<u>0.0360</u>	0.0452
	$\bar{x}$	0.0433	0.0274	0.0412	0.0388	0.0403	0.0415	0.0311	0.0211	0.0356
UR% <sup>3</sup>		64.0	75.3	67.5	54.7	73.3	60.4	64.9	43.3	
		(gH <sub>2</sub> O/cm <sup>2</sup> /dia)								
		0-1	1-4	4-8	8-9	9-10	10-11	11-13	13-15	$\bar{x}$
C1110-10	1	<u>0.0367</u>	0.0252	0.0518	0.0396	0.0345	0.0241	0.0114	0.0152	0.0298
	2	0.0316	<u>0.0238</u>	0.0467	0.0334	0.0276	0.0376	0.0103	0.0121	0.0279
	3	0.0422	0.0196	<u>0.0482</u>	0.0158	0.0350	0.0335	0.0068	0.0128	0.0267
	4	0.0363	0.0181	0.0348	<u>0.0331</u>	0.0220	0.0161	0.0045	0.0073	0.0214
	5	0.0338	0.0211	0.0348	0.0393	<u>0.0172</u>	0.0183	0.0097	0.0129	0.0234
	6	0.0302	0.0255	0.0319	0.0315	0.0231	<u>0.0337</u>	0.0113	0.0150	0.0253
	7	0.0372	0.0291	0.0355	0.0312	0.0230	0.0193	<u>0.0063</u>	0.0065	0.0235
	8	0.0221	0.0270	0.0406	0.0346	0.0219	0.0188	0.0050	<u>0.0076</u>	0.0222
	$\bar{x}$	0.0338	0.0237	0.0405	0.0323	0.0255	0.0252	0.0082	0.0112	0.0250
UR%		64.0	75.3	67.5	54.7	73.3	63.7	62.7	65.5	

1 Média de três repetições.

2 Nos dias em que há número sublinhado é quando deu-se início da amostragem para prolina no respectivo grupo de plantas.

3 Umidade relativa média durante os intervalos entre amostragens.

4 Cada grupo de plantas (3) corresponde a um dia de amostragem para prolina, assim, o grupo 1 corresponde ao 1º dia, o grupo 2 ao 4º e assim por diante para cada genótipo.

## DISCUSSÃO

Pelos dados apresentados evidenciou-se que no segundo par de folhas houve maior acúmulo de prolina, o que, provavelmente, se deve ao fato de que tais folhas sendo mais novas que as outras dos outros pares, ressentem-se mais sob déficit hídrico por serem drenos metabolicamente ativos dentro da planta. No entanto, observou-se que, dependendo da severidade do estresse imposto, é possível que o teor de prolina seja o mesmo nos três pares de folhas analisados (C1110-10 Tabela 4).

O acúmulo de prolina nas folhas de café somente ocorreu quando o estágio de déficit hídrico era avançado pois, comparando-se a perda de água transpirada,

a transpiração e o acúmulo do aminoácido no período em que houve coincidência de amostragem não foram observadas diferenças entre pares de folhas dentro de cada tipo de café, como também entre o teor de prolina no segundo par de folha entre os genótipos.

Waldren e Teare (14) e Waldren *et al* (15) observaram aumento do teor de prolina em folhas de soja somente quando as plantas foram submetidas a longo período de estresse hídrico, o que de certa forma parece ser semelhante ao ocorrido com Catuai e, principalmente, com C1110-10.

Hanson e Nelsen (3) sugeriram que o acúmulo de prolina seria um sintoma de injúria. Apesar de ter-se considerado que a prolina tem o papel de fonte de

Tabela 6. Quantidade média de água transpirada por dia em Catuaí e C1110-10, correspondente a cada intervalo de amostragem<sup>1</sup>.

Genótipo	Grupo de <sup>3</sup> plantas amostradas	Intervalo de Amostragem <sup>2</sup>								$\bar{x}$
		0-1	1-4	4-8	8-9	9-10	10-12	12-16	16-19	
		(g)								
Catuaí	1	<u>18,3</u>	35 0	60 0	16 7	20 0	53 3	75 0	40 0	39 0
	2	28 3	<u>71,7</u>	123 3	11 7	45 0	41 7	80 0	36 7	54 8
	3	28 3	61 7	<u>143,3</u>	45 0	30 0	53 3	58 3	26 7	55 8
	4	40 0	50 0	125 0	<u>38,3</u>	20 0	35 0	56 7	20 0	48 1
	5	38 3	41 7	126 7	18 3	<u>25,0</u>	63 3	75 0	40 0	53 5
	6	25 0	55 0	113 3	26 7	<u>23 3</u>	<u>68,3</u>	51 7	23 3	48 3
	7	30 0	51 7	141 7	45 0	31 7	48 3	<u>53,3</u>	30 0	54 0
	8	18 3	46 7	76 7	20 0	36 7	48 3	<u>78 3</u>	<u>43,3</u>	46 0
	$\bar{x}$	28 3	51 7	113 7	27 7	29 0	51 4	66 0	32 5	50 0
		0-1	1-4	4-8	8-9	9-10	10-11	11-13	13-15	x
		(g)								
C1110-10	1	<u>36,7</u>	73 3	203 3	28 3	31 7	23 3	20 0	26 7	55 4
	2	30 1	<u>71,7</u>	186 7	23 3	26 7	36 7	20 0	23 3	52 3
	3	38 3	51 7	<u>173,3</u>	11 7	28 3	28 3	10 0	21 7	45 4
	4	45 0	66 7	176 7	<u>41,7</u>	25 0	20 0	15 0	18 3	51 1
	5	36 7	68 3	158 3	41 7	<u>18,3</u>	20 0	20 0	26 7	48 8
	6	33 3	86 7	160 0	33 3	31 7	<u>33,3</u>	21 7	28 3	53 5
	7	43 3	95 0	165 0	36 7	25 0	20 0	<u>15,0</u>	15 0	51 9
	8	28 3	103 3	206 7	8 3	30 0	23 3	11 7	<u>18,3</u>	53 7
	$\bar{x}$	36 5	77 1	178 8	28 1	27 1	26 9	16 7	22 3	51 6

1 Média de três repetições.

2 No dia em que há número sublinhado, é quando deu-se o início da amostragem para prolina no respectivo grupo de plantas.

3 Cada grupo de plantas (3) corresponde a um dia de amostragem para prolina, assim, o grupo 1 corresponde ao 1º dia, o grupo 2 ao 4º e assim por diante para cada genótipo.

nitrogênio e carbono para a planta quando sob déficit hídrico (7), acredita-se que a contribuição deste aminoácido no transporte e fornecimento de nitrogênio parece ser pouco significativo, quando levada em consideração a reserva total de nitrogênio (6) e que o seu acúmulo seja ocasionado pela injúria imposta pelo estresse ao tecido (3).

Pela observação das Tabelas 5 e 6 podemos notar que a transpiração e a perda de água por transpiração em C1110-10 apresentava-se, praticamente, nas mesmas taxas nos dois últimos intervalos de amostragem. No entanto, supondo-se verdadeiro que o acúmulo de prolina seja indicativo de tolerância à seca os dados sobre o aminoácido apresentados nas Tabelas 3 e 4 são discordantes com os das Tabelas 5 e 6, pois seria esperado que já na penúltima amostragem ele estivesse em níveis semelhantes aos da última, no 15º dia. Ainda assim, poderia ser argumentado que o nível do déficit hídrico na última amostragem, ultrapassasse por demais a capacidade das plantas de C1110-10 to-

lerarem a falta de água no solo. Contra-argumenta-se então, que pela observação da Tabela 3, onde as plantas analisadas eram sempre as mesmas, os teores de prolina na última amostragem de Catuaí eram bastante semelhantes aos teores do penúltimo dia de amostragem do C1110-10 e que a quantidade de H<sub>2</sub>O transpirada em C1110-10 já era bem reduzida no 13º dia. Com isto acredita-se que o elevado teor de prolina na amostragem final de C1110-10, principalmente no caso da Tabela 4 onde foram igualados os valores entre os pares de folha, seja devido à injúria.

Segundo os dados sobre superfície relativa de raiz, peso seco de raiz e transpiração as mudas de C111-10 podem ser consideradas como possuidoras de características desejáveis em uma planta que deve tolerar a falta de água. Analisando-se somente o período em que as amostragens foram comuns aos dois genótipos, observou-se que C1110-10 mantinha, também, menor taxa de transpiração do que Catuaí. Neste período, C1110-10 teve maior perda de água por transpiração,

Tabela 7. Teor de prolina no segundo par de folhas em C1110-10 e Catuai nos vários dias de amostragens<sup>1</sup>.

Genótipo	Grupo de <sup>2</sup> plantas amostradas	Dias de Amostragem								
		1	4	8	9	10	12	16	19	$\bar{x}$
(μmoles/g tecido seco)										
Catuai	1	1 844	1 748	1 255	1 585	2 566	1 561	2 391	4 517	2 183
	2		0 762	0 426	0 511	1 319	1 491	2 517	7 258	2 041
	3			1 494	0 727	0 909	0 830	1 433	5 988	1 897
	4				0 574	1 476	1 157	2 104	7 991	2 660
	5					0 830	0 602	1 216	3 704	1 588
	6						1 074	1 922	6 600	3 199
	7							2 459	4 338	3 399
	8								2 211	2 211
	$\bar{x}$		1 844	1 255	1 058	0 849	1 420	1 119	2 006	5 577
(μmoles/g tecido seco)										
C1110-10	1	1 288	1 799	1 804	2 532	1 743	2 515	4 207	14 468	3 795
	2		1 348	0 989	1 071	1 707	2 024	4 189	6 027	2 479
	3			1 966	1 181	1 182	1 306	5 658	10 042	3 556
	4				1 657	0 828	1 616	4 418	16 008	4 905
	5					1 201	1 216	2 537	6 530	2 798
	6						2 126	2 306	3 963	2 798
	7							2 404	4 413	3 409
	8								8 055	8 055
	$\bar{x}$		1 288	1 574	1 586	1 610	1 332	1 801	3 674	8 688

1 Média de três repetições

2 Cada grupo de plantas (2) corresponde a um dia de amostragem para prolina, assim, o grupo 1 corresponde ao 1º dia, o grupo 2 ao 4º e assim por diante para cada genótipo.

o que explica-se, principalmente, pela maior área foliar do que pela maior captação de água do solo, devido ao desenvolvido sistema radicular, já que não foi estudada a eficiência das raízes na absorção de água. Considerando-se, ainda que o volume de substrato era limitado pode-se supor que, possivelmente, esta planta quando instalada em um sistema aberto (campo) suporte melhor a falta de água no solo. De acordo com Mazzafera e Carvalho (9), descendentes de hibridações entre esta introdução da Índia com cafeeiros Mundo Novo e Catuai têm mostrado boa produtividade e tolerância à seca, quando em condições de campo.

Portanto, estabelecido que Catuai e C1110-10 diferem realmente quanto a capacidade de suportar um estresse hídrico, pode-se concluir que o acúmulo de prolina não evidencia a capacidade que tais plantas têm em tolerar a falta de água no solo e sim, aparenta ser um sintoma de injúria. Sabendo-se que o programa de melhoramento do cafeeiro visando tolerância à seca desenvolvido pela Seção de Genética do IAC tem se baseado em parte na planta C1110-10, supõe-se, portanto, que a dosagem deste aminoácido não seria um bom parâmetro de seleção para cafeeiros tolerantes à seca.

#### LITERATURA CITADA

- BHASKARAN, S.; SMITH, R. H.; NEUTON, R. J. 1985. Physiological changes in cultured sorghum cells in response to induced water stress I. Proline. *Plant Physiology* 79:266-269.
- GREENWAY, H.; MUNNS, R. A. 1980. Mechanism of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 31:149-190.
- HANSON, A. D.; NELSEN, C. E. 1978. Betaine accumulation and <sup>-14</sup>C formate metabolites in water-stressed barley leaves. *Plant Physiology* 62:305-312.
- HANSON, A. D.; HINCKLEY, I. M.; BROWN, G. N. 1977. The effects of dehydration-rehydration cycles on protein synthesis of black locust seedlings. *Physiologia Plantarum* 40:1-5.

5. HANSON, A.D.; NELSEN, C.E.; PEDERSEN, A.R.; EVERSON, E.H. 1979a. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implications for breeding for drought tolerance. *Crop Science* 19:489-493
6. HANSON, A.D.; NELSEN, C.E.; TULLEY, E.R. 1979b. Proline accumulation in water stressed barley leaves in relation to translocation and the nitrogen. *Plant Physiology* 63:518-523
7. JAGER, H.J.; MEYER, H.R. 1977. Effect of stress on growth and proline metabolism of *Phaseolus vulgaris* L. *Oecologia* 30:83-96
8. MACHADO, R.C.R.; RENA, A.B.; VIEIRA, C. 1976. Efeito da desidratação osmótica no acúmulo de prolina livre em discos foliares de vinte cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) *Revista Ceres* (Viçosa) 23:302-309
9. MAZZAIERA, P.; CARVALHO, A. 1987. *Bragantia*, no prelo
10. RAMOS, L.C.S.; LIMA, M.M.A. DE. 1980. Avaliação da superfície relativa do sistema radicular de cafeeiros. *Bragantia* 39:1-5.
11. RENA, A.B.; MASCIOTTI, G.Z. 1979. Efeito do déficit hídrico sobre o metabolismo do nitrogênio e crescimento de quatro cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*). *Revista Ceres* (Viçosa) 23:288-301
12. SAWAZAKI, H.E.; TEIXEIRA, J.P.F.; D'ARTAGNAN DE ALMEIDA, L. 1981a. Estresse de água no crescimento, produtividade e acúmulo de prolina em feijão. *Bragantia* 40:157-166.
13. SAWAZAKI, H.E.; TEIXEIRA, J.P.F.; D'ARTAGNAN DE ALMEIDA, L. 1981b. Variação do teor de prolina em folhas de feijão em função da disponibilidade de água no solo. *Bragantia* 40:47-56.
14. WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. 1974. Free proline accumulation in drought-stressed plants under laboratory conditions. *Plant Soil* 40:689-692
15. WALDREN, R.P.; TEARE, I.D.; EHLER, S.W. 1974. Changes in free proline concentrations in sorghum and soybean plants under field conditions. *Crop Science* 14:447-450

## *Meloidogyne arabicida* sp.n. (Nemata: Heteroderidae) Nativo de Costa Rica: un Nuevo y Severo Patógeno del Cafeto<sup>1</sup>

R. López\*. I. Salazar\*

### ABSTRACT

*Meloidogyne arabicida* sp.n., a root-knot nematode causing the death of coffee trees in Juan Viñas, Costa Rica, is described and illustrated. Females have a peculiar perineal pattern and the medial lips divided by an indentation, while the males have a smooth cephalic region with a single annule and areolated lateral fields. Second-stage juveniles (J2) have a smooth cephalic region with a single annule, and a short and incomplete stria on the lateral sectors. Lateral lips are narrow and arched, and the rectum is dilated. *M. arabicida* sp.n. can be distinguished from the related *M. sugamiensis* by qualitative and quantitative characters of females, males and J2.

<sup>1</sup> Recibido para publicación el 13 de julio 1989.

\* Laboratorio de Nematología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica San José, Costa Rica. El primer autor es miembro del Programa Financiero de Apoyo a investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT). Los autores agradecen la ayuda técnica del señor Justo Azofeifa, de la señorita Karen Campos Briceño y de la Sra. Suria Sánchez.

### COMPENDIO

Se describe e ilustra el nematodo formador de nódulos radiculares en cafeto, *Meloidogyne arabicida* sp.n., encontrado en Juan Viñas, Costa Rica. Las hembras de esta nueva especie se caracterizan por tener un diseño perineal de forma peculiar y los labios medios separados por una indentación en el centro, mientras que los machos tienen una región cefálica lisa, con un sólo anillo y los campos laterales areolados. Los segundos estados juveniles (J2) tienen la región cefálica lisa, con un sólo anillo y una estria corta e incompleta en las porciones laterales; los labios laterales son angostos y levemente arqueados y el recto es dilatado. *M. arabicida* sp.n. puede ser distinguida de la especie cercana *M. sugamiensis* por características cualitativas y cuantitativas de las hembras, los machos y los J2.

### INTRODUCCION

En 1982 el Ing. Felipe Perlaza, en ese entonces con la Sección de Nematología del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, trajo a nuestro Laboratorio raíces de cafeto (*Coffea arabica* L.) cv. Caturra, colectadas en el distrito de Juan