

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Efeitos da aplicação de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* em plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob déficit hídrico

Raylla Pollyana Barbosa de Sousa
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

RAYLLA POLLYANA BARBOSA DE SOUSA

Efeitos da aplicação de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* em plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob déficit hídrico

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Fabio Murilo da Matta

Coorientador: Samuel C. Vitor Martins

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S725e
2026

Sousa, Raylla Pollyana Barbosa de, 1999-

Efeitos da aplicação de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* em plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob déficit hídrico / Raylla Pollyana Barbosa de Sousa. – Viçosa, MG, 2026.

1 dissertação eletrônica (46 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Vegetal, 2026.

Referências bibliográficas: f. 41-46.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.492>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Plantas - Reguladores. 2. Café - Crescimento - Efeito das mudanças climáticas. 3. Café - Resistência à seca. 4. Algas. I. DaMatta, Fábio Murilo, 1966-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 633.73899

RAYLLA POLLYANA BARBOSA DE SOUSA

Efeitos da aplicação de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* em plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob déficit hídrico

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2026.

Assentimento:

Raylla Pollyana Barbosa de Sousa
Autora

Fabio Murilo da Matta
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 27/08/2026 às 09:32:10 e pelo orientador em 27/08/2026 às 15:23:48. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **ZZQS.NURA.MMNE** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter permitido que tudo isso se tornasse realidade.

Aos meus pais, Antônio Pereira de Sousa e Vanilde Gonçalves Barbosa de Sousa, e minha irmã, Laylla Vitória Barbosa de Sousa, que sempre me estimularam e estiveram ao meu lado, me dando força para que mantivesse o foco e não desistisse, apesar da distância.

Ao meu amado esposo Michel Filiphy Silva Santos, que esteve ao meu lado todo esse tempo, por cada ajuda, conversa, apoio incondicional, incentivo, amor, companheirismo e por ter sido meu porto seguro em todos os dias dessa jornada.

Aos meus avós Erondina Gonçalves Barbosa e Orlando Moreira Barbosa que são grande inspiração para mim e às minhas primas Izabella Karolaine Moreira Barbosa da Silva e Izadora Moreira Barbosa da Silva que são verdadeiras irmãs.

Ao meu orientador, Fábio Murilo DaMatta, pela oportunidade, confiança, disposição, apoio, estímulo, além de todo conhecimento e paciência.

Ao meu coorientador, Samuel Vitor Cordeiro Martins, por todo conhecimento.

A todos meus professores do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal da UFV, por todo conhecimento, conversas e experiências que me proporcionaram.

Aos meus amigos Arielly, Karla e Maria Ignez por terem sido meus companheiros durante essa caminhada e possibilitado diversos momentos de descontração no decorrer do mesmo.

Aos guris, Carlos, Kleiton, Letícia, Thamara e Rudolf que me proporcionaram muitos momentos sinceros de alegria e muitas histórias boas para contar.

Aos meus colegas de laboratório, que sempre se fizeram presentes, agradeço pela amizade, oportunidades, companheirismo, ajudas e conhecimento.

À Universidade Federal de Viçosa, a mais linda do Brasil, por ter me possibilitado tamanha oportunidade de aprendizado.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Há força nas plantas que enfrentam o sol, o vento e a seca e ainda assim florescem.

RESUMO

SOUSA, Raylla Pollyana Barbosa de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2026. **Efeitos da aplicação de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* em plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob déficit hídrico.** Orientador: Fabio Murilo da Matta. Coorientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins.

As mudanças climáticas têm intensificado a frequência de secas, tornando-se um dos principais gargalos para a cafeicultura mundial. Diante desse cenário, o uso de bioestimulantes, como os extratos da alga marinha *Ascophyllum nodosum*, surge como uma estratégia potencial para mitigar estresses abióticos e promover o crescimento vegetal. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos fisiológicos do uso de um produto à base de extrato de *A. nodosum* (EA) no desenvolvimento de plantas de café (cv. IAC-44) e testar sua capacidade de mitigar os efeitos do déficit hídrico (DH). O experimento foi conduzido em casa de vegetação em Viçosa, MG, sob delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2: dois níveis de aplicação de EA (0 e 2 mL L⁻¹) e dois níveis de disponibilidade hídrica (bem irrigadas e déficit hídrico gradual). Após cinco meses de aplicações quinzenais do produto, o déficit hídrico foi imposto até que as plantas atingissem 10% da capacidade de campo (CC). Foram avaliados parâmetros hidráulicos, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, características de crescimento e feitas análises bioquímicas foliares e radiculares. Os resultados indicaram que o déficit hídrico foi o fator preponderante nas alterações fisiológicas, sobrepondo-se aos efeitos do bioestimulante. O potencial hídrico na antemanhã reduziu-se progressivamente sob seca, independentemente da aplicação de EA. Sob DH severo (10% CC), as taxas fotossintéticas líquidas, a condutância estomática e a transpiração foram drasticamente reduzidas nas plantas de todos os tratamentos. A aplicação de EA não evitou a queda no desempenho fotossintético e, em plantas bem irrigadas sob condições de 10% CC, o EA associou-se a uma menor eficiência no uso da água em paralelo a uma redução na fluorescência máxima. O uso de EA promoveu um incremento de 12% na área foliar total em plantas bem irrigadas, mas não alterou a massa seca total das plantas. Contrariamente ao esperado, as plantas tratadas com DH+EA apresentaram o menor desenvolvimento do sistema radicular, com reduções significativas no comprimento e área superficial das raízes em comparação com as plantas-controle. Bioquimicamente, a aplicação de EA elevou as concentrações de clorofilas totais e promoveu um acúmulo expressivo de aminoácidos e prolina (incremento de 244% e 348%, respectivamente) sob déficit hídrico, sugerindo um estímulo ao ajuste osmótico na parte aérea. Conclui-se que,

embora o extrato de *A. nodosum* promova melhoras bioquímicas e tendência de expansão da parte aérea, ele não possui ação efetiva na mitigação dos efeitos negativos do déficit hídrico em plantas de café nas condições experimentais deste estudo.

Palavras-chave: bioestimulante ; café ; *Coffea arabica* ; déficit hídrico ; extrato de alga ; fotossíntese

ABSTRACT

SOUSA, Raylla Pollyana Barbosa de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2026. **Effects of applying an *Ascophyllum nodosum* based biostimulant on coffee plants (*Coffea arabica* L.) under water deficit.** Adviser: Fabio Murilo da Matta. Co-adviser: Samuel Cordeiro Vitor Martins.

Climate change has increased the frequency of droughts, becoming a major bottleneck for global coffee production. Given this scenario, the use of biostimulants—such as extracts from the seaweed *Ascophyllum nodosum*—emerges as a potential strategy to mitigate abiotic stress and promote plant growth. This study aimed to evaluate the physiological effects of an *A. nodosum* extract (AE)-based product on the development of coffee plants (cv. IAC-44) and to test its ability to mitigate the effects of water deficit (WD). The experiment was conducted in a greenhouse in Viçosa, MG, using a completely randomized design in a 2 × 2 factorial arrangement: two AE application levels (0 and 2 mL L⁻¹) and two water availability levels (well-watered and gradual water deficit). After five months of fortnightly product applications, water deficit was imposed until the plants reached 10% of field capacity (FC). Hydraulic parameters, gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, and growth characteristics were evaluated, and biochemical analyses of leaves and roots were performed. The results indicated that water deficit was the dominant factor driving physiological changes, overriding the effects of the biostimulant. Predawn water potential decreased progressively under drought conditions, regardless of AE application. Under severe WD (10% FC), net photosynthetic rates, stomatal conductance, and transpiration were drastically reduced across all treatments. AE application did not prevent the decline in photosynthetic performance; furthermore, in plants subjected to 10% FC, AE treatment was associated with lower water-use efficiency alongside a reduction in maximum fluorescence. The use of EA resulted in a 12% increase in total leaf area in well-irrigated plants but did not alter total plant dry mass. Contrary to expectations, plants treated with DH+EA exhibited the least root system development, showing significant reductions in root length and surface area compared to control plants. Biochemically, EA application increased total chlorophyll concentrations and promoted a substantial accumulation of amino acids and proline (increases of 244% and 348%, respectively) under water deficit, suggesting a stimulation of osmotic adjustment in the shoot. It is concluded that, although *A. nodosum* extract promotes biochemical improvements and a tendency toward shoot expansion, it is not effective in mitigating the negative effects of water deficit on coffee plants under

the experimental conditions of this study.

Keywords: biostimulant ; coffea ; *Coffea arabica* ; photosynthesis ; seaweed extract ; water deficit

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A - taxa fotossintética líquida

AFE – área foliar específica

AFT – área foliar total

C - controle

CC - capacidade de campo

CER – comprimento específico de raízes

C_i - concentração interna de CO_2

$Chl\ a$ - clorofila a

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento

DH – déficit hídrico

DH + EA - déficit hídrico + extrato de algas

DTR – densidade total de raízes

E - taxa de transpiração

EA – extrato de algas

ETR - taxa de transporte de elétrons

EUA - eficiência do uso da água

F_m' - fluorescência máxima do tecido foliar adaptado à luz

F_s - estado estacionário de rendimento de fluorescência

F_v'/F_m' - eficiência do fotossistema II

F_0' - fluorescência inicial do tecido foliar adaptado à luz

FR – finura de raiz

g_s - condutância estomática

IAC – Instituto Agrônomo

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change

K_{planta} - condutância hidráulica da planta

MCs - mudanças climáticas

MSPA/MSR - razão de massa seca da parte aérea/massa seca de raiz

MST – massa seca total

NPQ - coeficiente de extinção não fotoquímica

PCA – análise dos componentes principais

PPFD - densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos

PSII - fotossistema II

q_p - coeficiente de extinção fotoquímica

RAF – razão de área foliar

RMC - razão de massa caulinar

RMF - razão de massa foliar

RMR - razão de massa radicular

T_m - transpiração da planta inteira no período da antemanhã ao meio-dia

α - absorvância foliar

β - reflete o particionamento de elétrons absorvidos entre os PSII e PSI

Φ_{PSII} - eficiência fotoquímica atual do PSII

Ψ_{am} - potencial hídrico de antemanhã

Ψ_{md} - potencial hídrico ao meio-dia

Ψ_p - potencial de pressão

Ψ_s - potencial osmótico

Ψ_w - potencial hídrico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	15
3.2. PARÂMETROS HIDRÁULICOS	17
3.3. TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A	17
3.4. CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO	18
3.5. ANÁLISES BIOQUÍMICAS E EXTRAVASAMENTO DE ELETRÓLITOS	18
3.6. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS	19
4. RESULTADOS	19
4.1. ALTERAÇÕES EM ψ_w FORAM AFETADAS APENAS PELA DEFICIÊNCIA HÍDRICA <i>PER SE</i> , SEM EFEITOS DA APLICAÇÃO DO EXTRATO DE ALGAS	19
4.2. EA NÃO É EFICIENTE SOB DÉFICIT HÍDRICO, ESPECIALMENTE EM CONDIÇÕES MAIS SEVERAS DE SECA	21
4.3. O USO DE EA POUCO AFETOU O CRESCIMENTO DAS PLANTAS	25
4.4. A APLICAÇÃO DE EA AUMENTOU CLOROFILAS E AMINOÁCIDOS SOB DÉFICIT HÍDRICO	30
4.5. ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS	33
5. DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

Estudos indicam que a concentração atmosférica de CO₂ ([CO₂]) pode chegar a 1000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ até o final do século, acompanhada de um aumento na temperatura global, de 1,7°C a 5,4°C, dependendo do cenário de emissão de gases de efeito estufa (IPCC, 2023; Lan & Keeling, 2024). Isso acarretará maior frequência de ondas de calor e alteração nos padrões de precipitação, levando a períodos de secas prolongadas e eventos de chuva intensa, além da ocorrência de eventos climáticos extremos de modo geral. Preveem-se que as mudanças climáticas (MCs) futuras intensifiquem a gravidade dos impactos tanto em sistemas naturais quanto agrícolas e ampliem as diferenças regionais, afetando a produção de alimentos (Abbass *et al.*, 2022). Há projeções de que as principais regiões de cultivo atuais sejam afetadas, comprometendo a produtividade agrícola, sua sustentabilidade e a segurança alimentar (IPCC, 2023). Dessa forma, são necessários estudos que avaliem estratégias que possam mitigar os efeitos das MCs nas culturas, permitindo a manutenção das espécies e a sua produção sustentável.

A seca é o maior gargalo na produção agrícola, em função de se tratar de um estresse multidimensional, envolvendo não somente o déficit hídrico *per se* mas, também, usualmente, alta irradiância solar e temperaturas elevadas (Gupta *et al.*, 2020). A água é essencial no metabolismo vegetal, por participar da constituição da planta e de processos que incluem a manutenção da turgescência e a expansão celular, reações químicas, regulação térmica e transporte de nutrientes. Fisiologicamente, as plantas modificam seu metabolismo para tolerar o déficit hídrico, por meio do fechamento parcial dos estômatos (redução na condutância estomática (g_s)) para reduzir a transpiração, o que provoca, também, menor captação de CO₂ e, conseqüentemente, menor taxa fotossintética líquida (A) (Bhattacharya & Bhattacharya, 2021; Brodribb *et al.*, 2021). Com uma menor concentração de CO₂ no cloroplasto, a fixação de carbono é reduzida, gerando um desbalanço energético, uma vez que intermediários formados na fase fotoquímica da fotossíntese não são utilizados adequadamente, resultando em energia excedente (Mittler *et al.*, 2022). Esse excesso pode favorecer a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS), que podem causar danos aos fotossistemas (PS) e, em conjunto com o excesso de luz, pode provocar fotoinibição e fotooxidação do aparelho fotossintético (Stirbet *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2023).

As plantas usualmente apresentam respostas morfológicas de aclimatação na tentativa de tolerar a escassez de água. Uma das respostas mais comuns é um maior desenvolvimento do sistema radicular, permitindo que a planta explore melhor o solo em busca de água e, por

extensão, de nutrientes (Gupta *et al.*, 2020). Por outro lado, é notório o aumento da abscisão foliar para reduzir a transpiração excessiva, que, por consequência, pode levar a uma redução adicional na razão parte aérea/raiz. Pode ocorrer também a síntese de substâncias que fazem reduzir a perda de água, como ceras, levando a um aumento da cutícula da folha e a suberização das raízes, devido à formação de súber (Lee *et al.*, 2009). Ouyang *et al.* (2020) encontraram que a suberização, a lignificação e o espessamento da endoderme de raízes de arroz aumentam, à medida que o déficit hídrico se intensifica.

O sistema hidráulico também pode sofrer alterações, como a redução do potencial hídrico (Ψ_w) em virtude da alteração de seus componentes, o potencial osmótico (Ψ_s) e/ou o potencial de pressão (Ψ_p). A redução regulada do Ψ_s se dá por meio do ajustamento osmótico, que consiste no acúmulo ativo de solutos, como glicina betaína, ácidos orgânicos e, principalmente, prolina, permitindo que a planta consiga reter (e absorver) mais água (Bhattacharya & Bhattacharya, 2021). Por outro lado, a redução do Ψ_p decorre de ajustamento elástico, expresso pela variação do módulo de elasticidade da parede celular, que, quando aumentado, reduz rapidamente o Ψ_w , para conservar o teor relativo de água (TRA). Sánchez-Blanco *et al.* (2009) descreveram que plantas de gerânio (*Pelargonium × hortorum*) aumentam o módulo de elasticidade da parede celular sob déficit hídrico progressivo (60% da capacidade de campo) e severo (40% da capacidade de campo), o que contribuiu para a perda de turgescência foliar com Ψ_w mais negativos mas com maior conteúdo de água.

O café é a bebida mais consumida no mundo depois da água, o que o torna uma *commodity* de importância mundial. É originário de ambientes sombreados de florestas da África, mas apresenta maiores produtividades a pleno sol, desde que não haja limitações hídricas à cultura (DaMatta, 2004). O Brasil é o maior produtor mundial de café, sendo Minas Gerais o estado responsável por mais da metade da produção do país, em sua maioria vinda de pequenos produtores, o que faz a cultura ter grande importância econômica e social (CONAB, 2024). Com efeito, pequenos produtores de café nessas regiões são muito vulneráveis às MCs, devido à sensibilidade da cultura a fatores como seca, calor e estresse luminoso (Bilen *et al.*, 2022; Chemuroa *et al.*, 2021; Dias *et al.*, 2024). O uso de sistemas de irrigação se reveste como uma importante medida mitigatória para contornar, pelo menos em parte, as consequências negativas desses estresses, entretanto a maioria dos produtores não tem condições de investir nesses sistemas, devido ao elevado custo. Por outro lado, o uso de cultivares que conseguem absorver água em camadas mais profundas do solo seria uma alternativa, bem como o sombreamento e o cultivo em sistemas agroflorestais, por melhorar o microclima, a diversidade do sistema e a

microbiota do solo, contribuindo para a sustentabilidade do cultivo frente às MCs (Koh *et al.*, 2020; Koutouleas *et al.*, 2022; Marçal *et al.*, 2021). Na fase de mudas, por exemplo, um sistema radicular mais bem formado poderá facilitar grandemente o pegamento da planta após o transplântio, na medida em que raízes mais desenvolvidas permitiriam uma maior capacidade de exploração do solo em busca de água, aumentando indiretamente a rustificação da planta no ambiente de campo, que é muito mais estressante que as típicas condições amenas de viveiros. Nesse contexto, o melhor pegamento das mudas reduziria sobremodo os prejuízos aos agricultores devido aos custos de replântio (Hankin *et al.*, 2024). Portanto, faz-se necessário o estudo de alternativas que mitiguem os efeitos da seca sobre o desenvolvimento inicial de plantas de café, permitindo a manutenção de um melhor *status* hídrico e tolerância à falta d'água.

Diante das MCs e todas as questões ambientais envolvidas, a emergência de produtos bioestimulantes pode ser uma alternativa na busca de práticas de cultivo mais sustentáveis (Li *et al.*, 2022). São produtos de base orgânica, geralmente adicionados de nutrientes, com a finalidade de promover o crescimento das plantas, por estimular processos vegetais naturais (Valverde-Lucio *et al.*, 2020), bem como permitir que a planta consiga tolerar estresses abióticos e, assim, resultando numa melhor performance. Podem ser sintetizados a partir de aminoácidos e proteínas hidrolisadas, substâncias húmicas, microrganismos, inóculos e extratos de algas. Hareem *et al.* (2024) relataram que o uso de ácido flúvico, *biochar* (carvão vegetal) de resíduos de manga e cobalto em diferentes concentrações e combinações melhorou características agrônômicas, fisiológicas e nutricionais, contribuindo para mitigar o estresse hídrico em plantas de pimenta (*Capsicum annuum* L.). Valverde-Lucio *et al.* (2020) encontraram que o uso dos bioestimulantes Humega®, Evergreen™, Starlite® e micorriza (Gomes-Júnior *et al.*, 2025) na produção de mudas de café trouxe mais benefícios fisiológicos às plantas em comparação ao uso de ureia, que apenas promoveu a suplementação de nitrogênio.

Os extratos de algas, em particular, são biofertilizantes orgânicos, produzidos a partir de algas marinhas e compostos de nutrientes (macro e micro), aminoácidos, oligossacarídeos e hormônios vegetais, podendo haver alterações de composição a depender da espécie utilizada da alga, bem como a forma de produção do extrato. As respostas das plantas ao uso de extrato de algas podem variar em conforme a metodologia usada na aplicação, como também podem ser influenciadas por dosagem, espécie cultivada, idade da planta, estação, localização e outros fatores. Apesar de não ter um mecanismo de ação definido, o uso de extrato de algas pode melhorar a fertilização, o crescimento da parte aérea e a das raízes da planta, estimular a germinação de sementes e melhorar a resistência a agentes patogênicos, tolerância a estresses

abióticos e poluentes de solo (Abdullahi *et al.*, 2021). Chacón-Villalobos *et al.* (2021) constataram que o uso do extrato da alga *Ascophyllum nodosum* em plantas adultas de café estimulou a floração, a maturação e o rendimento. Além disso, Moreira e Almeida (2021) verificaram que o uso de fertilizante combinado com o extrato de *A. nodosum* melhorou o desenvolvimento dos sistemas aéreo e radicular em plantas de café. Apesar dessas informações, não há registros da avaliação de parâmetros fisiológicos e de potenciais mecanismos que possam justificar tais incrementos, ou ainda como seria o desenvolvimento inicial de plantas de café sob déficit hídrico tratadas com esse tipo de extrato.

Diante do exposto, faz-se necessário entender melhor sobre como o uso de produtos bioestimulantes podem influenciar o desenvolvimento de plantas jovens de café, para aferir se esses produtos são capazes de promover uma melhor aclimação das plantas às condições estressantes e também um melhor desempenho pós-plantio, bem como possíveis mecanismos fisiológicos envolvidos. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos fisiológicos do uso de um produto com base de extrato da alga *A. nodosum* no desenvolvimento inicial de plantas de *C. arabica* e ainda testar se o produto pode mitigar efeitos do déficit hídrico nessas plantas. A hipótese do trabalho é de que o extrato de algas é capaz de promover ajustes fisiológicos capazes de melhorar o desempenho das plantas e atenuar os efeitos negativos do déficit hídrico durante o seu desenvolvimento inicial.

2. OBJETIVOS

Avaliar os possíveis efeitos fisiológicos e de crescimento associados ao uso de um produto com base de extrato da alga *A. nodosum* no desenvolvimento inicial de plantas de *C. arabica* e a potencial capacidade desse produto em mitigar efeitos do déficit hídrico nessas plantas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°15'W, 650 m de altitude), sudeste do Brasil, na casa de vegetação do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa. Foram selecionadas 48 mudas de café da cultivar IAC-44 (*C. arabica* cv 'Catuaí Vermelho') com base em uniformidade e vigor. Ao atingirem o 4º par de folhas verdadeiras

totalmente expandidas, foram aplicados 50 mL de solução de produto bioestimulante à base de extrato de algas marinhas (*A. nodosum*), na dose 2 mL L⁻¹ no torrão de cada muda. Após 3 dias, as plantas foram transplantadas para vasos de 12 L contendo uma mistura de solo e areia na proporção 3:2 (v/v), com pH previamente corrigido para 6.0 conforme a análise de solo e foi feita a adubação de plantio com adubo formulado 04-14-08. O produto bioestimulante foi pulverizado nas plantas, até o ponto de corrimento, de modo que a calda cobrisse bem a folha, em intervalos de 15 a 20 dias durante 5 meses, na concentração 2 mL L⁻¹. Foram realizadas, semanalmente, adubação com solução nutritiva de Hoagland com uma força (100%) (Hoagland and Arnon, 1938) e, quinzenalmente, com 1 g de sulfato de amônio por planta. Foram mantidos os tratos culturais, incluindo controle de pragas e doenças, de acordo com as recomendações para a cultura do café. O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, com variação natural da umidade do ar, temperatura e da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos. Após 5 meses do transplântio, metade das plantas de cada tratamento foi mantida sob capacidade de campo (CC), enquanto a outra metade foi submetida a um déficit hídrico progressivo e controlado. Nas plantas sob seca, o estresse foi imposto pela suspensão da irrigação até que a umidade do substrato diminuísse para 40% da CC, nível que foi mantido por 20 dias, seguido por reduções sucessivas para 25% da CC (20 dias) e 10% da CC (30 dias), até que as plantas apresentassem sintomas de murcha em folhas em expansão na antemanhã. A umidade do substrato foi monitorada periodicamente utilizando-se uma curva de retenção de água, conforme descrito anteriormente (Cavatte et al., 2012).

As análises fisiológicas e hidráulicas foram realizadas ao final de cada nível de déficit hídrico anteriormente citado, em folhas totalmente expandidas no terceiro ou quarto par de ramos plagiotrópicos no terço médio da planta. A coleta de material vegetal para análises bioquímicas foi realizada ao final do nível de 10% da CC, ao meio-dia. Ao final do experimento, as raízes foram lavadas e, em seguida, foi coletado 0,5 g de raiz para as análises bioquímicas. Posteriormente, as raízes foram secas em papel toalha para remoção do excesso de água e armazenadas em saquinhos de papel alumínio. O material foliar e radicular amostrado foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado em ultra freezer a -80°C, até o início das análises. Foram realizadas medidas destrutivas para as análises de crescimento vegetativo de parte aérea e raízes. O restante das raízes foi armazenado em álcool aquoso a 70% para as análises morfológicas no WinRhizo ® e secas em estufa a 70°C, durante 72 h, para avaliação da biomassa radicular.

3.2. Parâmetros hidráulicos

No final de cada nível de umidade do solo supradescrito, as folhas foram coletadas e mantidas em sacos zip lock contendo toalhas de papel umedecidas por 5 min. Em seguida, o potencial hídrico (Ψ_w) foi medido na antemãhã (Ψ_{am}) e ao meio-dia (Ψ_{md}), utilizando-se de uma câmara de pressão tipo Scholander (Modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA), conforme descrito por Avila *et al.* (2020). No final do experimento (10% da CC), a transpiração da planta inteira foi calculada como a diferença de peso dos vasos entre o amanhecer e o meio-dia (T_m) usando uma balança de precisão de 0,1 g. A condutância hidráulica da planta (K_{planta}) foi calculada de acordo com a equação $K_{planta} = T_m / (\Psi_{am} - \Psi_{md})$ expresso como $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$.

3.3. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Ao final de cada período preestabelecido do déficit hídrico, foram medidos os parâmetros de trocas gasosas [A , g_s , concentração interna de CO_2 (C_i) e taxa de transpiração (E)] usando-se um analisador de gás infravermelho portátil (modelo LI-6400XT, Li-COR Biosciences INC., Nebraska, EUA) equipado com um fluorômetro (modelo LI-6400-406400-40, Lincoln, NE, EUA)]. As medições foram realizadas sob PPFD de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em nível da folha e a $430 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , entre 08:00-10:00 h (tempo solar) (DaMatta *et al.*, 2016).

Os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* foram medidos juntamente com os parâmetros de trocas gasosas. Inicialmente, com a folha adaptada ao escuro, foi aplicada uma iluminação vermelho-distante ($2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para medir a fluorescência inicial do tecido foliar adaptado ao escuro (F_0) e, em seguida, foi aplicado um pulso de luz saturante ($8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 0,8 s) para obter-se a fluorescência máxima (F_m). Em folhas adaptadas à luz, a fluorescência no estado estacionário (F_s) foi medida após os registros dos parâmetros de trocas gasosas e a fluorescência máxima (F_m') foi medida aplicando-se um pulso de luz actínica saturante ($8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 0,8 s). Utilizando-se os valores desses parâmetros, foram calculados a eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação do fotossistema (PS) II ($F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$), a eficiência fotoquímica atual do PSII ($\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s) / F_m'$), o coeficiente de extinção fotoquímica ($q_p = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_0')$) e o coeficiente de extinção não fotoquímica ($\text{NPQ} = (F_m - F_m') - 1$). A taxa de transporte de elétrons (ETR) foi calculada a partir da equação $\text{ETR} = \Phi_{PSII} \beta \alpha \text{PPFD}$, em que α é a absorvância foliar e β reflete o particionamento de elétrons absorvidos

entre os PSII e PSI (Maxwell & Johnson, 2000). Foi utilizado o produto $\alpha \beta$ determinado para café por Martins *et al.* (2014).

3.4. Características de crescimento

As avaliações de crescimento foram realizadas mensurando-se a altura da planta e o diâmetro do caule, utilizando-se uma régua graduada e um paquímetro, respectivamente. A área foliar total (AFT) foi medida usando-se as dimensões máximas de comprimento e largura das folhas (Antunes *et al.*, 2008). Ao final do experimento, foram realizadas medidas destrutivas, onde todas as folhas foram coletadas e tiveram sua área mensurada por meio de um medidor de área foliar de mesa (LI-3100C, Nebraska, USA). A parte aérea das plantas foi segmentada, acondicionada em sacolas de papel e submetida à secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 70°C, durante 72 h, para determinar suas respectivas massas secas e razões de biomassa, de acordo com Avila *et al.* (2020).

As raízes foram lavadas e armazenadas em álcool hidratado (70%, v/v) para posterior avaliação morfológica utilizando-se o sistema informatizado WinRhizo Pro 2007a (Regent Instruments, Sainte-Foy, QC, Canadá). Foram mensurados o comprimento total de raiz, diâmetro médio de raiz, volume total de raiz, área total de superfície de raízes, o comprimento, a área superficial e o volume por classes de diâmetro (0 - 4,5 mm). Após as avaliações, as raízes foram secas a 70°C, durante 72 h, quantificando-se, então, a biomassa radicular para, subsequentemente, determinarem-se as razões de biomassa e sua partição nas plantas (Gomes-Júnior *et al.*, 2025).

3.5. Análises bioquímicas e extravasamento de eletrólitos

As amostras foliares e radiculares foram liofilizadas a -48°C e maceradas em moinho de bolas. Foram feitas alíquotas de aproximadamente 10 mg de material às quais foi adicionado metanol puro para a extração dos metabólitos desejados. A mistura foi aquecida a 70°C, por 30 min e, em seguida, centrifugada (16.200 g, 5 min, 4°C). Foram quantificadas as concentrações de clorofilas, carotenoides, hexoses (glicose e frutose), sacarose, aminoácidos totais e prolina no sobrenadante, enquanto amido e proteínas foram quantificados no pellet, de acordo com o descrito por Praxades *et al.* (2006) e Ronchi *et al.* (2006).

Foram retirados 12 discos foliares (com área de 0,95 cm² cada) por repetição, lavados e acondicionados em frascos de filtragem contendo 20 mL de água desionizada. Os discos foram condicionados a 25°C, por 12 h e, então, foi mensurada a condutividade inicial do meio com um condutivímetro (modelo CD-4301 Lutron, Taipei, Taiwan). Em seguida, as amostras foram

aquecidas a 90°C, por 2 h, em estufa de secagem e, após resfriamento, foi mensurada a condutividade final. O extravasamento de eletrólitos foi expresso como a porcentagem de condutividade em relação à condutividade total (Scott-Campos *et al.*, 2019).

3.6. Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi instalado e analisado de acordo com o delineamento inteiramente casualizado. Foram testadas quatro combinações de tratamentos, sendo dois níveis de aplicação do extrato de algas (0 e 2 mL L⁻¹) e dois níveis de disponibilidade de água (bem irrigadas e déficit hídrico), configurando um fatorial 2 x 2, com 7 repetições por tratamento. Dessa forma, os tratamentos foram: Controle (C), Extrato de algas (EA), Déficit Hídrico (DH) e Déficit Hídrico + Extrato de algas (DH+EA) e os níveis de avaliação foram quando as plantas estavam em 40, 25 e 10% da CC. As análises estatísticas foram realizadas com o *software* Jamovi, versão 2.4 (Fox & Weisberg (2020); R Core Team, 2022; The jamovi Project, 2023). Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk com posterior análise de variância (ANOVA); diferenças significativas entre médias dos tratamentos foram determinadas por meio do teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para dar uma ideia global dos dados que apresentaram diferenças estatísticas foi feita uma análise dos componentes principais (PCA), previamente padronizado com cálculo de correlações de Pearson. Foram feitas duas PCAs, a primeira com os resultados obtidos nos níveis 40% e 25% de CC e a segunda no nível de 10% da CC. As PCAs foram realizadas utilizando o pacote “FactoMineR” no software Rstudio (Rstudio, 2019).

4. RESULTADOS

4.1. Alterações em Ψ_w foram afetadas apenas pela deficiência hídrica *per se*, sem efeitos da aplicação do extrato de algas

Conforme esperado, Ψ_{am} foi-se reduzindo com o aumento da severidade da deficiência hídrica, independentemente da aplicação do extrato de algas (Figura 1A). Em contraste, nem o déficit hídrico e tampouco o extrato de algas afetou Ψ_{md} até 25% da CC; contudo, sob 10% da CC, as plantas dos tratamentos DH e DH+EA exibiram valores mais negativos de Ψ_{md} quando comparadas às plantas dos tratamentos C e EA (Figura 1B). Somente plantas DH+EA tiveram a

T_m reduzida sob 10% da CC. Por outro lado, os tratamentos aplicados não afetaram significativamente e K_{planta} sob 10% da CC (Figura 1 C e D).

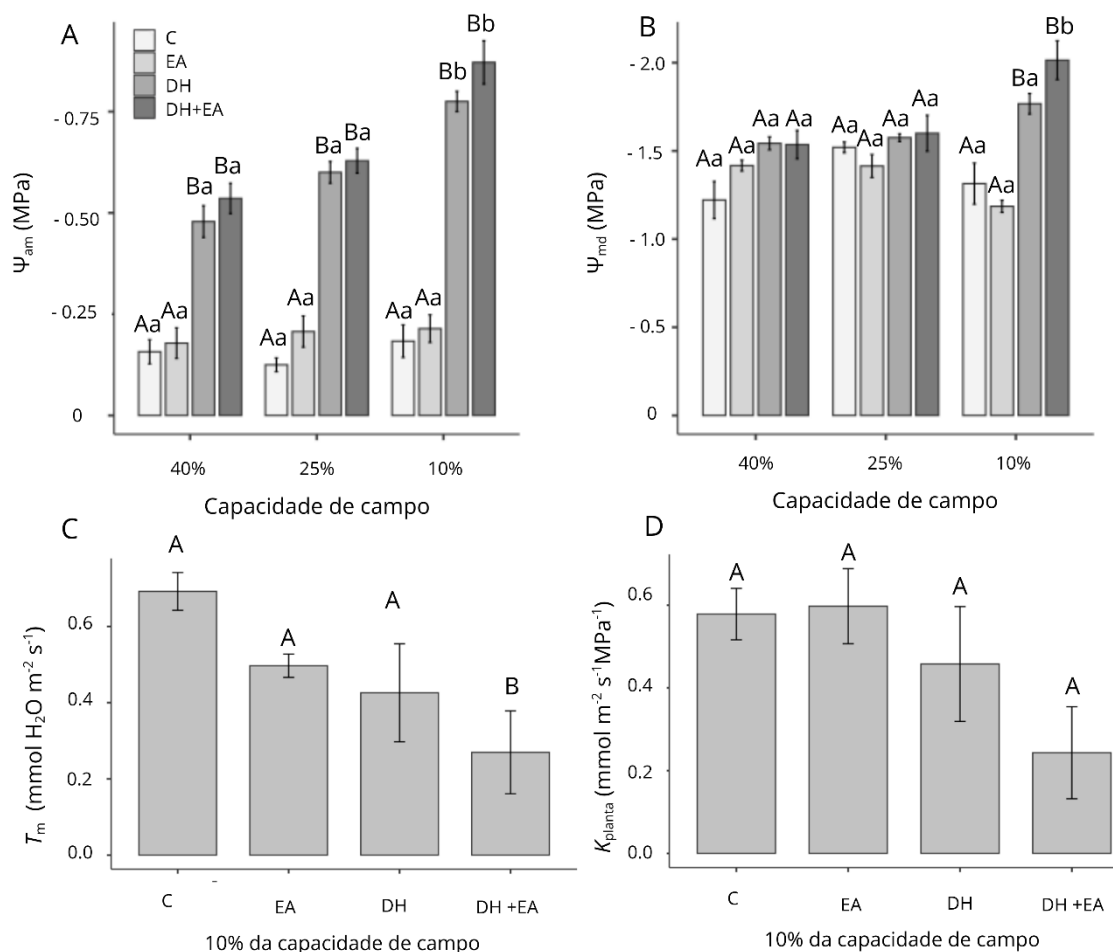


Figura 1. Efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 40, 25 e 10% da CC) e do uso de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café sobre o potencial hídrico na antemanhã (Ψ_{am}) (A) e ao meio-dia (Ψ_{md}) (B), além da transpiração da planta inteira no período da antemanhã ao meio-dia (T_m) (C) e da condutância hidráulica da planta (K_{planta}) (D), ambas medidas sob 10% da CC juntamente com os respectivos controles. C = controle; EA = extrato de algas; DH = déficit hídrico; DH+EA = déficit hídrico + extrato de algas. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos associadas à aplicação do extrato de algas, dentro de um mesmo nível de umidade do solo. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os níveis de umidade dentro de um mesmo tratamento de extrato de algas. (Teste de Tukey, $\alpha = 0,05$; $n = 6 \pm$ erro padrão).

4.2. EA não é eficiente sob déficit hídrico, especialmente em condições mais severas de deficiência hídrica

Os valores de A foram maiores nas plantas dos tratamentos C e EA, em comparação aos dos tratamentos com déficit hídrico, em todos os níveis de déficit avaliados (Figura 2A). A 10% da CC, as plantas dos tratamentos EA, DH e DH+EA apresentaram valores de A estatisticamente menores do que os observados nos outros níveis de déficit hídrico (Figura 2A).

A g_s foi reduzida em resposta à deficiência hídrica independentemente dos tratamentos aplicados, mas não diferiu significativamente das plantas-controle, nas plantas a 40% e 25% da CC (decréscimos de 19-34%) (Figura 2B). Sob 10% da CC, as plantas sob estresse apresentaram menores valores de g_s , com redução de 62% em plantas DH e de 66% na combinação DH+EA, quando comparadas às plantas-controle. Com relação a C_i , seus valores não diferiram entre plantas, independentemente dos tratamentos aplicados a 40% e 25% da CC; entretanto, em 10% da CC, observaram-se aumentos de C_i em EA e redução em DH+EA em relação aos valores observados nos níveis de 40% e 25% desses tratamentos (Figura 2C).

Os tratamentos aplicados não afetaram significativamente a EUA e a E nos níveis de 40% e 25% da CC. No entanto, sob 10% da CC, as plantas do tratamento EA apresentaram redução de 29% na EUA em relação aos controles, enquanto plantas do tratamento DH+EA tiveram aumento de 54% de EUA quando comparadas às plantas-controle (Figura 2D). Sob 10% da CC, plantas sem restrições hídricas que receberam aplicação de EA tiveram um aumento (12%) em E em comparação aos seus respectivos controles. Por outro lado, E foi reduzida (45-48%) em plantas dos tratamentos com restrições hídricas em comparação às plantas-controle, sob 10% da CC (Figura 2E). Os tratamentos aplicados não afetaram significativamente a R (Figura 2F).

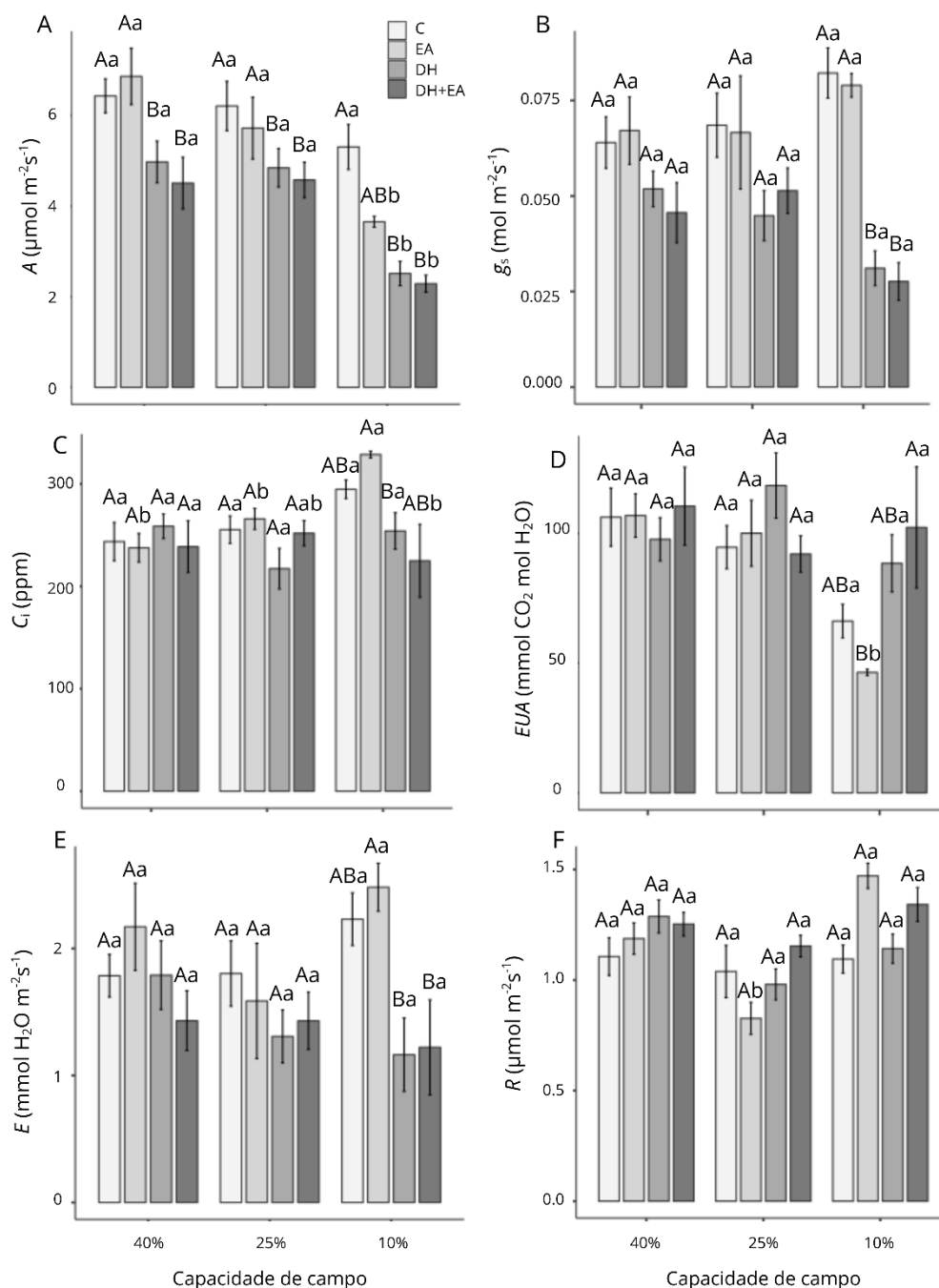


Figura 2. Efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 40, 25 e 10% da CC) e do uso de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café sobre a (A) taxa fotossintética líquida (A), (B) condutância estomática (g_s), (C) concentração interna de CO_2 (C_i), (D) eficiência do uso da água (EUA), (E) taxa de transpiração (E) e (F) taxa de respiração noturna (R). C = controle; EA = extrato de algas; DH = déficit hídrico; DH+EA = déficit hídrico + extrato de algas. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos associadas à aplicação do extrato de algas, dentro de um mesmo nível de umidade do solo. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os níveis

de umidade dentro de um mesmo tratamento de extrato de algas. (Teste de Tukey, $\alpha = 0,05$; $n = 6 \pm$ erro padrão).

Os tratamentos aplicados não afetaram os valores de F_v'/F_m' , F_v/F_m , Φ_{PSII} , ETR e NPQ a 40% e 25% da CC; contudo, a 10% da CC, plantas do tratamento EA apresentaram valores de F_v'/F_m' significativamente menores em relação aos dos demais tratamentos e, também, em comparação aos valores encontrados nessas plantas nos níveis de 40 e 25% da CC (Figura 3A). Os valores de F_v/F_m foram reduzidos nas plantas dos tratamentos C, EA e DH+EA sob 10% da CC, em relação àqueles observados sob 40% e 25% da CC (Figura 3B). Similarmente, Φ_{PSII} e a ETR foram reduzidas nas plantas-controle a 10% em comparação aos valores encontrados nos níveis de 40 e 25% da CC (Figura 3C e D). O NPQ foi reduzido nas plantas dos tratamentos C e EA a 10% da CC em comparação a 25% da CC (Figura 3F). Os tratamentos aplicados não afetaram os valores de q_p , independentemente dos níveis de déficit hídrico avaliados (Figura 3E).

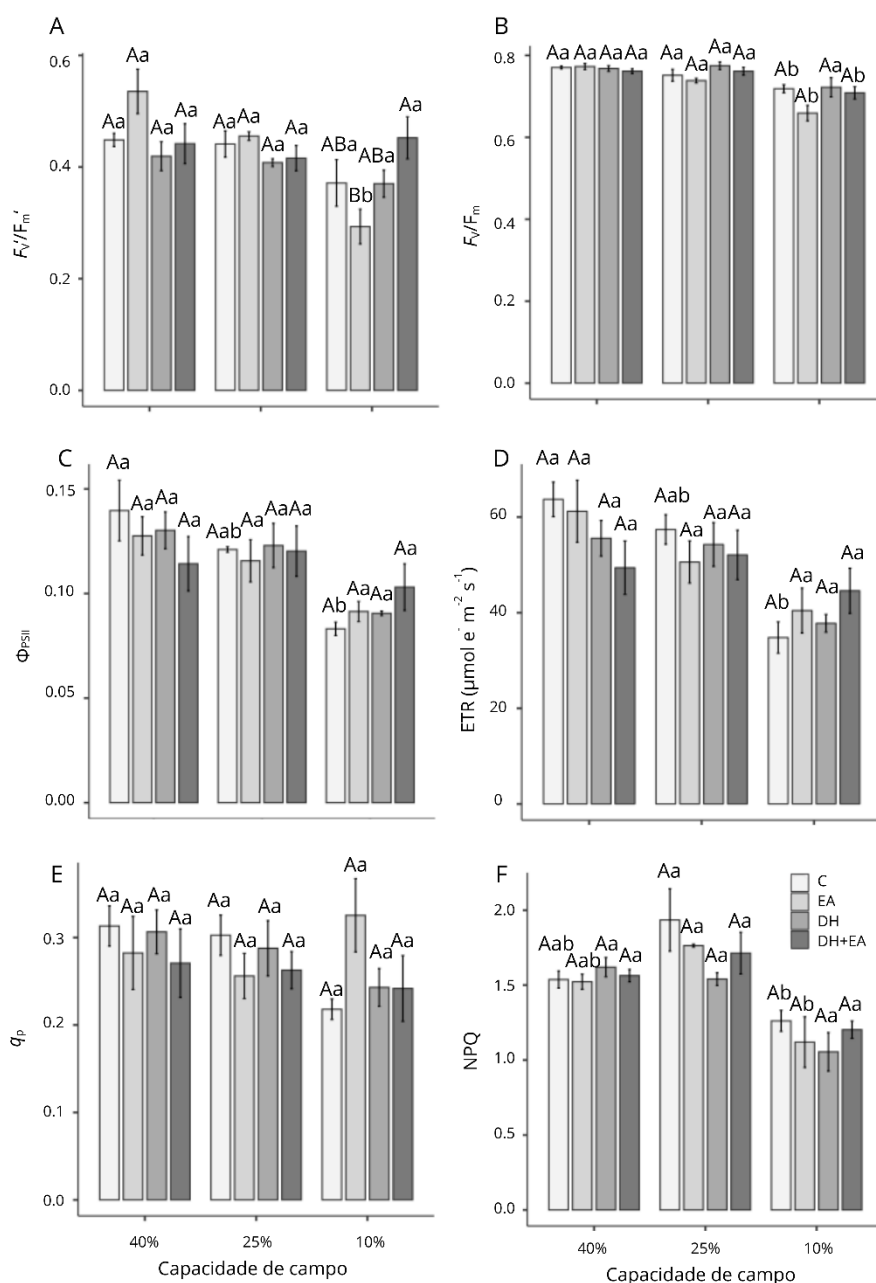


Figura 3. Efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 40, 25 e 10% da CC) e do uso bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café sobre a eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação do fotossistema II em condições de (A) luz (F_v'/F_m') e (B) escuro (F_v/F_m), (C) eficiência fotoquímica atual do PSII (Φ_{PSII}), (D) taxa de transporte de elétrons (ETR), (E) coeficiente de extinção fotoquímica (q_p) e o (F) coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ). C = controle; EA = extrato de algas; DH = déficit hídrico; DH+EA = déficit hídrico + extrato de algas. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos associadas à aplicação do extrato de algas, dentro de um mesmo nível de umidade do solo. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas

entre os níveis de umidade dentro de um mesmo tratamento de extrato de algas. (Teste de Tukey, $\alpha = 0,05$; $n = 6 \pm$ erro padrão).

4.3. O uso de EA pouco afetou o crescimento das plantas

Ocorreu incremento (12%) na AFT em plantas do tratamento EA em comparação com as plantas dos respectivos controles. Como esperado, plantas sob restrição hídrica apresentaram reduções na AFT, quando comparadas às plantas-controle; o déficit hídrico *per se* reduziu em 19% a MSF, percentual reduzido em 12% nas plantas DH+EA quando comparadas às plantas-controle. Apesar das diferenças encontradas em AFT, não foram encontradas diferenças em termos de MST em resposta aos tratamentos aplicados. A AFE e a RAF foram reduzidas nas plantas do tratamento DH+EA, em comparação às plantas-controle. O diâmetro médio do ramo ortotrópico reduziu-se sob condições de restrição hídrica, independentemente da aplicação do extrato de algas, quando comparadas as plantas dos tratamentos C e EA. O número de folhas foi reduzido em plantas com restrições hídricas, quando comparadas às plantas bem irrigadas. Os tratamentos aplicados não afetaram as razões de biomassa e altura (Tabela 1, Figura 6A-D).

Tabela 1. Efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 10% da CC) e do uso bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café sobre a área foliar total (AFT), massa seca de total (MST), área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF), diâmetro médio do ramo ortotrópico, número de folhas, massa seca de parte aérea /razão de massa seca de raiz (MSPA/MSR), razão de massa seca de folha (RMF), razão de massa seca de caule (RMC), razão de massa seca de raiz (RMR) e altura da planta . C = controle; EA = extrato de algas; DH = déficit hídrico; DH+EA = déficit hídrico + extrato de algas. Para plantas submetidas ao déficit hídrico, as medições foram realizadas em 10% da CC. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos associadas à aplicação do extrato de algas, dentro de um mesmo nível de umidade do solo. (Teste de Tukey, $\alpha = 0,05$; $n = 6 \pm$ erro padrão).

Tratamento	C	EA	DH	DH + EA
AFT (cm ²)	1517 ± 137 ab	1696 ± 83.3 a	1227 ± 53.7 b	1330 ± 79.8 ab
MST(g)	21.4 ± 1.80 a	23 ± 0.93 a	19.1 ± 0.98 a	21.2 ± 1.27 a
AFE (cm ² g ⁻¹)	144 ± 3.06 a	141 ± 7.19 ab	131 ± 7.56 ab	119 ± 9.36 b
RAF	70.8 ± 1.65 a	72.7 ± 3.27 ab	67.6 ± 4.36 ab	62.8 ± 1.75 b
Diâmetro médio (mm)	12.5 ± 0.40 ab	13 ± 0.25 a	11.2 ± 0.19 bc	10.5 ± 0.26 c
N° de folhas	69.4 ± 5.54 a	71.9 ± 3.56 a	48 ± 3.44 b	52.3 ± 4.8 b
MSPA/MSR	1.84 ± 0.127 a	1.69 ± 0.144 a	1.87 ± 0.134 a	1.86 ± 0.170 a
RMF	0.52 ± 0.01 a	0.53 ± 0.02 a	0.50 ± 0.01 a	0.51 ± 0.01 a
RMC	0.11 ± 0.01 a	0.11 ± 0.01 a	0.12 ± 0.01 a	0.12 ± 0.01 a
RMR	0.35 ± 0.01 a	0.34 ± 0.02 a	0.39 ± 0.01 a	0.35 ± 0.02 a
Altura (cm)	47.8 ± 1.38 a	47.7 ± 0.77 a	44.6 ± 1.36 a	44 ± 1.48 a

O comprimento das raízes foi reduzido nas plantas dos tratamentos EA (15%), DH (35%) e DH+EA (53%), quando comparado ao observado nos controles (Figuras 4A, 6E-H). A área superficial das raízes não foi alterada pelo uso de EA sob condições-controle. Por outro lado, comparando-se com as plantas-controle, o comprimento radicular reduziu-se em 26% nas plantas sob DH e em 43% em plantas da combinação DH+EA (Figura 4B), enquanto CER reduziu-se nas plantas dos tratamentos EA (24%), DH (35%) e DH+EA (52%) (Figura 4E). Em contraste, a DTR foi aumentada nas plantas desses tratamentos quando comparadas à do controle (Figura 4G). Os tratamentos não afetaram o volume radicular das plantas, bem como o diâmetro médio das raízes e FR. (Figura 4C, D e F).

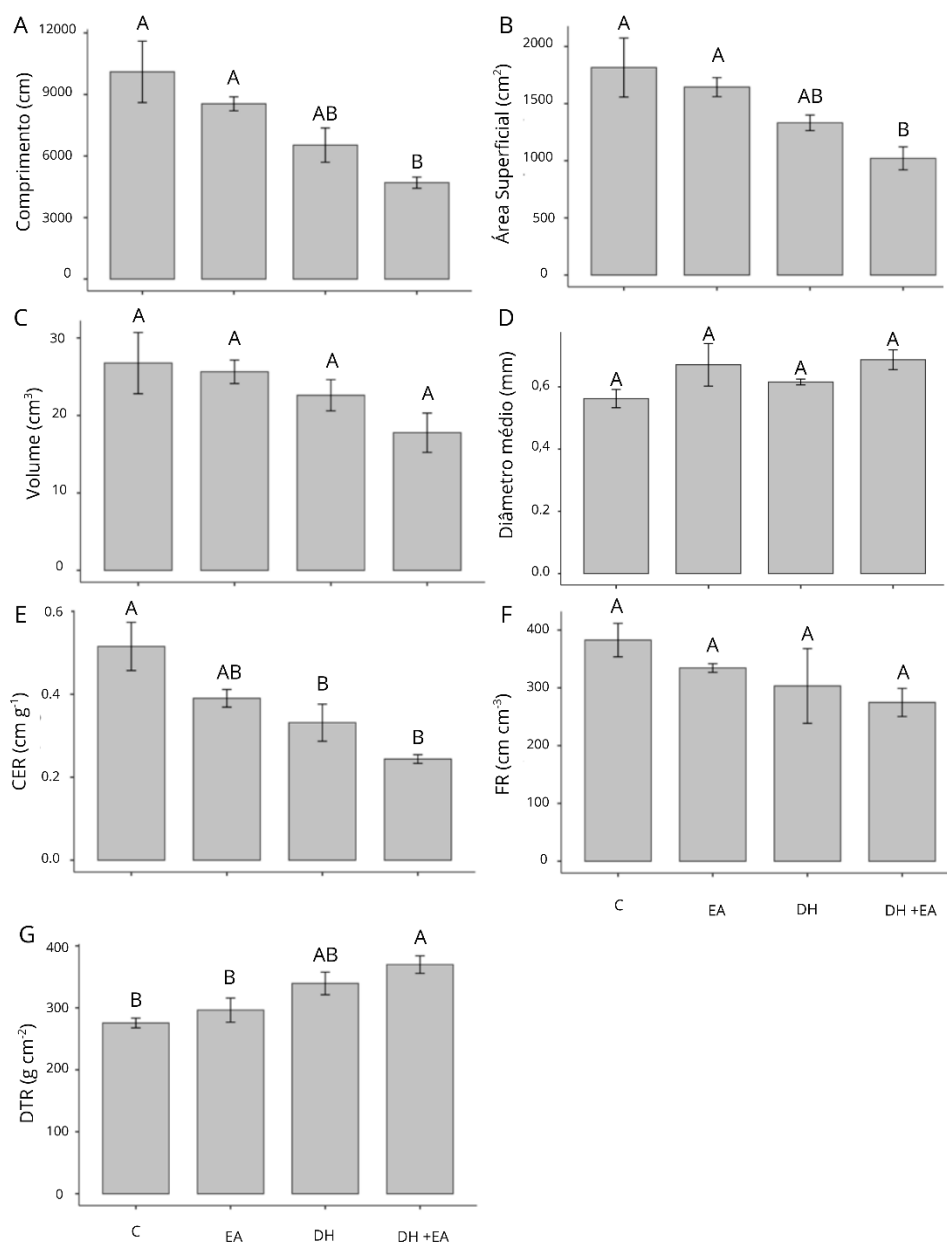


Figura 4. Efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 10% da CC) e do uso de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café sobre o (A) comprimento total de raiz, (B) área superficial total de raiz, (C) volume total de raiz, (D) diâmetro médio de raiz, (E) comprimento específico de raiz (CER), (F) finura de raiz (FR) e (G) densidade do tecido de raiz (DTR). C = controle; EA = extrato de algas; DH = déficit hídrico; DH+EA = déficit hídrico + extrato de algas. Para plantas submetidas ao déficit hídrico, as medições foram realizadas em 10% da CC. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos associadas à aplicação do extrato de algas, dentro de um mesmo nível de umidade do solo. (Teste de Tukey, $\alpha = 0,05$; $n = 6 \pm$ erro padrão).

O comprimento de raízes muito finas foi menor nas plantas do tratamento DH+EA, em comparação ao das plantas-controle, mas sem diferenças nos comprimentos de raízes muito finas das plantas EA e DH com plantas dos demais tratamentos. O comprimento radicular de raízes finas e grossas foi reduzido apenas pelo déficit hídrico em comparação às plantas bem irrigadas, independentemente da aplicação de EA (Figura 5A). A distribuição do comprimento por ordem de diâmetro evidenciou maior comprimento cumulativo nas raízes de classes de menor diâmetro nas plantas-controle, seguidas pelas plantas EA, com redução acentuada em DH e valores mínimos em DH+EA (Figura 5B).

A área superficial de raízes muito finas foi reduzida apenas pelo DH, sem influência da aplicação de EA. A área superficial de raízes finas foi menor em plantas do tratamento DH+EA, quando comparada à das plantas dos tratamentos C e EA. A área superficial de raízes grossas não foi influenciada pelos tratamentos aplicados (Figura 5C). A distribuição da área superficial em raízes por classe de diâmetro indicou maior concentração de área em classes de menor diâmetro nas plantas-controle, seguidas pelas de EA, com redução em DH e mínimos valores em EA + DH (Figura 5D).

O volume de raízes muito finas foi reduzido pelo DH, independentemente da aplicação de EA. O volume de raízes finas foi menor nas plantas DH+EA, em comparação ao das plantas-controle, enquanto nas plantas EA e DH os valores encontrados foram estatisticamente iguais às das plantas dos demais tratamentos. O volume de raízes grossas não foi influenciado pelos tratamentos aplicados (Figura 5E). A distribuição do volume por diâmetro evidenciou maior volume acumulado em raízes de menor diâmetro no tratamento DH, com padrões intermediários no controle e em EA, e menores valores em EA + DH (Figura 5F; 6I-L).

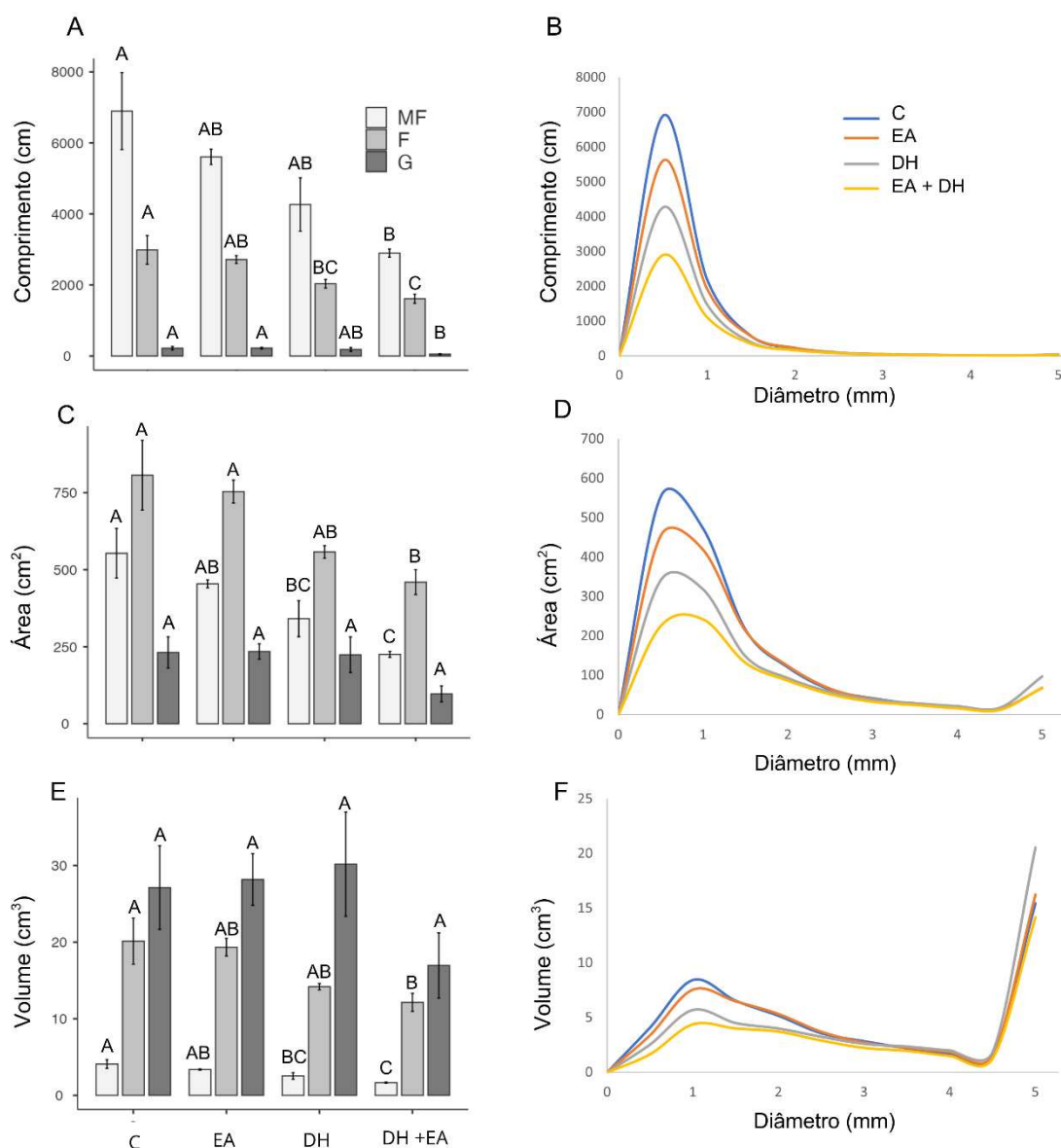


Figura 5. Efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 10% da CC) e do uso de bioestimulante baseado em extrato de *Ascomyces nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café sobre a distribuição de raízes muito finas (MF), finas (F) e grossas (G) para (A) comprimento radicular, (B) área superficial de raiz e (C) volume de raiz. Para plantas submetidas ao déficit hídrico, as medições foram realizadas em 10% da CC. As cores das linhas em B, D e F representam os resultados obtidos em função dos tratamentos aplicados, azul para controle (C), laranja para extrato de algas (EA), cinza para déficit hídrico (DH) e amarelo para déficit hídrico + extrato de algas (DH+EA). Em A, C, E, letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos

associadas à aplicação do extrato de algas, dentro de um mesmo nível de umidade do solo. (Teste de Tukey, $\alpha = 0,05$; $n = 6 \pm$ erro padrão).

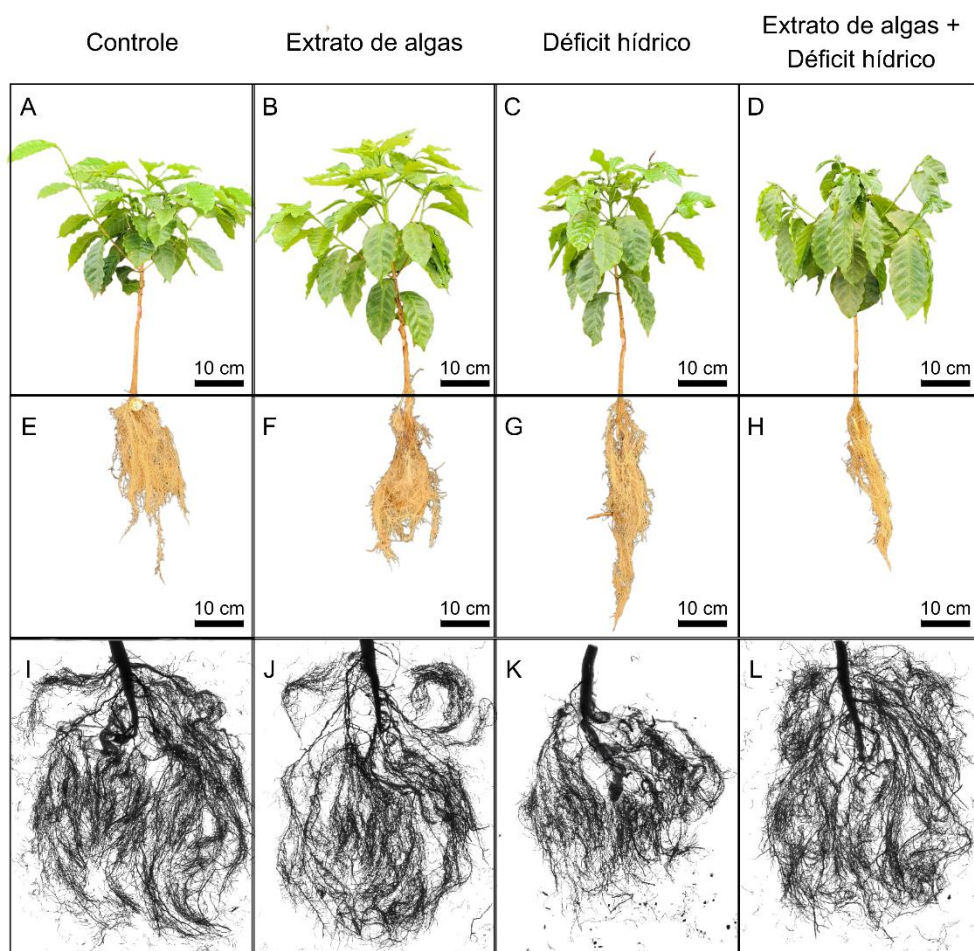


Figura 6. Efeitos morfológicos da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 10% da CC) e do uso de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café na parte aérea (A, B, C e D), raízes (E, F, G e H) e no WinRhizo ® (I, J, K e L).

4.4. A aplicação de EA aumentou a concentração de clorofilas e aminoácidos sob déficit hídrico

Foi observado aumento na concentração de *chl a + b* nas plantas em que houve aplicação do EA (incremento de 35%) e, particularmente sob condição de seca (aumento de 67%), quando comparado ao observado nas plantas-controle. A concentração de aminoácidos aumentou nas plantas EA (24%), DH (79%) e DH+EA (244%) em comparação ao observado nas plantas-controle. Houve incremento na concentração de prolina em plantas sob DH (109%) e em plantas que receberam o EA, seja em condições bem irrigadas (23%) ou sob DH (348%), em relação ao

controle. Os tratamentos não afetaram as concentrações de proteínas e de fenóis, a razão *chl a/b* (Tabela 2), o extravasamento de eletrólitos (Figura 7) e tampouco as concentrações de proteínas, aminoácidos, prolina e fenóis nas raízes (Tabela 2).

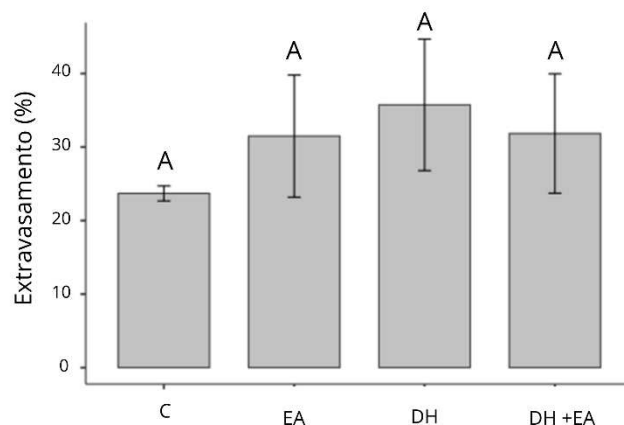


Figura 7. Efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 10% da CC) e do uso de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café sobre o extravasamento de eletrólitos. Para plantas submetidas ao déficit hídrico, as medições foram realizadas em 10% da CC. C = controle; EA = extrato de algas; DH = déficit hídrico; DH+EA = déficit hídrico + extrato de algas. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos associadas à aplicação do extrato de algas, dentro de um mesmo nível de umidade do solo. (Teste de Tukey, $\alpha = 0,05$; $n = 6 \pm$ erro padrão).

Tabela 2. Efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 10% da CC) e do uso bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café sobre a concentração (em base de massa seca) de clorofilas totais (Chl *a* + *b*), razão de clorofilas (Chl *a/b*), carotenoides, proteínas, prolina, aminoácidos e fenóis. C = controle; EA = extrato de algas; DH = déficit hídrico; DH+EA = déficit hídrico + extrato de algas. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos associadas à aplicação do extrato de algas, dentro de um mesmo nível de umidade do solo. (Teste de Tukey, $\alpha = 0,05$; $n = 6 \pm$ erro padrão).

Parâmetros	C		EA		DH		DH +EA	
	Folhas	Raízes	Folhas	Raízes	Folhas	Raízes	Folhas	Raízes
Chl <i>a</i> + <i>b</i> ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1568 $\pm$ 145 b		2203 $\pm$ 277 ab		1983 $\pm$ 304 ab		2735 $\pm$ 279 a	
Chl <i>a/b</i>	1.72 $\pm$ 0.07 a		1.57 $\pm$ 0.02 a		1.50 $\pm$ 0.08 a		1.57 $\pm$ 0.08 a	
Carotenóides ($\mu\text{g g}^{-1}$)	421 $\pm$ 36.80 a		534 $\pm$ 60.70 a		513 $\pm$ 71.6 a		575 $\pm$ 42.30 a	
Proteínas (mg g^{-1})	116 $\pm$ 11.0 a	96.9 $\pm$ 6.2 a	125 $\pm$ 5.7 a	99.1 $\pm$ 2.5 a	127 $\pm$ 8.0 a	98.9 $\pm$ 5.1 a	128 $\pm$ 11.1 a	85.2 $\pm$ 4.0 a
Aminoácidos ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	4.96 $\pm$ 0.32 b	2.03 $\pm$ 0.79 a	6.18 $\pm$ 0.58 b	2.59 $\pm$ 0.34 a	8.86 $\pm$ 0.54 b	2.58 $\pm$ 0.40 a	17.08 $\pm$ 0.65 a	4.28 $\pm$ 0.27 a
Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	2.90 $\pm$ 0.31 b	0.75 $\pm$ 0.11 a	3.58 $\pm$ 0.91 b	0.73 $\pm$ 0.18 a	6.07 $\pm$ 0.66 b	0.97 $\pm$ 0.14 a	13 $\pm$ 1.78 a	2.23 $\pm$ 0.52 a
Fenóis (mg g^{-1})	0.07 $\pm$ 0.01 a	0.07 $\pm$ 0.008 a	0.06 $\pm$ 0.01 a	0.05 $\pm$ 0.011 a	0.05 $\pm$ 0.01 a	0.05 $\pm$ 0.006 a	0.06 $\pm$ 0.01 a	0.03 $\pm$ 0.009 a

4.5. Análise dos componentes principais

Verificou-se que uma única PCA não seria suficiente para identificar as variáveis que explicam as respostas observadas. Então, para melhor organização e interpretação dos dados, as informações foram separadas em duas PCAs. As análises feitas inicialmente indicaram comportamentos semelhantes das plantas sob 40 e 25% da CC, por isso tais dados foram separados para uma primeira análise de componentes principais (PCA 1) realizada. A PCA 1 explicou 54% da variabilidade total dos dados, sendo 28,1% atribuídos ao PC1 e 25,9% ao PC2. A ordenação das respostas das plantas dos tratamentos ao longo do PC1 promoveu clara separação entre plantas bem irrigadas e sob déficit hídrico, mas não foi observada segregação consistente em função do uso do produto bioestimulante (Figura 8A). O PC1 apresentou correlação positiva com as variáveis C_i , NPQ, Ψ_{am} e Ψ_{md} , e se correlacionou negativamente com A e Φ_{PSII} e F_v/F_m . Dessa forma, plantas dos tratamentos C e EA foram posicionados no quadrante associado a maiores valores de A , menor C_i e NPQ, além de melhor estado hídrico. Em contraste, plantas sob déficit hídrico agruparam-se no sentido oposto do PC1, refletindo menor desempenho fotossintético e redução do Ψ_w (Figura 8B). O PC2 esteve associado principalmente a variáveis relacionadas à eficiência fotoquímica, destacando-se a contribuição de F_v/F_m e Φ_{PSII} , indicando ajustes na dissipação e conservação de energia sob estresse (Figura 8B).

A segunda análise de componentes principais (PCA 2) foi realizada apenas com os dados de 10% da CC, por apresentarem dados com comportamentos diferentes em comparação aos obtidos nos demais níveis de deficiência hídrica, além das variáveis de morfologia (destrutivas) e bioquímica terem sido avaliadas somente nesse nível de umidade. A PCA 2 explicou 67,9% da variabilidade total, com 47% concentrados no PC1 e 20,9% no PC2. Novamente, a separação das plantas ocorreu predominantemente em função do regime hídrico (Figura 8C). O PC1 promoveu a separação das plantas ao longo de um gradiente associado, de forma positiva, a variáveis fisiológicas e bioquímicas, como EUA, F_v'/F_m' , clorofilas, aminoácidos e prolina, enquanto se correlacionou negativamente com variáveis morfológicas e fisiológicas, especialmente AFE, g_s e área superficial das raízes. Dessa forma, plantas de tratamentos posicionados à direita do PC1, notadamente plantas do tratamento DH+EA, apresentaram maior associação com ajustes metabólicos e bioquímicos relacionados à resposta ao estresse, ao passo que plantas de tratamentos posicionados à esquerda do eixo estavam associadas a um maior desenvolvimento estrutural e às trocas gasosas (Figura 8D). O PC2 representou um gradiente secundário, no qual algumas variáveis relacionadas ao desempenho fotossintético e ao metabolismo como E , g_s ,

aminoácidos, prolina e clorofilas, apresentaram correlação positiva, enquanto variáveis associadas à expansão radicular e à expansão foliar, como CER e AFE, apresentaram correlação negativa. Assim, plantas de tratamentos com EA, localizados na porção superior do gráfico, apresentaram maior associação com respostas metabólicas e fotossintéticas, enquanto aqueles posicionados na porção inferior estiveram relacionados a maior limitação área das folhas e eficiência do uso da água (Figura 8D).

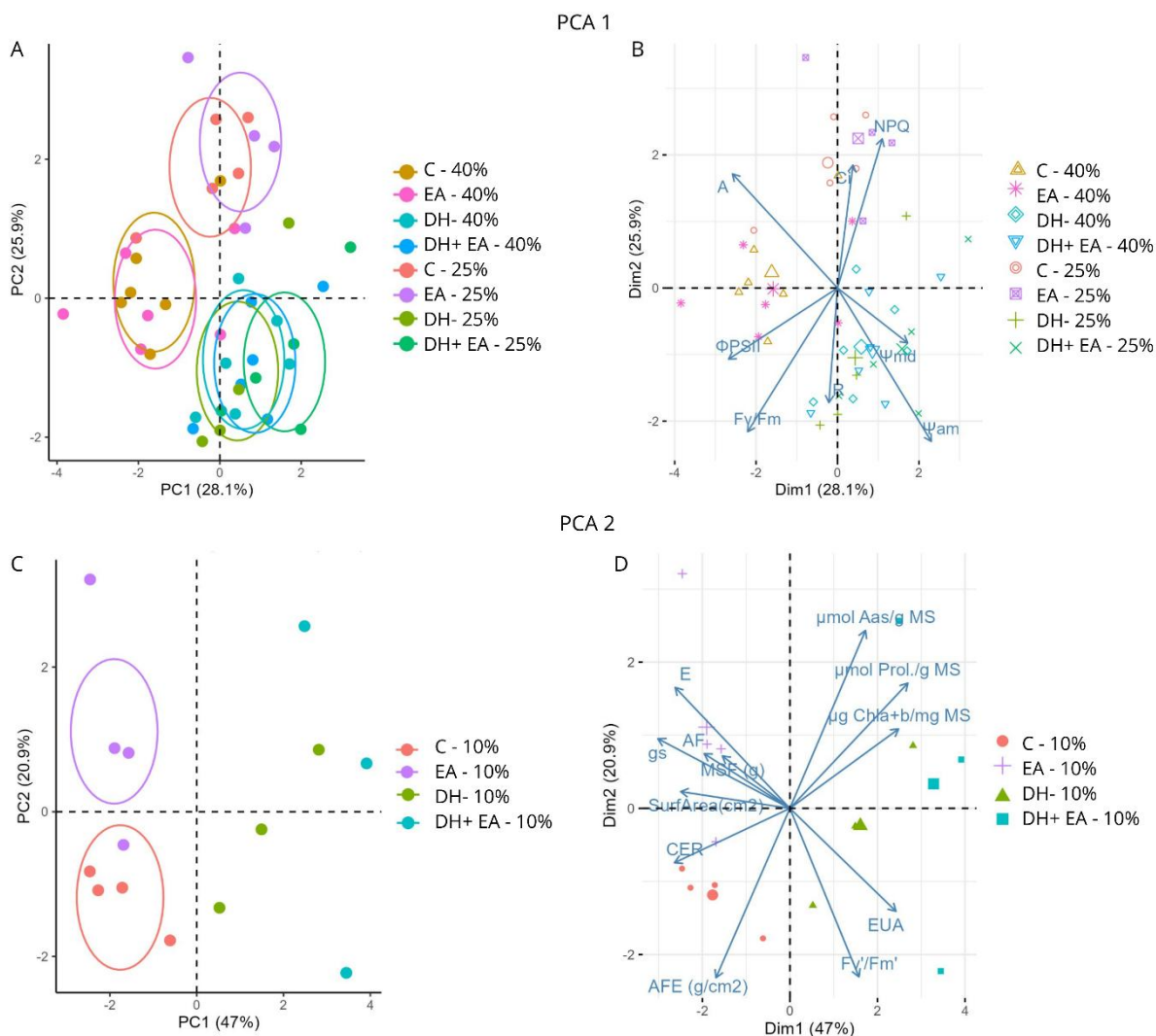


Figura 8 - Análise de componentes principais do efeito da disponibilidade de água (plantas-controle sob 100% da capacidade de campo (CC) e sob déficit hídrico correspondente a 40, 25 e 10% da CC) e do uso de bioestimulante baseado em extrato de *Ascophyllum nodosum* (0 e 2 mL L⁻¹) em plantas jovens de café. (A) segregação das quatro combinações de tratamento de acordo com características fisiológicas, (B) variáveis representadas por autovetores (setas sólidas) em 40% e 25% da CC nos tratamentos com déficit hídrico, (C) segregação das quatro combinações de tratamento de acordo com características fisiológicas, morfológicas e bioquímicas, (D)

variáveis representadas por autovetores (setas sólidas) em 10% da CC nos tratamentos com déficit hídrico. C = controle; EA = extrato de algas; DH = déficit hídrico; DH+EA = déficit hídrico + extrato de algas.

5. DISCUSSÃO

Plantas jovens de café foram submetidas a uma redução progressiva da disponibilidade hídrica, condição frequentemente observada em áreas de cultivo no Brasil, o que resultou em um déficit hídrico leve a moderado (Menezes-Silva *et al.*, 2017; DaMatta *et al.*, 2018; Avila *et al.*, 2020). As respostas hidráulicas, fisiológicas, morfológicas e bioquímicas observadas mostram que o DH foi o principal fator responsável pelas alterações observadas no presente trabalho, sobrepondo-se aos efeitos da aplicação de EA.

Os valores menos negativos de Ψ_{am} nos tratamentos C e EA indicaram melhor manutenção do *status* hídrico das plantas. Em contrapartida, tratamentos DH e EA+DH apresentaram redução de Ψ_{am} desde o início da imposição do déficit hídrico gradual, indicando que as plantas estavam efetivamente sob condição de estresse hídrico. Apesar disso, K_{planta} não apresentou variações significativas entre as plantas nos tratamentos aplicados, o que pode indicar que não houve comprometimento estrutural do sistema hidráulico da planta e que outros ajustes fisiológicos levaram a redução de Ψ_{am} . Um possível ajuste seria a redução da g_s , que pode ocorrer justamente para preservar o sistema hidráulico da planta e evitar a ocorrência de danos irreversíveis, como embolismos (Choat *et al.*, 2018). Esse tipo de regulação acontece em estresses considerados leves e moderados, que é o caso deste trabalho. Em condições de estresses severos, outras vias são ativadas.

Independentemente da aplicação de EA, as plantas DH exibiram redução da g_s , na tentativa de reduzir E e preservar o seu *status* hídrico. No entanto, tais respostas podem levar a uma redução em A e C_i , o que pode resultar em menor crescimento das plantas (Bhattacharya & Bhattacharya, 2021; Brodribb *et al.*, 2021). Em eventos de seca semelhantes ao do presente estudo, foi observado que plantas de café apresentam reduções notáveis tanto em g_s quanto em A (Menezes-Silva *et al.*, 2017; Ávila *et al.*, 2020). Em todo o caso, não foram encontrados sinais de fotoinibição nas plantas sob déficit hídrico.

Plantas EA apresentaram uma tendência, não significativa comparada ao controle, de melhor desenvolvimento e crescimento da planta. Em contrapartida, como esperado, plantas dos tratamentos DH apresentaram um menor crescimento, devido a uma menor disponibilidade hídrica para promover a expansão celular e para reduzir a T_m . Outra estratégia morfológica que pode ser utilizada pelas plantas para tolerar melhor o DH é aumentar o volume radicular em detrimento da parte aérea, para aumentar o volume de solo explorado e dessa forma buscar água em maiores profundidades (Gupta *et al.*, 2020). No presente trabalho, não foi verificado aumento radicular em plantas dos tratamentos DH. Por outro lado, Ávila *et al.*, 2020 relataram aumento

em RMR em plantas sob DH e CO₂ elevado, alterando o acúmulo e a partição de biomassa da planta.

Alterações bioquímicas são respostas esperadas em plantas submetidas ao déficit hídrico, atuando como mecanismos compensatórios frente à perda de água. Entre essas respostas, destaca-se o acúmulo de osmólitos compatíveis, como açúcares, prolina e aminoácidos livres, que contribuem para o ajuste osmótico e a manutenção do Ψ_w celular (Chen *et al.*, 2020; Ahmed *et al.*, 2024). O aumento observado nas concentrações de prolina e de aminoácidos totais nas plantas sob DH pode sugerir a ocorrência de regulação osmótica em resposta à redução do Ψ_w do solo. No entanto, tais alterações foram detectadas exclusivamente nas folhas, sugerindo um ajuste preferencial na parte aérea, voltado à manutenção da turgescência celular e à redução da perda de água para a atmosfera. Esse acúmulo de osmólitos, associado à redução de g_s , pode conferir maior tolerância das plantas às condições de déficit hídrico (Sousa, *et al.*, 2023).

5.1. Efeitos de EA

Em plantas bem irrigadas, somente em 40% da CC as plantas do tratamento EA apresentaram valores de A e g_s um pouco maiores, mas não diferentes estatisticamente, em comparação com suas contrapartes C. Os valores de A reduziram-se com o passar do tempo e com 10% da CC, EA apresentou, também, uma menor EUA e maior C_i , indicando que, apesar de g_s se manter, há indício de limitações difusivas impedindo o aumento de A . Comin *et al.* (2024) utilizaram 3 doses de extrato puro de *A. nodosum* em mudas de 5 espécies lenhosas e somente na dose mais elevada (3 vezes maior que a recomendada pelo fabricante) houve o aumento de A no primeiro ano após a emergência das plântulas, que não foi mantido nas datas posteriores de amostragem. Em outros trabalhos com plantas herbáceas, como tomate e soja, o uso de EA foi feito durante o período em que foi imposto a seca, de forma contrária ao realizado no presente estudo e às recomendações do fabricante, de uso do produto no período chuvoso. Dessa forma, o efeito do uso de EA pode ser considerado transitório para plantas lenhosas, sendo necessárias mais aplicações para manutenção do resultado em condições sem estresse hídrico.

Ocorreram reduções em F_v/F_m nas plantas-controle EA aos 10% da CC, o que pode indicar que houve uma limitação não-estomática levando a redução de A , em comparação aos valores encontrados em 40% e 25% da CC (redução de 46% e 36%, respectivamente). Apesar de Φ_{PSII} e ETR não apresentarem alterações, o aumento no teor de clorofilas, associado a redução temporal de NPQ nas plantas tratadas com EA, aponta para maior absorção de energia sem aumento proporcional da dissipação térmica. Nesse caso, pode haver elevação da energia nos centros de reação do PSII, o que favorece a inativação parcial dos centros de reação e limita a capacidade de fixação do CO_2 , mesmo com alta disponibilidade de CO_2 no mesófilo. Os dados sugerem que o EA promoveu alteração na capacidade de dissipação de energia radiante que, somada a limitações bioquímicas, explicam a queda de A em plantas bem irrigadas.

Apesar de não apresentarem incremento fotossintético, plantas do tratamento EA apresentaram tendência de melhoria em parâmetros morfológicos, principalmente de parte aérea, como maior AFT, MSF, diâmetro médio e crescimento absoluto. No entanto, não houve alteração na MST. Paralelamente, foi possível verificar um aumento no total de clorofilas encontradas nos tratamentos com EA. Esse incremento pode estar relacionado à redução da degradação da clorofila promovida pela presença de compostos como betaínas e polissacarídeos sulfatados, frequentemente encontradas em extratos de *A. nodosum* ou com o aumento da sua produção (Khan *et al.*, 2009, Goñi, 2018). O aumento de clorofilas associado com a ausência de alteração na MST e aumento na AFE indica aumento de densidade foliar.

5.2. Efeitos de DH+EA

Plantas sob déficit hídrico tendem a desenvolver mais raízes e, dessa forma, conseguem explorar um maior volume de solo, para obterem mais água e tolerar melhor o estresse (Gupta *et al.*, 2020). Uma das características apontadas pelo fabricante do EA é o estímulo ao desenvolvimento e crescimento radicular, no entanto não houve incremento radicular em plantas do tratamento EA em comparação ao controle. Ressalte-se, inclusive, que as plantas DH+EA exibiram menor desenvolvimento radicular em comparação às plantas dos demais tratamentos, sem aumento da razão MSPA/MSR.

Os mecanismos mais documentados para café em relação à tolerância ao déficit hídrico é a expansão das raízes ou o acúmulo de compostos que aumentam a osmolaridade dos tecidos das plantas (DaMatta *et al.*, 2018; DaMatta *et al.*, 2024). Neste trabalho, a aplicação de EA promoveu incremento nas concentrações de prolina e aminoácidos em plantas sob DH, evidenciando que o extrato de algas estimula a produção desses compostos em situações sob déficit hídrico.

Tendência semelhante foi observada para os aminoácidos totais. Estes resultados estão em consonância com estudos prévios realizados com tomateiro (Goñi *et al.*, 2018; Ahmed *et al.*, 2024) e café (Betinni, 2015) sob estresse hídrico, que também encontraram a mesma tendência com a aplicação de extrato de algas. No trabalho de Betinni (2015), as plantas tratadas com EA antes da aplicação do estresse hídrico já apresentavam aumento na prolina, indicando que o aumento desse osmólito pode provocar efeito protetor preventivo. Segundo Nair *et al.* (2012), o aumento do conteúdo de prolina está relacionado com a regulação de genes envolvidos na biossíntese e degradação desse composto.

Goñi *et al.* (2018) testaram três tipos de extratos de *A. nodosum* em plantas de tomate sob déficit hídrico e, apesar de os extratos serem fabricados a partir da mesma matéria-prima, a capacidade de manter a produtividade das plantas não foi a mesma. Diversas variáveis para as quais se esperava um efeito positivo da aplicação de EA naquele estudo, como aumento de *A*, melhoria de EUA e aumento do sistema radicular, não apresentaram variações significativas, tanto em plantas bem irrigadas como naquelas submetidas ao déficit hídrico. A ausência dessas variações indica que as estratégias adotadas em um contexto de aplicação de EA provavelmente não serão suficientes em condições não controladas e sem indicativo de benefícios no longo prazo.

6. CONCLUSÃO

O extrato de algas *per se* não apresentou benefícios para o desenvolvimento inicial de plantas de café, uma vez que os ganhos obtidos com melhoras morfológicas da parte aérea, como a tendência de aumento da AFT, não foram acompanhados por respostas fisiológicas consistentes. Além disso, a MST não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, indicando ausência de incremento no acúmulo total de biomassa. Apesar de apresentar melhoras bioquímicas, como o aumento do conteúdo de aminoácidos e prolina, que poderia levar a planta a tolerar melhor condições de DH, não há indícios fisiológicos, hidráulicos e morfológicos que se mostrem eficazes para recomendar o uso do produto estudado. A atividade do produto está mais associada à expansão vegetativa e à manutenção da parte aérea do que ao fortalecimento de mecanismos estruturais de tolerância à seca. Dessa forma o produto não possui ação efetiva na mitigação dos efeitos do déficit hídrico.

A ausência de resposta nesses parâmetros sugere que, nas recomendações do fabricante e condições experimentais adotadas neste trabalho, a dose aplicada e o estágio de desenvolvimento das plantas podem não ter sido as mais adequadas para promover alterações funcionais esperadas,

indicando uma eficiência limitada do produto nesses contextos. Essa interpretação reforça a importância de considerar fatores como dose, frequência de aplicação e fase fenológica ao avaliar o potencial de bioestimulantes em plantas lenhosas.

REFERÊNCIAS

- Abbass K, Qasim MZ, Song H, Murshed M, Mahmood H, & Younis I (2022). A review of the global climate change impacts, adaptation, and sustainable mitigation measures. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(28), 42539-42559.
- Abdullahi UA, Khandaker MM, Alias N, Shaari EM, Alam MA, Badaluddin NA & Mohd KS (2021). Seaweed effects on plant growth and environmental remediation: A review. *Journal of Phytology*, 13, 122-129.
- Avila RT, Cardoso AA, de Almeida WL, Costa LC, Machado KL, Barbosa ML, de Souza RPB, Oliveira LA, Batista DS, Martins SCV, Ramalho JDC, & DaMatta FM (2020). Coffee plants respond to drought and elevated [CO₂] through changes in stomatal function, plant hydraulic conductance, and aquaporin expression. *Environmental and Experimental Botany*, 177, 104148.
- Beauchamp C, & Fridovich I (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276-287.
- Bettini MDO (2015). Aplicação de extratos de algas marinhas em cafeeiro sob deficiência hídrica e estresse salino (tese de doutorado).
- Bhattacharya A (2021). Effect of soil water deficit on growth and development of plants: a review. *Soil water deficit and physiological issues in plants*. Springer, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-33-6276-5_5>
- Bilen C, El Chami D, Mereu V, Trabucco A, Marras S, & Spano D (2022). A systematic review on the impacts of climate change on coffee agrosystems. *Plants*, 12(1), 102.
- Blackman CJ & Brodribb TJ (2011). Two measures of leaf capacitance: insights into the water transport pathway and hydraulic conductance in leaves. *Functional Plant Biology*, 38(2), 118-126.
- Brodribb T, Brodersen CR, Carriqui M, Tonet V, Rodriguez-Dominguez C, & McAdam S (2021). Linking xylem network failure with leaf tissue death. *New Phytologist*, 232(1), 68-79.
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

- Cavatte PC, Oliveira ÁA, Morais LE, Martins SC, Sanglard LM & DaMatta FM (2012). Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. *Physiologia Plantarum*, 144(2), 111-122.
- Chacón-Villalobos Y, Chacón-Sancho A, Vargas-Chinchilla M, Cerdà-Subirachs JM, & Hernández-Pérez R (2021). Nuevo bioestimulante de floración y maduración en café (*Coffea arabica* L.). *Agronomía Mesoamericana*, 983-990.
- Change B, & Maehly AC (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods of Enzymology*, 2, 764-775.
- Chemura A, Mudereri BT, Yalew AW, & Gornott C (2021). Climate change and specialty coffee potential in Ethiopia. *Scientific Reports*, 11(1), 8097.
- Choat B, Brodribb TJ, Brodersen CR, Duursma RA, López R & Medlyn BE (2018). Triggers of tree mortality under drought. *Nature*, 558(7711), 531-539.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café**, Brasília, DF, v.11, n. 2 segundo levantamento, maio 2024. <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>
- Comin S, Brocca G, Valsecchi N, Fumagalli S, Vigevani I, Corsini D, Ferrini F, Ravanelli G & Fini, A. (2024). Growth, physiology, and root development in seedlings of woody species treated with a seaweed extract. *Arboriculture & Urban Forestry*, 51 (1), 46-64.
- DaMatta FM, Chaves AR, Pinheiro HA, Ducatti C & Loureiro ME (2003). Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. *Plant Science*, 164(1), 111-117.
- DaMatta FM (2004). Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research*, 86(2-3), 99-114.
- DaMatta FM, Godoy AG, Menezes-Silva PE, Martins SC, Sanglard LM, Morais LE, Torre-Neto A & Ghini R (2016). Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *Journal of Experimental Botany*, 67(1), 341-352.
- DaMatta FM, Avila RT, Cardoso AA, Martins SC, & Ramalho JC (2018). Physiological and agronomic performance of the coffee crop in the context of climate change and global warming: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(21), 5264-5274.
- DaMatta FM, Martins SC & Ramalho JC (2025). Ecophysiology of coffee growth and production in a context of climate changes. *Advances in Botanical Research*, 114, 97-139. Academic Press <<https://doi.org/10.1016/bs.abr.2024.07.004>>

- Dias CG, Martins FB, & Martins MA (2024). Climate risks and vulnerabilities of the Arabica coffee in Brazil under current and future climates considering new CMIP6 models. *Science of The Total Environment*, 907, 167753.
- FAO (2022). Inorganic fertilizers – 1990–2020. FAOSTAT Analytical Brief, no. 47. Rome. <<https://doi.org/10.4060/cc0947en>>
- FAO (2023). Pesticides use and trade, 1990–2021. FAOSTAT Analytical Briefs Series No. 70. Rome. <<https://doi.org/10.4060/cc6958en>>
- Fox J, & Weisberg S (2020). *car: Companion to Applied Regression*. [R package]. Retrieved from <<https://cran.r-project.org/package=car>>.
- Giannopolitis CN, & Ries SK (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309-314.
- Gomes-Júnior CC, Souza RPB, Menezes KMS, Souza AH, Tomazeli-Silva A, Valadares SV, Martins SCV, Cardoso AA, Da Silva MCS & DaMatta FM (2025). Boosting coffee seedling performance through arbuscular mycorrhizal association. *Mycorrhiza*, 35(6), 69.
- Goñi O, Quille P & O'Connell S (2018). *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 126, 63-73.
- Grassi G & Magnani F (2005). Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell & Environment*, 28(7), 834-849.
- Gupta A, Rico-Medina A, & Caño-Delgado AI (2020). The physiology of plant responses to drought. *Science*, 368(6488), 266-269.
- Hareem M, Danish S, Obaid SA, Ansari MJ & Datta R (2024). Mitigation of drought stress in chili plants (*Capsicum annuum* L.) using mango fruit waste biochar, fulvic acid and cobalt. *Scientific Reports*, 14(1), 14270.
- Havir EA & McHale NA (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 84(2), 450-455.
- Hankin LE, Barrios-Masias FH, Urza AK & Bisbing SM (2025). Lethal combination for seedlings: extreme heat drives mortality of drought-exposed high-elevation pine seedlings. *Annals of Botany*, 135(1-2), 293-304
- Hoagland DR & Arnon DI (1938). The water culture method for growing plant without Soil. *California Agricultural Experiment Station*, 347, 1-32.

- IPCC, 2023: Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 1-34, doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001
- Ishfaq N, Waraich EA, Ahmad M, Hussain S, Zulfiqar U, Din KU, Haider A, Yong JWH, Askri SMH & Ali HM (2024). Mitigating drought-induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) through foliar application of sulfhydryl thiourea. *Scientific Reports*, 14(1), 15985.
- Koh I, Garrett R, Janetos A & Mueller ND (2020). Climate risks to Brazilian coffee production. *Environmental Research Letters*, 15(10), 104015.
- Koutouleas A, Sarzynski T, Bordeaux M, Bosselmann AS, Campa C, Etienne H, Turreira-García N, Rigal C, Vaast P, Ramalho JC, Marraccini P & Ræbild, A. (2022). Shaded-coffee: A nature-based strategy for coffee production under climate change? A review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 877476.
- Lan X, Tans P and KW Thoning: Trends in globally-averaged CO₂ determined from NOAA Global Monitoring Laboratory measurements. Version 2024-08. <<https://doi.org/10.15138/9N0H-ZH07>>
- Lee SB, Jung SJ, Go YS, Kim HU, Kim JK, Cho HJ, Park OK & Suh, M. C. (2009). Two Arabidopsis 3-ketoacyl CoA synthase genes, KCS20 and KCS2/DAISY, are functionally redundant in cuticular wax and root suberin biosynthesis, but differentially controlled by osmotic stress. *The Plant Journal*, 60(3), 462-475.
- Li J, Van Gerrewey T, & Geelen D (2022). A meta-analysis of biostimulant yield effectiveness in field trials. *Frontiers in Plant Science*, 13, 836702.
- Marçal DM, Avila RT, Quiroga-Rojas LF, de Souza RP, Junior CCG, Ponte LR, Barbosa ML, Oliveira LA, Martins SCV, Ramalho JDC & DaMatta FM (2021). Elevated [CO₂] benefits coffee growth and photosynthetic performance regardless of light availability. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158, 524-535.
- Maxwell K & Johnson GN (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-668.
- Nakano Y, & Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.

- Meena RS, Kumar S, Datta R, Lal R, Vijayakumar V, Brtnicky M, Sharma MP, Yadav GS, Jhariya MK, Jangir CK, Pathan SI, Dokulilova T, Pecina V & Marfo TD (2020). Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: A review. *Land*, 9(2), 34.
- Menezes-Silva PE, Sanglard LM, Ávila RT, Morais LE, Martins SCV, Nobres P, Patreze CM, Ferreira MA, Araújo WL, Fernie AR & DaMatta, F. M. (2017). Photosynthetic and metabolic acclimation to repeated drought events play key roles in drought tolerance in coffee. *Journal of Experimental Botany*, 68(15), 4309-4322.
- Mittler R, Zandalinas SI, Fichman Y & Van Breusegem F (2022). Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(10), 663-679.
- Moreira, WL & Ferraz-Almeida, R. (2021). Development of coffee seedlings with biostimulants. *Coffee Science*, 16, 1-5.
- Murshed R, Lopez-Lauri F & Sallanon H (2008). Microplate quantification of enzymes of the plant ascorbate–glutathione cycle. *Analytical Biochemistry*, 383(2), 320-322.
- Ouyang W, Yin X, Yang J & Struik PC (2020). Comparisons with wheat reveal root anatomical and histochemical constraints of rice under water-deficit stress. *Plant and Soil*, 452, 547-568.
- Praxedes SC, DaMatta FM, Loureiro ME, Maria MA & Cordeiro AT (2006). Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. *Environmental Experimental Botany* 56(3) 263–273.
- R Core Team (2022). *R: A Language and environment for statistical computing*. (Version 4.1) [Computer software]. Retrieved from <https://cran.r-project.org>. (R packages retrieved from CRAN snapshot 2024-06-07).
- Ribeiro C, Cambraia J, Peixoto PHP & Fonseca Júnior ÉMD (2012). Antioxidant system response induced by aluminum in two rice cultivars. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24, 107-116.
- Ronchi CP, DaMatta FM, Batista KD, Moraes GA, Loureiro ME & Ducatti C (2006). Growth and photosynthetic down-regulation in *Coffea arabica* in response to restricted root volume. *Functional Plant Biology*, 33(11), 1013-1023.
- RStudio (2019) RStudio | Open source & professional software for data science teams - RStudio. <https://rstudio.com/>. Accessed 9 Jan 2020.

- Santaniello, A., Scartazza, A., Gresta, F., Loreti, E., Biasone, A., Di Tommaso, D., Piaggese, A. & Perata, P. (2017). *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in *Arabidopsis* by affecting photosynthetic performance and related gene expression. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1362.
- Sánchez-Blanco MJ, Álvarez S, Navarro A & Bañón S (2009). Changes in leaf water relations, gas exchange, growth and flowering quality in potted geranium plants irrigated with different water regimes. *Journal of Plant Physiology*, 166(5), 467-476.
- Stirbet A, Lazár D, Guo Y & Govindjee G (2020). Photosynthesis: basics, history and modelling. *Annals of Botany*, 126(4), 511-537.
- Sousa GF, Silva MA, Carvalho MR, Morais EG, Benevenuto PAN, Van Opbergen GAZ, Van Opbergen GGAZ & Guilherme LRG (2023). Foliar Selenium Application to Reduce the Induced-Drought Stress Effects in Coffee Seedlings: Induced Priming or Alleviation Effect? *Plants*, 12(17), 3026.
- Subedi B, Poudel A & Aryal S (2023). The impact of climate change on insect pest biology and ecology: Implications for pest management strategies, crop production, and food security. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100733.
- Sun H, Shi Q, Liu NY, Zhang SB & Huang W (2023). Drought stress delays photosynthetic induction and accelerates photoinhibition under short-term fluctuating light in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 196, 152-161.
- The jamovi project (2023). *jamovi*. (Version 2.4) [Computer Software]. Retrieved from <<https://www.jamovi.org>>
- Valverde-Lucio Y, Moreno-Quinto J, Quijije-Quiroz K, Castro-Landín A, Merchán-García W, & Gabriel-Ortega J (2020). Biostimulants: An innovation in agriculture for coffee cultivation (*Coffea arabica* L). *Journal of the Selva Andina Research Society*, 11(1), 18-28.