

# METABOLISMO E PARTIÇÃO DO CARBONO FOTOSSINTÉTICO EM RESPOSTA À MANIPULAÇÃO DA RELAÇÃO FONTE-DRENO EM *Coffea arabica* L.

Roberto L. CUNHA<sup>1</sup>, E-mail: ecolisboa@yahoo.com.br; Samuel C.V. MARTINS<sup>1</sup>; Fábio G. VILLELA<sup>1</sup>; Werner C. ANTUNES<sup>1</sup>; Fábio M. DAMATTA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

## Resumo:

Investigaram-se alterações no metabolismo de carboidratos e no particionamento do <sup>14</sup>carbono, em resposta à manipulação da relação fonte:dreno em folhas de plantas de café cultivadas em campo, por meio de desfrutificação e desfolhamento controlados, tendo em vista uma potencial alteração no metabolismo das folhas, em função da redução da relação fonte:dreno. Os tratamentos consistiram de: (i) remoção de todos os frutos, mas mantendo-se as folhas (T1); (ii) remoção da metade da carga de frutos, mantendo-se também as folhas (T2), e; (iii) manutenção de todos os frutos e redução da área foliar à metade (T3). Os frutos foram removidos no estágio de “chumbinho”. As avaliações foram realizadas durante a fase de rápido ganho de massa seca do fruto. Observaram-se maiores valores médios diários de fotossíntese líquida e condutância estomática nas plantas do tratamento T3. De modo geral, a alteração na razão fonte:dreno promoveu pouca ou nenhuma alteração (i) na atividade das enzimas do metabolismo do carbono (carboxilase/oxigenase da ribulose-1,5-bisfosfato, pirofosforilase da ADP-glicose, invertase ácida, sintase da sacarose, sintase da sacarose fosfato, bisfosfatase da frutose-1,6-bisfosfato, fosforilase do amido, desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato), (ii) na concentração de glicose, frutose, sacarose e amido, (iii) na concentração dos intermediários fosforilados (RuBP, glicose-6-fosfato, frutose-6-fosfato, glicose-1-fosfato e ortofosfato), assim como (iv) na partição de <sup>14</sup>C recentemente fixado. Os resultados indicam que a redução na razão fonte:dreno pode afetar positivamente fotossíntese líquida, via aumentos em condutância estomática, porém sem alterar a bioquímica da fotossíntese durante a fase de rápido crescimento dos frutos do cafeeiro.

Palavras-chave: <sup>14</sup>C, *Coffea*, fonte:dreno, metabolismo

## METABOLISM AND PHOTOSYNTHETIC CARBON PARTITIONING IN RESPONSE TO SOURCE:SINK MANIPULATION IN FIELD-GROWN *Coffea arabica* L. TREES

### Abstract:

Changes in carbohydrate metabolism and <sup>14</sup>carbon partitioning in response to source/sink manipulations were investigated in field-grown coffee trees. Such manipulations were performed through controlled defruiting and defoliation in order to induce changes in leaf metabolism. Treatments consisted of (i) complete defruiting and 100% leaf area (T1), (ii) half crop load and 100% leaf area (T2), and (iii) full crop load and 50% leaf area (T3). Growth evaluations started following treatment application when the fruits were at pinhead stage. Metabolic analyses were performed during the linear phase of dry mass gain of fruits. Larger rates of carbon assimilation and stomatal conductance were found in T3 plants. In general, changes in source:sink ratio caused little, if any, alteration in (i) activities of enzymes linked to carbon metabolism (Rubisco, ADP-glucose pyrophosphorylase, acid invertase, sucrose synthase, sucrose-P synthase, fructose-1,6-bisphosphatase, starch phosphorylase, glyceraldehyde-3-P dehydrogenase), (ii) glucose, fructose, sucrose, and starch, (iii) phosphorylated intermediates (ribulose-1,5-bisphosphate, glucose-6-P, fructose-6-P, glucose-1-P, and orthophosphate), as well as in (iv) partitioning of newly fixed <sup>14</sup>C. Taken together, the results suggest that decreasing source:sink ratio might positively affect photosynthesis with little, if any, changes in biochemistry of photosynthesis during the linear phase of dry mass gain of coffee fruits.

Key words: metabolism, <sup>14</sup>C, source:sink, *Coffea*.

### Introdução

Limitações à produtividade vegetal podem depender tanto da taxa de fixação de carbono quanto da magnitude da distribuição e utilização dos carboidratos para órgãos e/ou tecidos não-fotossintéticos. De acordo com a capacidade de exportar ou importar fotoassimilados, os órgãos vegetais podem ser classificados em fonte e dreno, respectivamente.

Aumento da razão fonte:dreno, e.g., via remoção parcial de frutos, pode ocasionar decréscimos correspondentes na taxa de assimilação líquida de carbono (A), devido à retroinibição derivada do acúmulo de carboidratos na folha (Stitt, 1991). De modo oposto, uma redução na razão fonte:dreno usualmente acarreta incrementos em A (Stitt, 1991; Iglesias *et al.*, 2002; Vaast *et al.*, 2005; Franck *et al.*, 2006; McCormick *et al.*, 2006).

Manipulação da relação fonte:dreno, via remoção de frutos, pode proporcionar redução da força do dreno, levando ao acúmulo de sacarose no citossol das células fotossintéticas, que, por conseguinte, pode inibir ou reduzir a atividade das enzimas envolvidas na biossíntese de sacarose (Rufty & Huber, 1983). Logo, o acúmulo de sacarose nas folhas é acompanhado de elevadas concentrações de triose-fosfato e outros metabólitos fosforilados, e de baixas concentrações de ortofosfato (Pi). Essa condição inibe a saída de triose-fosfato do cloroplasto e, conseqüentemente, aumenta a disponibilidade de substrato para a biossíntese de amido nessa organela (Herold, 1980). A baixa concentração

cloroplastídica de Pi acarreta aumento na relação 3-fosfoglicerato (3PGA):Pi, que ativa a pirofosforilase da ADP-glicose (AGPase) (Preiss, 1982), enzima-chave na biossíntese de amido (Neuhaus & Stitt, 1990). Por conseguinte, alguns mecanismos têm sido propostos para explicar a regulação da fotossíntese pelo dreno, e.g., mudanças na taxa de síntese de sacarose e amido (síntese de produto final), afetando, por extensão, a ciclagem de Pi para reações da fotossíntese (Paul & Foyer, 2001).

Considerando-se que a produção vegetal depende da força-dreno e da eficiência da produção de fotoassimilados, e que a força-dreno depende do tamanho e da atividade metabólica do órgão-dreno, uma redução na razão fonte:dreno poderia acarretar um incremento da capacidade fotossintética das folhas e maiores taxas de carregamento. Com efeito, Vaast *et al.* (2005) e Franck *et al.* (2006) observaram, em café arábica, que A foi substancialmente menor em ramos desfrutificados ou com poucos frutos que em ramos com carga pesada de frutos. Franck *et al.* (2006) propuseram que a retroinibição de A seria mediada pelo aumento da concentração de sacarose no floema foliar e independente da concentração de açúcares solúveis nos outros compartimentos da folha. Não obstante, aqueles autores avaliaram apenas os teores de açúcares solúveis totais nas folhas e, portanto, as conclusões de seus estudos devem ser consideradas com cautela. Neste estudo, portanto, procurou-se avaliar possíveis mecanismos fisiológicos, em nível bioquímico, associados à modulação das taxas de fotossíntese e da partição de assimilados, em café, em resposta à alteração da razão fonte-dreno.

## Material e Métodos

Foram utilizadas *Coffea arabica* L. cv Catuaí Vermelho IAC 44 com aproximadamente 10 anos de idade, em Viçosa (20°45'S, 42°15'W, 650 m de altitude), Minas Gerais.

O experimento foi constituído de três tratamentos. No primeiro, as plantas foram conduzidas sob condições naturais de enfolhamento, porém removendo-se todos os frutos (T1); no segundo tratamento, procedeu-se à remoção de metade da carga dos frutos, mantendo-se todas as folhas da planta (T2); no terceiro tratamento, mantiveram-se todos os frutos produzidos, mas a área foliar total foi reduzida à metade (T3). Foram selecionados alguns ramos plagiotrópicos por cada planta, dentro de cada tratamento. Esses ramos tinham de 12 a 14 folhas completamente expandidas e cerca de 100 a 120 frutos. Para aumentar-se a uniformidade, ao aplicarem-se os tratamentos, foram deixados, nos ramos selecionados, seis ou 12 folhas expandidas, e 0, 50 ou 100 frutos, conforme o tratamento. Nesses ramos, procederam-se às medições de trocas gasosas e coletas para análises bioquímicas. A desfrutificação foi realizada, removendo-se frutos no estágio de *chumbinho*.

Foram avaliadas A e  $g_s$ , utilizando-se de um analisador portátil de gás a infravermelho, em sistema aberto (LCpro+, Analytical Development Company, Hoddesdon, Reino Unido) sob luz, temperatura e concentração de CO<sub>2</sub> ambientes. As medições foram realizadas em dois dias, em cada época, por volta das 8:00, 10:00, 13:00 e 16:00 h.

Carboidratos e aminácidos foram extraídos de tecidos foliares (~120 mg MF), em etanol 80% (v/v), incubados a 70°C, por 90 min, e submetidos a duas centrifugações (15000 g, 10 min). Na fração solúvel em etanol, foram determinadas, enzimaticamente, as concentrações de glicose, frutose e sacarose (Praxedes *et al.*, 2006) e aminoácidos (Moore & Stein, 1948) e, na fração insolúvel, as de amido (Praxedes *et al.*, 2006). Para a determinação da atividade das enzimas, discos foliares (~120 mg MF) foram homogeneizados num meio a 4°C, contendo 30% de polivinilpirrolidona (m/v) e 2 mL de tampão de extração (Stitt *et al.*, 1989) modificado por Praxedes *et al.* (2006) e Ronchi *et al.* (2006). Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 15000 g, por 3 min, a 4°C. Os sobrenadantes foram quantificados e, em seguida, 500 µL foram dessalinizados através de uma coluna de 3 x 1 cm de gel Sephadex G-25. O extrato obtido foi, então, utilizado imediatamente para o ensaio da SPS - EC 2.4.1.14 e Rubisco - EC 4.1.1.39 (Ronchi *et al.*, 2006) e, o restante, armazenado a -80°C e utilizado, posteriormente, para o ensaio das enzimas abaixo mencionadas: INV ácida - EC 3.2.1.26, AGPase - EC 2.2.7.27, fosforilase do amido (SPase) - EC 2.4.1.1, SuSy - EC 2.4.1.13, FBPases - EC 3.1.3.11 e desidrogenase do NADP: gliceraldeído-3-fosfato (NADP-GAPDH) - EC 1.2.1.12 (Praxedes *et al.*, 2006). Os ensaios supracitados foram previamente otimizados de acordo com a linearidade da resposta ao volume de extrato e tempo de reação. Esses ensaios e os subsequentes foram executados num leitor de placa "Elisa" (Molecular Devices, Sunny Valle, EUA). A concentração de proteína total foi determinada conforme Bradford (1976), utilizando-se de uma curva de calibração com BSA. Metabólitos foram extraídos de discos foliares (~400 mg MF) segundo Trethewey *et al.* (1998), num extrato com ácido tricloroacético (TCA) 16% (m/v) em dietiléter e deixado em gelo por cerca de 20 min, sendo acrescentados 800 µL de solução aquosa a 16% TCA com EGTA 5 mol.m<sup>-3</sup>. O homogenato foi, então, transferido para microtubos de centrifuga e deixados em gelo, por 3 h. Depois de completada a extração em gelo, as amostras foram centrifugadas por 5 min, a 15000 g, aproveitando-se somente a fase aquosa, que foi transferida para outro microtubo. O sobrenadante foi posteriormente lavado três vezes com 1 mL de éter dietílico saturado em água, para removerem-se contaminações de caráter apolar e TCA. Todo o material usado na extração foi previamente lavado com HCl 2 kmol.m<sup>-3</sup> e exaustivamente enxaguado com água destilada e desionizada, para evitarem-se contaminações com Pi. O branco foi obtido seguindo-se todos os passos, excluindo-se a amostra. A quantificação de glicose-6-fosfato (G6P), G1P e F6P foi efetuada pelo método cíclico, conforme Gibon *et al.* (2002), Pi conforme Penney (1976), e ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP) conforme Stitt (1989). As folhas utilizadas do terço superior médio das plantas, assim que destacadas da planta, tiveram seus pecíolos rapidamente imersos em água e, então foram transferidas para o laboratório. Foram utilizados discos de 10 mm de diâmetro do limbo foliar. Os discos foram mantidos, durante 2 h, no escuro. O padrão de marcação com <sup>14</sup>C foi realizado em um eletrodo de oxigênio, usando-se de uma câmara de Clark de fase gasosa (Hansatech, Kings Lynn, Norfolk, Reino Unido), sob 900 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de radiação fotossinteticamente ativa, a 35°C, por 30 min. O dióxido de carbono foi suprido a partir de 400 µL de uma solução 1 kmol.m<sup>-3</sup> de NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> [atividade específica de 1,96 GBq.mmol<sup>-1</sup> (pH 9,3)], aplicada na base da câmara. Em seguida, os discos foliares foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80°C, até o momento do uso. Posteriormente, o

tecido foliar foi fracionado, para determinar-se o destino metabólico do  $^{14}\text{CO}_2$  assimilado, de acordo com Lytovchenko *et al.* (2002).

## Resultados e Discussão

Durante a fase de ganho linear de massa seca dos frutos, quando estes passam a ser drenos fortes, verificaram-se maiores valores cumulativos diários de  $A$  nas plantas sem redução da carga de frutos em comparação com aquelas em que a carga de frutos foi eliminada (dados não mostrados). Maiores valores de  $A$ , na medida em que a carga de frutos aumenta, já foram relatados em café (Vaast *et al.*, 2005; Franck *et al.*, 2006). Grande parte das diferenças em  $A$  pôde ser explicada em função de diferenças em  $g_s$ . Em maçã, Wünsche *et al.* (2005) observaram que  $A$  e  $g_s$  aumentaram linearmente com o aumento da carga de frutos. No entanto, contrariamente ao verificado neste trabalho, Wünsche *et al.* (2005) detectaram acúmulo de amido nas folhas de plantas com menor carga de frutos. Resultados similares foram também obtidos em manga (Urban *et al.*, 2004). A formação de amido nos cloroplastos e o desvio do  $\text{CO}_2$  fixado para a síntese de amido podem causar, respectivamente, decréscimo na atividade catalítica da rubisco e inibição da síntese de sacarose, que, por sua vez, limitaria a fotossíntese por meio da restrição de fosfato para os cloroplastos (Stitt, 1991). Adicionalmente, o acúmulo de amido, em plantas com baixa atividade de drenos, pode, parcialmente, limitar a fotossíntese, via maior resistência à difusão do  $\text{CO}_2$ , desde os espaços intercelulares até o estroma (Sawada *et al.*, 2001). Em qualquer caso, neste trabalho, as concentrações foliares de amido (Tabela 2), assim como a atividade da AGPase, foram baixas (cf. Praxedes *et al.*, 2006; Ronchi *et al.* 2006), como também a partição de carbono para a sua biossíntese (Tabela 3), independentemente dos tratamentos. Assim, é pouco provável que as diferenças em  $A$  (dados não mostrados) aqui observadas tenham alguma relação com os teores de amido. Com efeito, é também pouco provável que outras alterações metabólicas, em resposta à manipulação da razão fonte:dreno, tenham tido papel de destaque na modulação das taxas de fotossíntese, porquanto (i) as concentrações de hexoses, sacarose e de intermediários fosforilados (G1P, G6P, 6P, Pi, RuBP) (Tabela 2), (ii) as atividades das enzimas que regulam o metabolismo de carbono (e.g. SPS, FBPase e AGPase) e a rubisco (Tabela 1), (iii) o

**Tabela 1** - Efeito da manipulação artificial na relação fonte:dreno, em plantas de café, sobre as atividades foliares  $V_{\text{total}}$  da carboxilase da ribulose-1,5-bisfosfato - Rubisco ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), e  $V_{\text{max}}$  da sintase da sacarose fosfato - SPS ( $\text{mmol sacarose kg}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ ), desidrogenase do NADP: gliceraldeído-3-fosfato - NADP-GAPDH ( $\mu\text{mol gliceraldeído 3 fosfato kg}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ ), fosforilase do amido - SPase ( $\mu\text{mol G1P kg}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ ), fosfatase da frutose-1,6-bisfosfato - FBPase ( $\mu\text{mol F6P kg}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ ), pirofosforilase da ADP-glicose - AGPase ( $\text{nmol G1P kg}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ ), Invertase ácida - INV ( $\mu\text{mol sacarose kg}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ ) e sintase da sacarose - SuSy ( $\mu\text{mol sacarose kg}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ ). As plantas foram distribuídas em três tratamentos: 100% folhas e 0% de frutos (T1), 100% folhas e 50% de frutos (T2), e 50% folhas e 100% de frutos (T3). Os dados foram obtidos em janeiro de 2006 e em março de 2006, épocas nas quais os frutos se achavam na fase linear de ganho de massa seca. Cada valor representa a média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 6$ ); valores seguidos por letras distintas diferem estatisticamente entre si ( $p \leq 0,05$ ; teste de Newman-Keuls). Asterisco (\*) indica diferenças entre épocas de avaliações.

| Frações        | Época   | Tratamentos                   |                               |                               |
|----------------|---------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                |         | 100% Folha<br>0% Fruto        | 100% Folha<br>50% Fruto       | 50% Folha<br>100% Fruto       |
| Rubisco        | Janeiro | 34,5 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>   | 34,6 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>   | 37,2 $\pm$ 2,8 <sup>a</sup>   |
|                | Março   | 31,0 $\pm$ 3,5 <sup>a</sup>   | 29,6 $\pm$ 2,6 <sup>a</sup>   | 30,7 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>   |
| SPS            | Janeiro | 100,2 $\pm$ 11,4 <sup>a</sup> | 103,3 $\pm$ 13,7 <sup>a</sup> | 154,4 $\pm$ 38,3 <sup>a</sup> |
|                | Março   | 94,3 $\pm$ 12,1 <sup>a</sup>  | 88,6 $\pm$ 6,8 <sup>a</sup>   | 109,9 $\pm$ 7,9 <sup>a</sup>  |
| NADP-<br>GAPDH | Janeiro | 63,8 $\pm$ 5,2 <sup>a*</sup>  | 62,6 $\pm$ 7,4 <sup>a</sup>   | 70,1 $\pm$ 5,84 <sup>a*</sup> |
|                | Março   | 40,8 $\pm$ 8,8 <sup>a</sup>   | 46,8 $\pm$ 7,3 <sup>a</sup>   | 43,8 $\pm$ 10,9 <sup>a</sup>  |
| SPase          | Janeiro | 0,20 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>  | 0,17 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>  | 0,19 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>  |
|                | Março   | 0,23 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>  | 0,19 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>  | 0,20 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>  |
| FBPase         | Janeiro | 3,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>    | 3,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>    | 3,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>    |
|                | Março   | 3,6 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>    | 3,4 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>    | 3,3 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>    |
| AGPase         | Janeiro | 60,1 $\pm$ 6,2 <sup>a</sup>   | 46,8 $\pm$ 5,3 <sup>a</sup>   | 54,4 $\pm$ 7,1 <sup>a</sup>   |
|                | Março   | 57,5 $\pm$ 4,6 <sup>a</sup>   | 41,2 $\pm$ 3,7 <sup>a</sup>   | 50,5 $\pm$ 13,2 <sup>a</sup>  |
| INV            | Janeiro | 0,16 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>  | 0,18 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>  | 0,17 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>  |
|                | Março   | 0,2 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>   | 0,21 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>  | 0,19 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>  |
| SuSy           | Janeiro | 3,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>    | 2,8 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>    | 2,9 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>    |
|                | Março   | 2,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>    | 2,6 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>    | 2,6 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>    |

estado de ativação da SPS e da rubisco (dados não mostrados), (iv) e a partição do carbono pouco (Tabela 3) ou nada responderam aos tratamentos aplicados. Ressalte-se que, nos experimentos sobre fluxo metabólico, tinha-se uma concentração de  $\text{CO}_2$  saturante ( $\sim 5\%$ ) e, portanto, as limitações difusivas, nessa condição, devem ser mínimas. Conseqüentemente, a incorporação similar de  $^{14}\text{C}$  nos tecidos fotossintéticos pode ser tomada como evidência de que a capacidade fotossintética não foi afetada pelos tratamentos impostos. Analisados em conjunto, os presentes resultados indicam que o aumento em  $A$ , na medida em que a razão

fonte:dreno diminuiu, foi largamente independente da bioquímica da fotossíntese, sendo governado, fundamentalmente, por maior disponibilidade interna de CO<sub>2</sub> associado a maior g<sub>s</sub>. Considerando-se as diferenças em A entre as plantas analisadas, e as similaridades nas concentrações de sacarose e de outros carboidratos (como também na partição de <sup>14</sup>C) entre elas, sugere-se que as taxas de exportação de assimilados tenham sido maiores com a redução da razão fonte:dreno. Usualmente, maior taxa de exportação está associada com maior atividade (ou ativação) da SPS (Praxedes *et al.*, 2006), porém neste trabalho, isto não foi observado.

A redução de A com o aumento da razão fonte:dreno foi, contudo, largamente dissociada de retroinibição da fotossíntese decorrente do acúmulo de carboidratos. Estes resultados estão em franco contraste com o que vem sendo publicado na literatura sobre manipulação da relação fonte-dreno.

### Conclusões

Em conjunto, os resultados indicam que a redução na razão fonte:dreno pode afetar positivamente a fotossíntese, via aumentos na condutância estomática, porém sem alterar a bioquímica da fotossíntese durante a fase de rápido crescimento dos frutos do cafeeiro.

**Tabela 2** - Efeito da manipulação artificial na relação fonte:dreno sobre as concentrações de glicose, frutose, sacarose (mmol kg<sup>-1</sup> MF), amido (mmol eqv. Glicose kg<sup>-1</sup> MF), glicose-6-fosfato - G6P, frutose-6-fosfato - F6P, glicose-1-fosfato - G1P, ribulose-1,5-bisfosfato – RuBP (μmol kg<sup>-1</sup> MF) e ortofosfato - Pi (mmol kg<sup>-1</sup> MF) em plantas de café cultivadas em campo. Vide legenda da Tabela 1 para outros detalhes.

| Frações  | Época   | Tratamentos              |                          |                          |
|----------|---------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|          |         | 100% Folha<br>0% Fruto   | 100% Folha<br>50% Fruto  | 50% Folha<br>100% Fruto  |
| Glicose  | Janeiro | 17,0 ± 3,0 <sup>a</sup>  | 17,0 ± 2,7 <sup>a*</sup> | 24 ± 4,5 <sup>a</sup>    |
|          | Março   | 23,2 ± 3,0 <sup>a</sup>  | 29,6 ± 1,8 <sup>a</sup>  | 22,2 ± 2,8 <sup>a</sup>  |
| Frutose  | Janeiro | 11,7 ± 0,8 <sup>a</sup>  | 16,0 ± 2,2 <sup>a*</sup> | 13,1 ± 0,8 <sup>a</sup>  |
|          | Março   | 16,7 ± 2,2 <sup>a</sup>  | 21,4 ± 2,0 <sup>a</sup>  | 16,0 ± 1,9 <sup>a</sup>  |
| Sacarose | Janeiro | 137 ± 4,5 <sup>a</sup>   | 113 ± 6,4 <sup>a</sup>   | 131 ± 8 <sup>a</sup>     |
|          | Março   | 135 ± 11,8 <sup>a</sup>  | 114 ± 7,9 <sup>a</sup>   | 142 ± 5,8 <sup>a</sup>   |
| Amido    | Janeiro | 16,5 ± 1,0 <sup>a</sup>  | 18,5 ± 2,7 <sup>a</sup>  | 10,9 ± 14 <sup>a*</sup>  |
|          | Março   | 17,2 ± 1,1 <sup>a</sup>  | 18,3 ± 2,6 <sup>a</sup>  | 17,5 ± 0,8 <sup>a</sup>  |
| G6P      | Janeiro | 1534 ± 225 <sup>a</sup>  | 1538 ± 168 <sup>a</sup>  | 1943 ± 356 <sup>a</sup>  |
|          | Março   | 1504 ± 268 <sup>a</sup>  | 1324 ± 257 <sup>a</sup>  | 1896 ± 229 <sup>a</sup>  |
| G1P      | Janeiro | 963 ± 176 <sup>a*</sup>  | 1184 ± 24 <sup>a*</sup>  | 715 ± 138 <sup>a*</sup>  |
|          | Março   | 1352 ± 94 <sup>a</sup>   | 883 ± 94 <sup>a</sup>    | 1203 ± 67 <sup>a</sup>   |
| F6P      | Janeiro | 968 ± 159 <sup>a</sup>   | 1130 ± 198 <sup>a</sup>  | 1170 ± 258 <sup>a</sup>  |
|          | Março   | 1023 ± 171 <sup>a</sup>  | 820 ± 83 <sup>a</sup>    | 1049 ± 141 <sup>a</sup>  |
| RuBP     | Janeiro | 135 ± 25 <sup>a</sup>    | 159 ± 30 <sup>a</sup>    | 174 ± 15 <sup>a</sup>    |
|          | Março   | 148 ± 6 <sup>a</sup>     | 138 ± 8 <sup>a</sup>     | 178 ± 25 <sup>b</sup>    |
| Pi       | Janeiro | 3,88 ± 0,46 <sup>a</sup> | 3,11 ± 0,26 <sup>a</sup> | 3,78 ± 0,32 <sup>a</sup> |
|          | Março   | 3,69 ± 0,63 <sup>a</sup> | 3,19 ± 0,26 <sup>a</sup> | 4,11 ± 0,55 <sup>a</sup> |

**Tabela 3** - Efeito da manipulação artificial na relação fonte:dreno sobre a partição do <sup>14</sup>C fotossintético em folhas de plantas de café cultivadas em campo. Valores de radioatividade incorporada nas diferentes frações (aniônica = ácidos orgânicos; catiônica = aminoácidos; neutra = açúcares solúveis totais; e insolúvel = amido e componentes de parede celular) são expressos em kBq.m<sup>-2</sup>. Valores representam a média ± erro-padrão (n = 6). Vide legenda da Tabela 1 para outros detalhes

| Frações   | Época   | Tratamentos             |                         |                         |
|-----------|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|           |         | 100% Folha<br>0% Fruto  | 100% Folha<br>50% Fruto | 50% Folha<br>100% Fruto |
| Aniônica  | Janeiro | 100 ± 14 <sup>a</sup>   | 112 ± 18 <sup>a</sup>   | 103 ± 7 <sup>a</sup>    |
|           | Março   | 97 ± 14 <sup>a</sup>    | 93 ± 7 <sup>a</sup>     | 97 ± 14 <sup>a</sup>    |
| Catiônica | Janeiro | 192 ± 25 <sup>b</sup>   | 272 ± 44 <sup>ab</sup>  | 337 ± 24 <sup>a*</sup>  |
|           | Março   | 214 ± 23 <sup>a</sup>   | 184 ± 27 <sup>a</sup>   | 179 ± 14 <sup>a</sup>   |
| Neutra    | Janeiro | 1544 ± 215 <sup>a</sup> | 1622 ± 308 <sup>a</sup> | 1798 ± 112 <sup>a</sup> |
|           | Março   | 1733 ± 190 <sup>a</sup> | 1613 ± 201 <sup>a</sup> | 2048 ± 464 <sup>a</sup> |
| Insolúvel | Janeiro | 33 ± 4 <sup>a*</sup>    | 37 ± 3 <sup>a</sup>     | 27 ± 3 <sup>a</sup>     |
|           | Março   | 43 ± 2 <sup>a</sup>     | 39 ± 3 <sup>a</sup>     | 28 ± 4 <sup>a</sup>     |
| Total     | Janeiro | 1922 ± 123 <sup>a</sup> | 2044 ± 365 <sup>a</sup> | 2257 ± 164 <sup>a</sup> |
|           | Março   | 2088 ± 162 <sup>a</sup> | 2146 ± 299 <sup>a</sup> | 2536 ± 158 <sup>a</sup> |

## Referências Bibliográficas

- Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Franck N.; Vaast P.; Génard M.; Dauzat J. (2006) Soluble sugars mediate sink feedback down-regulation of leaf photosynthesis in field-grown *Coffea arabica*. *Tree Physiology* 26, 517-525.
- Gibon Y.; Vigeolas H.; Geigenberger P.; Stitt M. (2002) Sensitive and high throughput metabolite assays for inorganic pyrophosphate, ADPGlc, nucleotide phosphates, and glycolytic intermediates based on a novel enzymatic cycling system. *The Plant Journal* 30, 221-235.
- Herold A. (1980) Regulation of photosynthesis by sink activity - the missing link. *New Phytologist* 86, 131-144.
- Iglesias J.D.; Liso I.; Tadeo F.R.; Talon M. (2002) Regulation of photosynthesis through source:sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. *Physiologia Plantarum* 116, 563-572.
- Lytovchenko A.; Bieberich K.; Willmitzer L.; Fernie A.R. (2002) Carbon assimilation and partitioning in potato leaves deficient in plastidial phosphoglucomutase. *Planta* 215, 802-811.
- McCormick A.J.; Cramer M.D.; Watt D.A. (2006) Sink strength regulates photosynthesis in sugarcane. *New Phytologist* 171, 759-770.
- Moore S., Stein W.H. (1948) Photometric ninhydrin method for use in chromatography of amino acids. *Journal of Biological Chemistry* 176, 367-388.
- Neuhaus E.H.; Stitt M. (1990) Control analysis of photosynthate partitioning: impact of reduced activity of ADP-glucose pyrophosphorylase or plastid phosphoglucomutase on the fluxes to starch and sucrose in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Planta* 182, 44-54.
- Penney C.L. (1976) A simple micro-assay for inorganic phosphate. *Analytical Biochemistry* 75, 201-210.
- Paul M.J.; Foyer C.H. (2001) Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52, 1383-1400.
- Praxedes S.C.; DaMatta F.M.; Loureiro M.E.; Ferrão M.A.G.; Cordeiro A.T. (2006) Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canefora* Pierre var. *kouillou*) leaves. *Environmental and Experimental Botany* 56, 263-273.
- Preiss J. (1982) Regulation of the biosynthesis and degradation of starch. *Annual Review of Plant Physiology* 33, 431-454.
- Ronchi C.P.; DaMatta F.M.; Batista K.D.; Moraes G.A.B.K.; Loureiro M.E.; Ducatti C. (2006) Growth and photosynthetic down-regulation in *Coffea arabica* in response to restricted root volume. *Functional Plant Biology* 33, 1013-1023.
- Rufty T.W.; Huber S. (1983) Changes in starch formation and activities of sucrose phosphate synthase and cytoplasmic fructose-1,6-bisphosphatase in response to source-sink alterations. *Plant Physiology* 72, 474-480.
- Sawada S.; Kuminaka M.; Watanabe K.; Sato A.; Kawamura H.; Komine K.; Sakamoto T.; Kassai A. (2001) The mechanism to suppress photosynthesis through end-product inhibition in single-rooted soybean leaves during acclimation to CO<sub>2</sub> enrichment. *Plant and Cell Physiology* 42, 1093-1102.
- Stitt M.; Lilley R.M.C.; Gerhard R.; Heldt H.W. (1989) Metabolite levels in specific cells and subcellular compartments of plant leaves. In: Colowick S.P., Kaplan N.O. (Eds.), *Methods in enzymology*. vol. 174, Academic Press, San Diego, 518-555 p.
- Stitt M. (1991) Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell and Environment* 14, 741-762.
- Urban L.; Léchaudel M.; Lu P. (2004) Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. *Journal of Experimental Botany* 55, 2075-2085.
- Vaast P.; Angrand J.; Franck N.; Dauzat J.; Génard M. (2005) Fruit load and branch ring-barking affect carbon allocation and photosynthesis of leaf and fruit of *Coffea arabica* in the field. *Tree Physiology* 25, 753-760.
- Wünsche J.N.; Greer D.H.; Laing W.A.; Palmer J.W. (2005) Physiological and biochemical leaf and tree responses to crop load in apple. *Tree Physiology* 25, 1253-1263.