

PAULO CEZAR CAVATTE

**VARIAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS NA
ACLIMATAÇÃO E REACLIMATAÇÃO DO CAFEIEIRO
À DISPONIBILIDADE DE LUZ E DE ÁGUA**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2011**

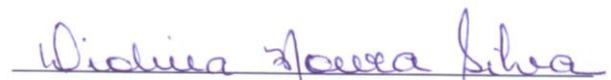
PAULO CEZAR CAVATTE

**VARIAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS NA
ACLIMATAÇÃO E REACLIMATAÇÃO DO CAFEIEIRO
À DISPONIBILIDADE DE LUZ E DE ÁGUA**

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

APROVADA: 29 de abril de 2011.


Prof. Adriano Nunes Nesi


Prof^a. Diolina Moura Silva


Prof. Marco Aurélio Pedron e Silva


Prof. Raimundo Santos Barros


Prof. Fábio Murilo DaMatta
(Orientador)

Dedico

*Aos meus queridos pais,
Aivaldo “in memoriam” e Helenice.*

*A minha amada esposa,
Rithiely.*

*Ao meu precioso filho,
Luis Felipe.*

AGRADECIMENTOS

Ao Trino Deus sejam dadas ações de graças, honra, glória, e poder para todo o sempre.

À minha amada e virtuosa esposa Rithiely, pelo amor incondicional, companhia inseparável e infinita compreensão, fazendo minha vida cada vez mais feliz.

Aos meus pais, Aivaldo “*in memoriam*” e Helenice, pelo exemplo de vida que será sempre seguido, pelo amor sempre compartilhado, e pelos valores familiares, que serão sempre honrados.

À Universidade Federal de Viçosa, de maneira especial ao Departamento de Biologia Vegetal e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade e ajuda para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelos recursos fornecidos para o financiamento deste trabalho.

Ao professor Fábio Murilo DaMatta, pela amizade, orientação, empenho e cumplicidade na realização deste trabalho.

A todos os integrantes do ‘Grupo Café’: Alice, Aline, Daniele, Gustavo, Josimar, Kelly, Leandro, Lílian, Lucas, Marco Antônio, Mariela, Medina, Nelson, Paulo Eduardo, Rodrigo e Yesid, pela ajuda em todos os momentos durante a realização deste trabalho, fazendo com que tudo se tornasse mais divertido e prazeroso. Aprendi muito com todos, além do título alcançado, agradeço a Deus pela amizade verdadeira que compartilhamos. Em especial, agradeço aos amigos Leandro, Nelson, Paulo Eduardo e Samuel, sempre presentes, sempre dispostos, sempre pacientes e para sempre amigos.

Aos professores Marco Aurélio Pedron Silva, Marcelo Ehler Loureiro, Rolf Puschmann, Juraci Alves e José Cambraia, pelos ensinamentos, conhecimentos e incentivos transmitidos durante este curso.

Aos professores Adriano Nunes Nesi e Raimundo Santos Barros e as professoras Diolina Moura Silva (Universidade Federal do Espírito Santo) e Marília Conti Ventrela, pela colaboração, orientações e sugestões para a melhoria deste trabalho.

Aos professores Fernando Valladares (Museu Nacional de Ciências Naturais, Espanha), Jeroni Galmés (Universidade das Ilhas Baleares, Espanha) e Miquel González-Meler (Universidade de Illinois, Estados Unidos), pelos valorosos ensinamentos que muito ajudaram para o meu crescimento científico.

Aos funcionários Carlos Raimundo, Francine, Geraldo, Luciene, Mercês, Oswaldo, Reginaldo, Zé Antônio e Zé Maria, pela amizade, pela ajuda, pelas brincadeiras e pelo carisma.

A todos os amigos conquistados durante o curso Técnico em Agropecuária (Colatina-ES) e durante o curso de graduação em Agronomia (Alegre-ES), meu eterno agradecimento pelo prestígio, incentivo, confiança e por sempre terem-me ajudado da melhor maneira possível.

A todos os colegas de curso, pela força, companheirismo e apoio.

A todos os irmãos da Igreja Cristã Maranata de Viçosa, pelas orações.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	vii
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
I. Capítulo 1: Introdução geral	1
1.1 Crescimento e disponibilidade de recursos.....	1
1.2 Plasticidade fenotípica: Importância e conceitos.....	3
1.3 Plasticidade em ambientes heterogêneos.....	4
1.4 Composição química, custos de construção e manutenção.....	6
1.5 Particularidades do café.....	7
1.6 Referências.....	9
II. Capítulo 2: A plasticidade da taxa de crescimento relativo de <i>Coffea arabica</i> em resposta à disponibilidade de luz e de água é coordenada pela integração fenotípica	13
2.1 Introdução.....	13
2.2 Material e Métodos.....	15
2.2.1 Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental.....	15
2.2.2 Análise de crescimento.....	17
2.2.3 Parâmetros de fluorescência e trocas gasosas.....	18
2.2.4 Custos de construção do tecido foliar.....	19
2.2.5 Correlação linear entre as variáveis e análise de trilha.....	19
2.2.6 Plasticidade e integração fenotípica.....	20
2.3 Resultados.....	21
2.3.1 Efeito dos fatores e suas interações.....	21
2.3.2 Coeficientes de resposta do crescimento.....	23
2.3.3 Plasticidade e integração fenotípica.....	23
2.4 Discussão.....	33
2.5 Referências.....	36

III. Capítulo 3: Análise funcional dos custos de construção e de manutenção e da composição química de folhas de <i>Coffea arabica</i> em resposta à disponibilidade de luz e de água.....	39
3.1 Introdução.....	39
3.2 Material e Métodos.....	42
3.2.1 Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental.....	42
3.2.2 Análise de crescimento.....	44
3.2.3 Composição química do tecido foliar.....	44
3.2.4 Custos de construção e de manutenção do tecido foliar.....	46
3.2.5 Partição do nitrogênio.....	47
3.2.6 Análises estatísticas.....	48
3.3 Resultados.....	49
3.4 Discussão.....	55
3.5 Referências.....	65
3.6 Anexos.....	70
IV. Capítulo 4: O sombreamento reduz os efeitos negativos do déficit hídrico em plantas de <i>Coffea arabica</i>? Uma abordagem morfofisiológica.....	73
4.1 Introdução.....	73
4.2 Material e Métodos.....	76
4.2.1 Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental.....	76
4.2.2 Análise de crescimento.....	77
4.2.3 Análises bioquímicas.....	8
4.2.4 Parâmetros de fluorescência e trocas gasosas.....	79
4.2.5 Relações hídricas.....	80
4.2.6 Atividades enzimáticas.....	82
4.2.7 Análises estatísticas.....	82
4.3 Resultados.....	83
4.4 Discussão.....	90
4.5 Referências.....	94
V. Conclusões Gerais.....	99

LISTA DE ABREVIATURAS

A = água

A = taxa de assimilação líquida de carbono

A/E = eficiência instantânea do uso da água

A/g_s = eficiência intrínseca do uso da água

AC = alcalinidade das cinzas

AD = água disponível

AF = área foliar total

AFE = área foliar específica

AMD = amido

AMN = aminoácidos

AO = ácidos orgânicos

APX = peroxidase do ascorbato

AST = açúcares solúveis totais

B = biomassa

B_p/E_c = eficiência de uso da água da planta inteira

C = carbono

CAR = carotenóide

CAT = catalase

C_B = média ponderada da quantidade de clorofilas por quantidade de N

CC = capacidade de campo

CCO = custo de construção

CEL = celulose

CHL = clorofila

C_i = concentração intercelular de CO_2

C_m = concentração de clorofilas

CMT = custo de manutenção total

CRC = coeficientes de resposta do crescimento

CTE = carboidratos totais estruturais

CTN = carboidratos totais não-estruturais

CV = coeficiente de variação
CZ = cinzas
DH = déficit hídrico
 E = transpiração
 E_c = água consumida
 E_d = transpiração diária
 E_g = eficiência de crescimento
 E_L = eficiência de uso da luz
EP = erro-padrão da média
EV = evaporação
F = fenótipo
 F_0 = fluorescência inicial
FDA = fibra solúvel em detergente ácido
FDN = fibra solúvel em detergente neutro
FEN = fenóis solúveis totais
 F_m = fluorescência máxima
FMC = fração de massa caulinar
FMF = fração de massa foliar
FMFA = fração de massa da parte aérea
FMR = fração de massa radicular
FSI = fotossistema I
FSII = fotossistema II
 F_v = fluorescência variável
 F_v/F_m = eficiência fotoquímica máxima do FSII
GR = redutase da glutatona
 g_s = condutância estomática
 H_c = calor de combustão
HCE = hemicelulose
IF = integração fenotípica
IIF = índice de integração fenotípica
IPF = índice de plasticidade fenotípica
 J_{max} = taxa máxima de transporte de elétrons
 k = estado de oxidação da fonte de N

K_L = condutância hidráulica foliar
L = luz
LIG = lignina
MIN = minerais
N = nitrogênio
 N_{org} = nitrogênio orgânico
 N_m = nitrogênio total em base de massa
 N_{nit} = nitrogênio na forma nítrica
NPQ = coeficiente de extinção não-fotoquímico
 P_b = fração de N em componentes da cadeia de transporte de elétrons
PF = plasticidade fenotípica
 P_1 = fração de N em pigmentos envolvidos na captura de luz e proteínas associadas
PMP = ponto de murcha permanente
PNF = produtividade do N foliar
 P_r = fração de N em Rubisco
PRO = proteínas
 P_s = fração de N em componentes estruturais
 qL = coeficiente de extinção fotoquímico
 r = coeficiente de correlação linear de Pearson
RFA = radiação fotossinteticamente ativa
 R_p = teor relativo de água no ponto de perda de turgescência
SOD = dismutase do superóxido
TAL = taxa assimilatória líquida
TCR = taxa de crescimento relativo
 TCR_A = taxa de crescimento relativo da altura da planta
 TCR_D = taxa de crescimento relativo do diâmetro do caule
 TCR_R = taxa de crescimento relativo do comprimento dos ramos
TRA = teor relativo de água
TTE = taxa de transporte de elétrons
 V_{cmax} = velocidade máxima de carboxilação
 $\delta^{13}C$ = composição isotópica de carbono
 ε = módulo global de elasticidade
 Φ_{FSII} = rendimento quântico do transporte de elétrons

Φ_{NO} = outros mecanismos de dissipação energética

Φ_{NPQ} = rendimento não-fotoquímico associado à dissipação de energia pelo ciclo das xantofilas

Ψ_{am} = potencial hídrico foliar na antemanhã

Ψ_{md} = potencial hídrico foliar ao meio-dia

$\Psi\pi_0$ = potencial osmótico em turgescência nula incipiente

$\Psi\pi_{100}$ = potencial osmótico em turgescência plena

RESUMO

CAVATTE, Paulo Cezar. D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, abril de 2011. **Variações morfofisiológicas na aclimação e reaclimação do cafeeiro à disponibilidade de luz e de água.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta. Co-Orientadores: Fernando Javier Valladares Ros e Marília Contin Ventrella.

No presente trabalho, plantas de *Coffea arabica* submetidas à combinação de condições contrastantes de luz (sombra e pleno sol) e água (déficit hídrico e capacidade de campo) foram avaliadas para investigarem-se os efeitos da interação desses fatores sobre (i) a plasticidade e integração fenotípica, (ii) custos de construção, manutenção, composição química e tempo de retorno do tecido foliar, e (iii) as relações entre a disponibilidade de luz e tolerância à seca. Para tal, plantas foram cultivadas por oito meses sob sombreamento (15% da radiação solar) e a pleno sol. Após a emissão do oitavo par de ramos plagiotrópicos, os dois tratamentos lumínicos foram, então, combinados com dois níveis de água disponível no solo (déficit hídrico e capacidade de campo, aqui definidos como sendo 30 e 100% de água disponível no solo, respectivamente); plantas cultivadas à sombra foram transferidas para pleno sol e vice-versa. No primeiro experimento, testou-se a hipótese de que a integração fenotípica é fundamental para coordenar as alterações fisiológicas e morfológicas (plasticidade fenotípica), associadas com a taxa de crescimento relativo (TCR), sob disponibilidade limitada de recursos (luz e água). Os resultados da análise de crescimento e de trilha revelaram que TCR foi fortemente associada com a taxa assimilatória líquida, sem contribuição significativa da área foliar específica e da razão de massa foliar. Os fenótipos mais integrados exibiram as maiores variações em TCR sob limitações de recursos. Em contraste com a visão atual, a plasticidade e a integração fenotípica foram positivamente relacionadas. No segundo experimento, foram analisados os efeitos combinados da disponibilidade de luz e água sobre a TCR, composição química, custos de construção e manutenção do tecido foliar e os benefícios em termos de tempo de retorno. No geral, a maioria das características

avaliadas foram mais sensíveis à disponibilidade de luz do que a variação do suprimento hídrico. Maior custo de construção (12%), principalmente associado com maior concentração de fenóis solúveis totais, foram encontrados em folhas expandidas a pleno sol, havendo correlação positiva entre a concentração destes compostos com TCR. O tempo de retorno foi notavelmente inferior em folhas expandidas a pleno sol e, aumentos significativos ocorreram em folhas expandidas sob deficiência hídrica. As diferenças nos custos de manutenção entre os tratamentos foram pequenas, sem qualquer impacto significativo sobre a TCR, não havendo competição na alocação de recursos entre o crescimento e a defesa. Destaca-se que a maior proporção do nitrogênio (N) foliar (>70%) foi alocado em compostos do metabolismo secundário, não associados à fotossíntese e, portanto, uma baixa eficiência fotossintética do uso do N se torna implícita, independentemente da disponibilidade de luz e de água. No terceiro estudo, baseado em evidências indiretas, hipotetizou-se que o sombreamento poderia atenuar os impactos negativos da seca em *C. arabica*. Uma gama (49) de características morfológicas e fisiológicas foram examinadas para avaliar se os impactos combinados da disponibilidade de luz e de água, sobre a morfologia e a fisiologia, seriam positivos, negativos ou independentes. No geral, as características avaliadas apresentaram fraca ou insignificante resposta para a interação entre os fatores água e luz, explicando menos de 10% da variação total dos dados. Apenas pequenas variações na alocação de biomassa foram observadas entre os tratamentos. A pleno sol, a seca limitou a taxa fotossintética via limitações estomáticas, sem nenhum sinal de fotoinibição aparente; à sombra, tais restrições eram aparentemente ligadas a fatores bioquímicos. No geral, o sombreamento não atenuou os impactos negativos da seca.

ABSTRACT

CAVATTE, Paulo Cezar. D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, April, 2011. **Morphophysiological changes during acclimation and reacclimation of coffee plants in response to the light and water availability.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta, Co-advisers: Fernando Javier Valladares Ros and Marília Contin Ventrella.

In this study, plants of *Coffea arabica* subjected to a combination of contrasting light (shade and full sun) and water (drought and field capacity) conditions were assessed to investigate the effects of the interaction of these factors on (i) the phenotypic plasticity and integration, (ii) construction and maintenance costs, chemical composition and payback time of leaves, and (iii) the relationships between the availability of light and drought tolerance. Seedlings were grown for eight months under shade (15% of solar radiation) and full sun. Following the appearance of the eighth pair of plagiotropic branches, the two light treatments were then combined with two levels of available soil water (drought and field capacity, here defined as 30 and 100% available soil water, respectively); plants grown under shade were also transferred to full sun and vice versa. In the first experiment, it was tested the hypothesis that phenotypic integration is essential to coordinate physiological and morphological traits (phenotypic plasticity) associated with the relative growth rate (RGR) under limited availability of resources (light and water). Growth and track analyses revealed that RGR was strongly associated with net assimilation rate, without significant contribution of specific leaf area and leaf weight ratio. The more integrated phenotypes exhibited the largest variations in RGR under resource constraints. In contrast to the current view, phenotypic plasticity and integration were positively related to each other. In the second experiment, the combined effects of light availability and water on the RGR, chemical composition, construction and maintenance costs of the leaf tissue and the benefits in terms of payback were analyzed. In general, most traits were more sensitive to the availability of light than the

variation of the water supply. Increased construction costs (12%), mainly associated with higher concentrations of total soluble phenolics, were found in sun-expanded leaves. There was a positive correlation between these compounds and the RGR, the net carbon assimilation rate and the carbon isotope composition ratio, which, in turn, correlated negatively with the specific leaf area. The payback time was remarkably lower in the sun than in shade leaves and increased greatly in water-deprived plants. The differences in maintenance costs among the treatments were narrow, with no significant impact on the RGR, and there was no apparent trade-off in resource allocation between growth and defence. It is noteworthy that the largest proportion of leaf nitrogen (> 70%) was allocated to secondary metabolic compounds, not associated with photosynthesis and therefore a low photosynthetic nitrogen use efficiency becomes implicit, regardless of the availability of light and water. In the third study, based on indirect evidence, it was hypothesized that shading could mitigate the negative impacts of drought in *C. arabica*. A variety (47) of morphological and physiological characteristics were examined to assess whether the combined impacts of the available light and water on the morphology and physiology would be positive, negative, or independent. Overall, the traits evaluated showed weak or negligible response to the light x water interaction, explaining less than 10% of total data variation. Only minor variations in biomass allocation were observed among the treatments. Under full sun, drought limited the photosynthetic rates through stomatal limitations without any apparent sign of photoinhibition; in the shade, such restrictions were apparently linked to biochemical factors. Overall, the shading did not alleviate the negative impacts of drought on the coffee tree.

I. CAPÍTULO I

Introdução geral

A grande maioria dos estudos realizados sobre plasticidade fenotípica associando-se os efeitos combinados das disponibilidades de água e de luz foi feita em espécies de regiões temperadas e mediterrâneas; com efeito, estudos para se avaliar esses efeitos em espécies lenhosas tropicais com potencial agrônômico são virtualmente inexistentes. No caso particular do cafeeiro, que, em condições de campo, pode facilmente estar submetido aos efeitos concomitantes dos estresses hídrico e luminoso, a compreensão de suas respostas ecofisiológicas a esses estresses reveste-se de alta complexidade. Faz-se necessária, portanto, a instalação de experimentos em desenhos fatoriais para explorar o efeito funcional da plasticidade fenotípica do cafeeiro, em resposta a diferentes condições hídricas, lúminicas e aos efeitos combinados desses fatores, como forma de dissociarem-se os efeitos de cada um deles. Esta abordagem poderá permitir concluir o que realmente está contribuindo para determinar a estratégia da espécie frente a deficiências de recursos.

1.1 Crescimento e disponibilidade de recursos

Devido à natureza sedentária das plantas, muitos dos seus aspectos ecofisiológicos são fortemente influenciados pela variação espacial e/ou temporal na disponibilidade de recursos acima (luz e CO₂) e abaixo (água e nutrientes) do solo. As plantas podem alterar o padrão de alocação de biomassa para os diferentes órgãos em resposta a diferentes disponibilidades de recursos, de forma a maximizar os investimentos (Poorter e Nagel, 2000). Segundo a teoria do "equilíbrio funcional" (Brouwer, 1962), as plantas aumentam a alocação de biomassa para a parte aérea se o ganho de carbono for afetado por recursos

limitantes acima do solo, como luz e CO₂. Da mesma forma, as plantas aumentariam a alocação de biomassa para as raízes quando submetida a baixos níveis de recursos abaixo do solo, como água e nutrientes. Assim, a flexibilidade da alocação de biomassa é vista como uma estratégia importante para as plantas maximizarem a taxa de crescimento em ambientes com disponibilidade variável de recursos (Poorter e Nagel, 2000; Sultan, 2000). Contudo, o efeito de flutuações na disponibilidade de recursos sobre o desempenho da planta (sobrevivência, crescimento e reprodução) dependerá da capacidade do vegetal de ajustar o seu fenótipo de forma adequada e com certa velocidade. Dessa forma, a plasticidade fenotípica somente será adaptativa (funcional) se for devidamente coordenada com as flutuações ambientais, influenciando positivamente o desempenho da planta (Sultan, 2004).

A taxa de crescimento relativo (TCR) pode ser representada matematicamente pela equação: $TCR = AFE \times TAL \times FMF$. A área foliar específica (AFE), definida como a quantidade de área foliar produzida por unidade de massa foliar, é uma variável que reflete aspectos da morfologia foliar, como densidade e espessura. A fração de massa foliar (FMF) é uma característica morfológica que define a fração da biomassa total distribuída para as folhas, i.e. uma medida do investimento da planta em órgãos fotossintéticos. O componente fisiológico de TCR é representado pela taxa assimilatória líquida (TAL), que expressa o resultado do balanço líquido de CO₂ entre os ganhos obtidos pelo processo fotossintético e as perdas pela respiração das folhas, ramos e raízes. A AFE é geralmente descrita na literatura como sendo o principal fator associado com variações em TCR (Lambers et al., 2008). Contudo, estudos recentes desafiam a visão geral de que AFE seria o principal fator determinante de TCR. Tem-se proposto que a importância de TAL sobre TCR pode ser marcante quando as plantas são cultivadas em altas irradiâncias (Shipley, 2002). Assim, a hipótese de que AFE seja o principal fator associado com variações em TCR deriva-se, em parte, do fato de, em muitos experimentos, as plantas terem sido cultivadas em baixas irradiâncias (< 300 μmol m⁻² s⁻¹ de radiação fotossinteticamente ativa) (Shipley, 2002). Portanto, a importância de parâmetros morfológicos e/ou fisiológicos mudaria, de acordo com a irradiância a que a planta estiver submetida.

Destaca-se que a maioria dos estudos de crescimento de plantas foi realizada sob condições controladas, não limitantes, sem mudanças periódicas da temperatura, radiação, umidade e disponibilidade de nutriente. Nessas condições, espera-se que

características morfológicas (e.g. AFE e FMF) sejam mais relevantes na determinação de TCR do que variáveis fisiológicas (e.g. fotossíntese e respiração e, conseqüentemente, TAL), que são variáveis com resposta plástica às variações da disponibilidade de recursos do ambiente. No entanto, quando a disponibilidade de recursos é limitante, e considerando-se períodos de curta duração (dias ou semanas), diferenças interespecíficas em TCR parecem ser explicadas por variáveis dinâmicas, como TAL. Em contraste, em períodos longos (meses), particularmente quando há pequenas flutuações na disponibilidade de recursos, a importância de TAL pode ser minimizada, e características morfológicas tornar-se-iam mais relevantes na determinação do padrão de crescimento das espécies (Shipley, 2000; Shipley, 2002; Villar et al., 2005).

1.2 Plasticidade fenotípica: Importância e conceitos

Devido ao cenário atual de mudanças climáticas globais, e considerando-se que os principais avanços na agricultura foram concebidos para ambientes favoráveis durante a “Revolução Verde”, o desempenho de culturas sob condições adversas em ambientes marginais, fato antes ignorado, constitui-se atualmente em tema de constante debate (Chaves e Oliveira, 2004). Nesse cenário, a plasticidade fenotípica [capacidade de um determinado genótipo de produzir diferentes fenótipos sob diferentes condições ambientais (Bradshaw, 1965; Valladares et al., 2000; Pigliucci, 2001)] é um meio efetivo de os organismos enfrentarem a heterogeneidade do ambiente, sendo uma estratégia desenvolvida especialmente por organismos sésseis (Sultan, 2000). Frequentemente, a plasticidade fenotípica é descrita como uma norma de reação [diagrama em que se compara a média dos valores fenotípicos expressos por um genótipo, sob duas ou mais condições ambientais] (Schlichting e Pigliucci, 1998) ou mediante índices de plasticidade fenotípica (Valladares et al., 2006). Em todo o caso, devido ao fato de a magnitude da plasticidade observada sob condições naturais ser muitas vezes inferior ao esperado, sugere-se a existência de custos e limites de plasticidade, podendo haver a possibilidade de os custos superarem os benefícios (DeWitt et al., 1998). Os custos podem variar, em função da magnitude das condições ambientais, e são particularmente mais importantes em ambientes estressantes (Steinger et al., 2003).

O padrão de crescimento das plantas na fase juvenil diverge consideravelmente daquele observado na maturidade (Evans, 1972); essas alterações, pré-programadas na trajetória do desenvolvimento, denominadas de mudanças alométricas, ocorrem mesmo

na ausência de variações nas condições do ambiente. Por exemplo, a relação entre crescimento em altura e acúmulo de biomassa em plantas é descrita tipicamente como sendo curvilínea, ocorrendo, proporcionalmente, maiores incrementos na biomassa em relação aos da altura. Esses padrões de crescimento, definidos também como plasticidade aparente, não devem ser considerados como um componente da plasticidade fenotípica (Weiner, 2004). Assim, mudanças alométricas podem ser facilmente confundidas com a plasticidade verdadeira em estudos que envolvem variações nas condições ambientais que afetam a taxa de desenvolvimento vegetal (McConnaughay e Coleman, 1999; Preston e Ackerly, 2004). Contudo, a trajetória ontogenética (deriva ontogenética) não afeta apenas a forma e o tamanho das plantas, mas também altera a capacidade de resposta às variações do ambiente (Evans, 1972; Watson et al., 1995). Essas dificuldades podem ser minimizadas avaliando-se plantas num mesmo estágio ontogenético, principalmente quando o objetivo é estudar a plasticidade adaptativa (de Kroom et al., 2005).

1.3 Plasticidade em ambientes heterogêneos

A resposta das plantas a uma combinação de dois ou mais fatores ambientes, em níveis estressantes, é única e não pode ser extrapolada diretamente a partir da resposta a cada fator atuando de forma isolada. O fato de a planta estar submetida a diferentes níveis de fatores ambientes dá origem a um fenótipo integrado (Pigliucci e Preston, 2004), podendo haver limites para a plena expressão da plasticidade a um fator individual. Assim, a plasticidade potencial para um determinado fator pode ser influenciada por outros fatores bióticos e abióticos que co-ocorrem em ambientes complexos, como os ambientes naturais. Os poucos estudos sobre a importância da integração fenotípica sugerem que ambientes estressantes levam a um aumento dos níveis de integração fenotípica em plantas (Gianoli, 2004). Isso também poderia explicar casos em que há aumento dos custos e redução da plasticidade sob condições estressantes. Embora bem estabelecido que as plantas se desenvolvam sob níveis variados de diferentes fatores ecológicos, a maior parte dos estudos de plasticidade fenotípica foi realizada considerando-se respostas a um único fator ambiente (Valladares et al., 2007). Assim, respostas plásticas a ambientes contrastantes têm sido frequentemente relatadas como sendo adaptativas (Donohue et al., 2003; Dudley, 2004),

mas pode haver exceções (van Kleunen e Fischer, 2005), podendo existir respostas mal-adaptativas (Sánchez-Gómez et al., 2006; Valladares et al., 2007).

As adaptações morfológicas e fisiológicas ao ambiente lumínico devem variar, desde o nível subcelular até níveis macroscópicos (Evans e Poorter, 2001). Folhas de sol, comparadas com as de sombra, são geralmente menores e mais espessas, com maiores taxas de fotossíntese sob luz saturante, maiores taxas respiratórias, paredes celulares mais espessas com maior grau de lignificação e maior conteúdo de nitrogênio alocado na maquinaria fotossintética e em mecanismos de fotoproteção (Evans e Poorter, 2001). Registra-se, no entanto, que folhas de diferentes posições do dossel estão expostas a diferentes condições lumínicas, e, no geral, aumentos de irradiância estão associados com aumentos de temperatura, elevação da demanda evaporativa da água, e, portanto, maior estresse hídrico (Niinemets e Valladares, 2004). Assim, na medida em que a folhagem se desenvolve, folhas inicialmente desenvolvidas sob alta irradiância vão-se tornando progressivamente sombreadas e, portanto, submetidas a menor irradiância e condições hídricas mais favoráveis. Porém, inicialmente, os tecidos foliares desenvolveram características morfofisiológicas visando a aumentar a tolerância aos efeitos negativos da alta irradiância e do déficit hídrico. Contudo, quando essas folhas se tornam sombreadas, aquelas características poderão resultar em maiores limitações à fotossíntese (resultante da redução da difusão do CO₂ dos espaços intercelulares até o sítio de carboxilação, nos cloroplastos), em menor eficiência de absorção da luz e da utilização do nitrogênio fotossintético (Niinemets et al., 2006); além do mais, o investimento em folhas mais espessas, com um maior conteúdo de nitrogênio alocado em maquinaria fotossintética, tenderá a ser ineficiente.

Conclui-se, então, que fenótipos promissores no âmbito de um nível de determinado fator abiótico podem ser mal adaptados para níveis de outro fator. Portanto, uma resposta muito plástica às condições momentâneas, especialmente desfavoráveis, poderá produzir um fenótipo “desequilibrado” (mal-adaptado) ou oneroso para se manter quando houver alterações rápidas das condições do ambiente, sugerindo que os custos de plasticidade podem produzir um impacto negativo na evolução de fenótipos ótimos em organismos que vivem em ambientes heterogêneos. Nesse contexto, a plasticidade fenotípica requer um controle “inteligente” dos recursos captados para desenvolver mecanismos eficientes, de forma que o indivíduo possa se adaptar às modificações do ambiente; caso contrário, tornar-se-ia “desorganizado” (Trewavas, 2005).

1.4 Composição química, custos de construção e manutenção

Os constituintes químicos mais importantes da biomassa vegetal são divididos em oito categorias quantitativamente importantes: minerais, ácidos orgânicos, proteínas, carboidratos totais estruturais, carboidratos totais não-estruturais, lipídeos, lignina e fenóis solúveis (Poorter e Villar, 1997), representando a soma desses compostos entre 80 a 100% da biomassa vegetal. A proporção de cada um desses compostos na biomassa foliar é uma característica importante, pois influencia diretamente a taxa de crescimento da planta; além disso, apresenta implicações ecológicas tanto na sobrevivência da espécie como nas taxas de reciclagem de nutrientes (Villar et al., 2005).

O custo de construção (CCO) de um tecido vegetal é definido pela quantidade de glicose utilizada para a construção de um grama de biomassa (Penning de Vries et al., 1974; Williams et al., 1987). Esse valor não inclui apenas a glicose disponibilizada para a confecção de esqueletos de C, mas também o NAD(P)H e ATP gastos para conduzir as reações que requerem energia para a formação da biomassa. Considerando-se a rota biossintética mais provável, a quantidade de glicose necessária para construir um grama de qualquer uma das oito classes de compostos pode ser calculada (Tabela 1; Penning de Vries et al, 1983; Lambers e Rychter, 1989). Como os custos de captação e transporte são subtraídos da respiração de manutenção, os custos de construção para os minerais são nulos. Dentre os grupos de compostos orgânicos, diferenças em CCO podem variar por um fator de 3, salientando-se que os custos de construção de tecidos vegetais dependerão, especialmente, da contribuição relativa dos compostos mais caros, como lipídios, lignina, fenóis solúveis e proteína.

Tabela 1: Quantidade de glicose necessária para a construção e quantidade de CO₂ produzido durante a síntese de um grama de diferentes compostos.

Composto	Custo de construção (g glicose g⁻¹)	Produção de CO₂ (mmol g⁻¹)
Lipídios	3,03	36,5
Fenóis solúveis	2,60	31,9
Proteínas	2,48	37,9
Lignina	2,12	13,1
Carboidratos estruturais	1,22	2,8
Carboidratos não-estruturais	1,09	1,8
Ácidos orgânicos	0,91	-1,0
Minerais	0	0

Conforme Penning de Vries et al. (1983) e Lambers e Rychter (1989).

A TCR de diferentes espécies pode ser correlacionada com concentrações de algumas substâncias químicas do tecido foliar. Em um estudo com 24 espécies herbáceas constatou-se que o crescimento mais rápido (maior TCR) foi associado com concentrações elevadas de proteína e minerais e negativamente com os teores de hemicelulose e lignina (Poorter e Bergkotte, 1992). A hipótese de compromisso entre crescimento e defesa pode explicar os padrões de composição química foliar (Rhoades e Cates, 1976; Coley 1988). Nesse contexto, a planta enfrenta uma competição energética entre sintetizar compostos de defesa (que têm alto custo metabólico de síntese e armazenamento) ou investir essa energia em outras funções, como crescimento, manutenção e/ou reprodução. Em um estudo pioneiro (Coley, 1988) com 41 espécies tropicais, o compromisso energético entre o crescimento e a defesa foi evidenciado. Espécies que apresentaram maiores taxas de crescimento possuíam folhas com menores concentrações de compostos relacionados com defesas químicas, disponibilizando para o crescimento uma maior proporção energética; não obstante, essas espécies eram mais propensas à desfolha por herbívoros. Em contraste, plantas com maiores concentrações de compostos de defesa em suas folhas cresceram mais lentamente, disponibilizando grande proporção de energia na defesa, porém com a vantagem de serem menos vulneráveis ao ataque de herbívoros. Salienta-se, contudo, que pode inexistir relação negativa entre TCR e CCO, sugerindo que o significado funcional não depende apenas do valor dos custos para a formação da biomassa em si, mas para quais compostos estaria sendo alocada essa energia (Villar et al., 2006).

1.5 Particularidades do café

A espécie *Coffea arabica* L. (café arábica) é originária das florestas tropicais da Etiópia (África), onde é encontrada em estado espontâneo como vegetação de sub-bosque. Para se adaptar a esses ambientes sombreados, o cafeeiro teve que balancear a frutificação, manutenção e o crescimento da planta, gastando na produção de frutos apenas o excedente de fotoassimilados. Assim, o cafeeiro desenvolveu mecanismos morfológicos e fisiológicos de adaptação, visando primariamente à sobrevivência e à perpetuação da espécie em tais condições. No entanto, os trabalhos de melhoramento do cafeeiro foram desenvolvidos de forma que a planta priorizasse a produção de frutos em detrimento da sua sobrevivência, nem que para isso fosse necessário um alto investimento em insumos. Dessa forma, em muitas situações, cafezais a pleno sol podem

produzir mais que aqueles sombreados (DaMatta e Rena, 2002). Como consequência, o sombreamento foi abandonado como uma prática cultural regular em muitas regiões do mundo, como no Brasil. Não obstante, tem-se observado um interesse crescente na reimplantação do sombreamento em cafezais, particularmente em áreas marginais que apresentam grandes oscilações de temperaturas e ocorrência de déficit hídrico, porque essa prática está associada à conservação de recursos do ambiente e por permitir menor uso de insumos para uma produção sustentável de café (DaMatta e Rena, 2002). Contudo, o sombreamento parece uma técnica que não deverá ser adotada sob condições ótimas ou próximas às ótimas à cafeicultura, em função do seu impacto negativo na produção nessas condições.

Não apenas no Brasil, como também em diversos países produtores de café, o déficit hídrico é considerado como a maior limitação ambiental da produção do cafeeiro. Nas principais regiões cafeeiras, normalmente essa limitação ocorre associada a altas temperaturas e irradiâncias (DaMatta, 2004). Com efeito, as variações da temperatura do ar e da umidade relativa e, portanto, do déficit de pressão de vapor, estão intimamente associadas à flutuação diária da radiação solar. Porém, em cafezais sombreados, pode ocorrer decréscimo substancial no déficit de pressão de vapor entre a copa e a atmosfera e, em última análise, na transpiração. Nessa condição, o gradiente absoluto de pressão de vapor entre os espaços internos da folha e o ar adjacente diminui e a transpiração passa a depender muito mais da resistência do ar, e não da resistência estomática. Assim, o influxo de CO₂ para a fotossíntese, na medida em que o estômato permanece mais aberto, não é acompanhado direta e efetivamente por perda de vapor d'água, em face de a contribuição da resistência do ar sobrepujar-se àquela da resistência do estômato. Isso deve contribuir para otimizar a utilização da água pela planta (maior eficiência do uso da água) (DaMatta e Ramalho, 2006).

No cafeeiro, uma vez que se atinja a irradiância de saturação (~600 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em folhas expostas), a fotossíntese prossegue sem decréscimos substanciais até cerca de 1200 $\mu\text{mol} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Kumar e Tieszen, 1980), ou mesmo 1400 $\mu\text{mol} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Ramalho et al., 2000). Isso pressupõe que o café tenha mecanismos eficientes para dissipar o excesso da energia incidente. Todavia, se a fotossíntese e a fotorrespiração não utilizarem a maior fração do poder redutor gerada na fase fotoquímica, pode ocorrer uma sobre-redução da cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto. Nessa condição, elétrons podem daí escapar e serem usados para reduzir o oxigênio molecular, levando à

formação de espécies reativas de oxigênio potencialmente capazes de resultar em danos fotooxidativos (Lima et al., 2002; Pinheiro et al., 2004), popularmente conhecidos como escaldadura. A ocorrência de tais danos é exacerbada sob certas condições, como déficit hídrico, quando a utilização fotoquímica da energia radiante diminui e os mecanismos de defesa da planta podem não ser suficientes para dissipar a energia excedente. O sombreamento, nesse contexto, poderia minimizar a ocorrência da escaldadura (DaMatta e Rena, 2002; DaMatta, 2004).

1.6 Referências

- Bradshaw AD** (1965) Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* **13**: 115-155.
- Brouwer R** (1962) Nutritive influences on the distribution of dry matter in the plant. *Netherlands Journal of Agricultural Sciences* **10**: 361-376.
- Chaves MM, Oliveira MM** (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany* **55**: 2365-2384.
- Coley PD** (1988) Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defence. *Oecologia* **74**: 531-536.
- DaMatta FM** (2004) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research* **86**: 99-114.
- DaMatta FM, Rena AB** (2002) Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. In: Zambolim L, ed. *O Estado da arte de tecnologias na produção de café*. Viçosa, UFV, pp 93-135.
- DaMatta FM, Ramalho JDC** (2006) Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **18**: 55-81.
- DeWitt TJ, Sih A, Wilson DS** (1998) Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* **13**: 77-81.
- Donohue K, Hammond-Pyle E, Messiqua D, Heschel MS, Schmitt J** (2003) Adaptive divergence in plasticity in natural populations of *Impatiens capensis* and its consequences for performance in novel habitats. *Evolution* **55**: 692-702.
- Dudley SA** (2004) The functional ecology of phenotypic plasticity in plants. In: DeWitt TJ, Scheiner SM, eds. *Phenotypic Plasticity. Functional and Conceptual Approaches*. Oxford, Oxford University Press, pp 151-172.
- Evans GC** (1972) *The quantitative analysis of plant growth*. California, University of California Press.
- Evans JR, Poorter H** (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell & Environment* **24**: 755-767.

- Gianoli E** (2004) Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences* **165**: 825-832.
- van Kleunen M, Fischer M** (2005) Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* **166**: 49-60.
- de Kroon H, Stuefer JF, van Groenendael JM** (2005) A modular concept of phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* **166**: 73-82.
- Kumar D, Tieszen LL** (1980) Photosynthesis in *Coffea arabica*. 1. Effects of light and temperature. *Experimental Agriculture* **16**: 13-19.
- Lambers H, Chapin FS, Pons TL** (2008) *Plant Physiological Ecology*. New York, Springer-Verlag.
- Lambers H, Rychter A** (1989) The biochemical background of variation in respiration rate: Respiratory pathways and chemical composition. In: Lambers H, Cambridge ML, Konings H, Pons TJ, eds. *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants*. The Hague, SPB Academic Publishing, pp 199-225.
- Lima ALS, DaMatta FM, Pinheiro HA, Totola MR, Loureiro ME** (2002) Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany* **47**: 239-247.
- McConnaughay KDM, Coleman JS** (1999) Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? Test along tree resource gradients. *Ecology* **80**: 2581-2593.
- Niinemets Ü, Valladares F** (2004) Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light gradients: optimality and constraints. *Plant Biology* **6**: 254-68.
- Niinemets U, Cescatti A, Rodeghiero M, Tosens T** (2006). Complex adjustments of photosynthetic potentials and internal diffusion conductance to current and previous light availabilities and leaf age in Mediterranean evergreen species *Quercus ilex*. *Plant, Cell & Environment* **29**: 1159-1178.
- Penning de Vries FWT, Brunsting AHM, van Laar HH** (1974) Products, requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. *Journal of Theoretical Biology* **45**: 339-377.
- Penning de Vries FWT, Van Laar HH, Chardon MCM** (1983). Bioenergetics of growth of seeds, fruits, and storage organs. In: *Proceedings of the Symposium on Potential Productivity of Field Crops under Different Environments*. Manila, International Rice Institute, pp 37-59.
- Pigliucci M, Preston K** (2004) *Phenotypic Integration: Studying the Ecology and Evolution of Complex Phenotypes*. New York, Oxford University Press.
- Pigliucci M** (2001) *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. Baltimore, John Hopkins University Press.
- Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves ARM, Fontes EPB, Loureiro ME** (2004) Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science* **167**: 1307-1314.

- Poorter H, Bergkotte M** (1992) Chemical composition of 24 wild species differing in relative growth rate. *Plant, Cell and Environment* **15**: 221-229.
- Poorter H, Nagel O** (2000) The role of biomass allocation in the growth responses of plants to different levels of light, CO₂ and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**:595-607.
- Poorter H, Villar R** (1997) The fate of acquired carbon in plants: Chemical composition and construction costs. In: Bazzaz FA, Grace J, eds. *Resource Allocation in Plants*. San Diego, Academic Press, pp. 39-72.
- Preston KA, Ackerly DD** (2004) Allometry and evolution in modular organisms. In: Pigliucci M, Preston KA, eds. *Modularity and Phenotypic Complexity*. Oxford, Oxford University Press, 80-106.
- Ramalho JC, Pons TL, Groenvelde HW, Azinheira HG, Nunes MA** (2000) Photosynthetic acclimation to high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 43-51.
- Rhoades DF, Cates RG** (1976) Towards a general theory of plant antiherbivore chemistry. In: Wallace JW, Mansell RL, eds. *Biochemical Interactions between Plants and Insects: Recent Advances in Phytochemistry*. New York, Plenum Press, pp 168-213.
- Shiple B** (2000) Plasticity in relative growth rate and its components following a change in irradiance. *Plant, Cell & Environment* **23**: 1207-1216.
- Shiple B** (2002) Trade-offs between net assimilation rate and specific leaf area in determining relative growth rate: Relationship with daily irradiance. *Functional Ecology* **16**: 682-689.
- Sánchez-Gómez D, Valladares F, Zavala MA** (2006) Performance of seedlings of Mediterranean woody species under experimental gradients of irradiance and water availability: trade-offs and evidence for niche differentiation. *New Phytologist* **170**: 795-806.
- Schlichting CD, Pigliucci M** (1998) *Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective*. Sunderland, Sinauer Associates.
- Steinger T, Roy BA, Stanton ML** (2003) Evolution in stressful environments: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis*. *Journal of Evolutionary Biology* **16**: 313-323.
- Sultan SE** (2000) Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* **5**: 537-542.
- Sultan SE** (2004) Promising directions in plant phenotypic plasticity. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **6**: 227-233.
- Trewavas A** (2005) Green plants as intelligent organisms. *Trends in Plant Science* **10**: 413-419.
- Valladares F, Gianoli E, Gómez JM** (2007) Ecological limits to plant phenotypic plasticity. Tansley review. *New Phytologist* **176**: 749-763.
- Valladares F, Sanchez-Gomez D, Zavala MA** (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*. **94**: 1103-1116.

- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Pearcy RW** (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* **81**: 1925-1936.
- Villar R, Marañón T, Quero JL, Panadero P, Francisco, Arenas F, Lambers H** (2005) Variation in relative growth rate of 20 *Aegilops* species (Poaceae) in the field: The importance of net assimilation rate or specific leaf area depends on the time scale. *Plant and Soil* **272**: 11-27.
- Villar R, Robledo JR, DeJong Y, Poorter H** (2006) Differences in construction costs and chemical composition between deciduous and evergreen woody species are small as compared to differences among families. *Plant, Cell & Environment* **29**: 1629-1643.
- Watson MA, Geber MA, Jones CS** (1995) Ontogenetic contingency and the expression of plant plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* **10**: 474-475.
- Weiner J** (2004) Allocation, plasticity, and allometry in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **6**: 207-215.
- Williams K, Percival F, Merino J, Mooney HA** (1987) Estimation of tissue construction cost from heat of combustion and organic nitrogen content. *Plant, Cell & Environment* **10**: 725-734.

II. CAPÍTULO II

A plasticidade da taxa de crescimento relativo de *Coffea arabica* em resposta à disponibilidade de luz e de água é coordenada pela integração fenotípica

2.1 Introdução

Como organismos sésseis, as plantas são constantemente expostas a uma gama de fatores ambientes potencialmente estressantes, e respondem a tais fatores via alterações morfológicas e fisiológicas tanto em nível de órgão como em nível de indivíduo. Nesse contexto, a plasticidade fenotípica, PF [capacidade de um determinado genótipo de produzir diferentes fenótipos sob diferentes condições ambientais (Bradshaw, 1965; Valladares et al., 2000; Pigliucci, 2001)] é um meio efetivo de um indivíduo enfrentar a heterogeneidade do ambiente, via produção de fenótipos adequados para uma condição ambiental particular. Contudo, PF somente terá um valor adaptativo se for devidamente coordenada com as flutuações ambientais, afetando positivamente o desempenho da planta (Sultan, 2004).

Luz e água são dois dos mais importantes fatores ambientes que afetam o crescimento e o desempenho de uma espécie. Muitos estudos têm sido desenvolvidos para se avaliar PF em resposta aos efeitos isolados desses fatores, mas muito pouco tem sido feito para examinarem-se os efeitos combinados da disponibilidade de luz e de água sobre PF. Registre-se que, em condições de campo, plantas enfrentam uma gama de limitações (estresses) que ocorrem simultaneamente, e suas respostas a fatores ambientes múltiplos são frequentemente diferentes quando comparadas com as respostas a um fator isolado (Valladares et al., 2007). Especificamente, plantas respondem à reduzida disponibilidade de luz e de água via decréscimos na produção de biomassa. Todavia, enquanto os indivíduos usualmente expressam sua PF à baixa disponibilidade lumínica

via aumentos na partição de biomassa para a parte aérea, produzindo folhas com maior tamanho e área específica, além de maior concentração de clorofilas por unidade de massa, respostas inversas são normalmente observadas sob disponibilidade hídrica reduzida (Lambers et al., 2008). Considerando-se que o fenótipo expresso por um indivíduo em resposta a um dado fator ambiente é o resultado da integração de seus caracteres (Pigliucci, 2003), alguns autores (e.g. Gianoli e Palacio-López, 2009) têm sugerido que a integração fenotípica, IF [expressa em termos do número de correlações fenotípicas significativas entre características funcionalmente relacionadas (Pigliucci e Preston, 2004)] poderia limitar a expressão de PF em resposta a fatores múltiplos do ambiente. Em contraste, Malitt et al. (2010) recentemente observaram, em *Lepidium bonariense*, considerável PF de suas respostas fenotípicas múltiplas à disponibilidade de luz e de água, mas sem alteração de IF. Esses autores postularam que, embora os fatores luz e água influenciassem a amplitude das características fenotípicas, a estrutura da covariância permaneceu inalterada, sugerindo que as relações entre características permaneceram estáveis em resposta àqueles fatores, de modo a manter a integridade funcional do indivíduo. É possível que as relações entre PF e IF sejam específicas para cada espécie (Malitt et al., 2010); em todo o caso, muito pouco ainda se sabe sobre como o ambiente influencia IF (Gianoli e Palacio-López, 2009; Mallitt et al., 2010).

A taxa de crescimento relativo da biomassa (TCR) de uma planta é uma medida da eficiência do seu crescimento, i.e. a taxa na qual uma determinada quantidade de biomassa existente produz nova biomassa por unidade de tempo, sendo um indicador importante da magnitude do uso dos fotoassimilados para o crescimento (Groeneveld, 1998). Com efeito, as variações inerentes a TCR contribuiriam para explicar o desempenho ecofisiológico de plantas em diferentes ambientes (Grime e Hunt, 1975; Poorter e Garnier, 1996; Portsmouth e Niinemets, 2007; Lambers et al., 2008). Matematicamente, pode-se representar TCR pelo produto entre seus componentes fisiológicos (taxa assimilatória líquida, TAL) e morfológicos (área foliar específica, AFE, e fração de massa foliar, FMF), i.e. $TCR = TAL \times AFE \times FMF$. Por definição, alterações em TCR durante um ciclo de crescimento terão de ser mediadas por mudanças em TAL, AFE e/ou FMF. Em função de essas variáveis não serem casualmente independentes, as interações entre elas devem ser consideradas (Shipley, 2006). McKenna e Shipley (1999), por exemplo, observaram uma covariância negativa (e.g. AFE diminui, enquanto TAL aumenta, com o aumento da irradiância) entre os

componentes da TCR em 28 espécies de plantas cultivadas em câmaras de crescimento sob condições controladas (presumivelmente sem limitações de recursos), e propuseram que essas covariâncias seriam fundamentais para a manutenção da TCR em resposta a alterações em quaisquer um dos seus componentes individuais. Conforme Shipley (2002), variações interespecíficas em TCR seriam muito mais determinadas por variações em TAL sob altas irradiâncias, e por AFE, sob baixas irradiâncias, o que permitiria, em certa extensão, tamponar TCR frente às flutuações da disponibilidade de luz. Embora esta proposição seja baseada em comparações interespecíficas, sugere-se aqui que o modelo seja também válido para uma única espécie ou indivíduo.

Apesar de PF ser um ponto clássico de investigação em ecologia e evolução de plantas (Valladares e Niinemets, 2008), muito pouco se conhece sobre as relações entre PF e IF (Malitt et al., 2010). Em plantas tropicais cultivadas, essas relações são virtualmente inexistentes. Neste trabalho, estudou-se a espécie *Coffea arabica* L., cujos frutos constituem-se numa das mais importantes mercadorias no comércio agrícola internacional. A espécie originou-se em florestas tropicais da África, onde é encontrada em estado espontâneo como vegetação de sub-bosque, mas, atualmente, é frequentemente cultivada a pleno sol (DaMatta, 2004). O objetivo deste estudo foi examinar a importância não somente dos componentes primários de TCR, mas também a importância de outras variáveis morfológicas e fisiológicas que podem, direta ou indiretamente, impactar os componentes primários de TCR de *C. arabica*. Especificamente, investigou-se a relação entre PF e IF de características morfológicas e fisiológicas para testar a hipótese de que IF é um ponto-chave na coordenação das modificações morfológicas e fisiológicas associadas com TCR, sob condições limitantes de disponibilidade de recursos (luz e água).

2.2 Material & Métodos

2.2.1 Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°54'W, 650 m altitude), Minas Gerais. Estudou-se um único genótipo, visando-se analisar somente as variações ambientais, na ausência de potenciais fontes de confundimento (variações genéticas e variações associadas com as interações do genótipo com o ambiente). Utilizou-se de plantas de *Coffea arabica* L. cv 'Catuaí Vermelho IAC 44', propagadas por semente, cultivadas em vasos com 30 litros de substrato constituído de uma mistura de solo,

esterco de curral curado e areia (4:1:1, v/v/v). A mistura foi adubada e teve o pH corrigido, de acordo com análise de solo e recomendações técnicas usuais para a cultura. Sessenta (60) mudas foram plantadas em fevereiro de 2009. Metade (30) dessas mudas foi cultivada a pleno sol (fenótipos de sol) e a outra metade (30) foi cultivada sob sombreamento, i.e. 15% da radiação solar, empregando-se, para tal, telas de poliolefinas (fenótipos de sombra). As plantas foram mantidas nessas condições por oito meses. Após a emissão do oitavo par de ramos plagiotrópicos, 10 plantas de cada fenótipo foram colhidas e caracterizadas morfológicamente (Tabela 1). Os fenótipos de sol e de sombra apresentavam diferenças típicas de plantas de sol e de sombra, respectivamente, conforme Lambers et al. (2008). Dos 20 indivíduos remanescentes do cultivo a pleno sol, metade (10) permaneceu a pleno sol, e a outra metade (10) foi transferida para ambiente sombreado (15% de radiação solar); os dois tratamentos lumínicos foram, então, combinados com dois níveis de água disponível no solo (déficit hídrico, DH, e capacidade de campo, CC, aqui definidos como sendo 30 e 100% de água disponível no solo, respectivamente, conforme descrito abaixo). O mesmo foi feito com os 20 indivíduos remanescentes do cultivo à sombra, i.e. metade permaneceu à sombra, e a outra metade foi transferida para pleno sol, combinando-se estes dois tratamentos com os dois níveis de água disponível no solo. Portanto, 40 plantas foram distribuídas em oito tratamentos (cinco plantas por tratamento), em esquema fatorial 2x2x2 (dois fenótipos x dois níveis de água disponível x dois níveis de irradiância), impostos durante 120 dias, quando, então, as plantas foram colhidas. O experimento foi montado e analisado sob delineamento inteiramente casualizado, à exceção dos parâmetros fotossintéticos e de fluorescência, que foram tomados em blocos (ver à frente). A unidade experimental foi composta por uma planta por vaso.

A água disponível (AD) foi calculada observando-se os valores de umidade volumétrica na curva de retenção de água no solo para CC (determinada na tensão de -0,010 MPa) e para o ponto de murcha permanente (PMP) (determinado na tensão de -1,5 MPa), utilizando-se da seguinte expressão: $AD = CC - PMP$. Previamente, o peso de todos os vasos foi padronizado. Posteriormente, procedeu-se à elevação do teor de umidade do substrato até atingir-se CC, determinada pela curva de retenção, com posterior pesagem dos vasos. Uma vez estabelecido o peso dos vasos na CC e, considerando-se a quantidade de AD, foi estabelecido o peso dos vasos com 30% de AD. O estabelecimento e o controle dos níveis de umidade do substrato em cada tratamento

foram realizados pelo acompanhamento do peso dos vasos. O ajuste do peso dos vasos foi feito quinzenalmente, devido ao incremento propiciado pelo crescimento das plantas.

Durante o período de cultivo das plantas, a temperatura média do ar foi de 25,7°C (média das máximas de 27,2°C e a média das mínimas de 16,8°C) e a umidade relativa média foi de 77,4%, medidas com sensores instalados em abrigo meteorológico no local do experimento. A radiação fotossinteticamente ativa foi $19,02 \pm 1,58 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, a pleno sol, e $2,91 \pm 0,25 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, no ambiente sombreado. Todos os sensores (LICOR) foram conectados a um sistema de aquisição de dados (LI-1400, LICOR, EUA), coletando-se os dados a cada minuto e armazenando-se o valor médio a cada 5 min.

2.2.2 Análise de crescimento

Em cada amostragem, as plantas foram separadas em caule, folhas, ramos (ortotrópico e plagiotrópicos) e raízes. A área foliar total foi estimada a partir do comprimento e largura de cada folha, conforme Antunes et al. (2008). As raízes foram completamente lavadas com água de torneira sobre uma peneira de 0,5 mm. Os tecidos das plantas foram secos em estufa, a 70°C, até atingirem peso constante; posteriormente, o peso seco de folhas, caules e raízes foi obtido. Baseado nos dados acima calcularam-se as seguintes características de crescimento: biomassa total (g); fração de massa foliar, FMF (g de massa seca foliar g^{-1} de biomassa seca total), fração de massa radicular, FMR (g de massa seca radicular g^{-1} de biomassa seca total) e fração de massa caulinar, FMC (g de massa seca caulinar g^{-1} de biomassa seca total). Após a última avaliação destrutiva, calcularam-se TCR, TAL e AFE, conforme o suplemento disponível em Hunt et al. (2002). Também foram calculadas as taxas de crescimento relativo da altura da planta (TCR_A), do diâmetro do caule (TCR_D) e do comprimento dos ramos laterais (TCR_R), conforme a equação: $\text{TCR}_X = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1)$, sendo X_1 e X_2 a altura da planta, o comprimento dos ramos laterais ou o diâmetro do caule no tempo 1 e 2 (t_1 e t_2 , respectivamente). Para isso, a altura (comprimento do ramo ortotrópico) e o comprimento dos ramos laterais (ramos plagiotrópicos) foram medidos com uma régua (precisão 0,1 cm); o diâmetro do colo foi medido, na base do ramo ortotrópico, com um paquímetro (precisão de 0,01 mm). A produtividade do nitrogênio foliar (PNF) foi calculada como: $\text{PNF} = (\ln(X_2) - \ln(X_1)) / (X_2 - X_1)(Y_2 - Y_1) / (t_2 - t_1)$, em que X_n é a

concentração de nitrogênio foliar total, Y_n é a biomassa vegetal e t_n é o tempo na amostragem (Osone et al., 2008).

Tabela 1: Caracterização das plantas (média \pm erro padrão; $n=10$) de dois fenótipos [fenótipo de sol (plantas cultivadas sob 100% da luz solar direta) e fenótipo de sombra (plantas cultivadas sob 15% da luz solar direta) de *Coffea arabica*, aos oito meses após o plantio das mudas.

Característica	Fenótipo de sol	Fenótipo de sombra
Biomassa (g)	243,0 \pm 5,9	48,4 \pm 5,2
Altura (cm)	74,99 \pm 1,53	57,62 \pm 2,94
Diâmetro do caule (mm)	1,75 \pm 0,05	1,03 \pm 0,08
Comprimento de ramos (m)	6,72 \pm 0,24	2,32 \pm 0,23
Área foliar total (m²)	1,38 \pm 0,03	0,52 \pm 0,05
Área foliar unitária (cm²)	35,17 \pm 0,65	44,05 \pm 2,51
Área foliar específica (m² kg⁻¹)	13,71 \pm 0,66	19,93 \pm 0,75
Fração de massa foliar (g g⁻¹)	0,417 \pm 0,006	0,530 \pm 0,013
Fração de massa caulinar (g g⁻¹)	0,314 \pm 0,006	0,276 \pm 0,005
Fração de massa da parte aérea (g g⁻¹)	0,731 \pm 0,005	0,806 \pm 0,013
Fração de massa radicular (g g⁻¹)	0,269 \pm 0,006	0,194 \pm 0,013

Para avaliar-se a importância relativa de cada um dos parâmetros de crescimento, os coeficientes de resposta de crescimento (CRC) foram calculados, considerando-se dois níveis de disponibilidade de recursos: alta (**H**; sol e CC) e baixa (**L**; sombra e DH), conforme a equação: $CRC_X = (\ln X_H - \ln X_L) / (\ln TCR_H / TCR_L)$. CRC_X é definido como o aumento relativo do parâmetro de crescimento X dividido pelo aumento relativo de TCR (Hunt, 1982; Poorter e Nagel, 2000). Um valor de CRC igual a 1 indica que a variação proporcional no parâmetro de crescimento rende a mesma variação proporcional em TCR. Um valor de CRC igual a 0 indica que não há nenhuma alteração nesse parâmetro de crescimento. Valores de CRC podem ser superiores a 1 se o aumento do parâmetro de crescimento for mais pronunciado que o aumento de TCR, e pode ser inferior a 0 se um aumento do parâmetro de crescimento resultar em diminuição em TCR.

2.2.3 Parâmetros de fluorescência e trocas gasosas

Os parâmetros de fluorescência e a taxa de assimilação líquida do carbono (A) foram medidos entre 9:00-11:00 h, em sistema aberto, sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) equivalente à do ambiente (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para as plantas cultivadas a pleno de sol e sob sombreamento, respectivamente) e pressão parcial de CO_2 de 40 Pa, com um analisador de gases a infravermelho (Li 6400XT, Li-Cor,

Lincoln, EUA). O rendimento quântico fotoquímico do transporte de elétrons através do FSII (Φ_{FSII}) foi determinado segundo Genty et al. (1989), conforme a equação: $\Phi_{\text{FSII}} = (F_m' - F_s')/F_m'$. A taxa de transporte de elétrons (TTE) foi determinada como: $\text{TTE} = \text{RFA} \times 0,87 \times \Phi_{\text{FSII}} \times 0,5$. A taxa de transpiração da planta inteira (E_d) foi avaliada por gravimetria, via diferença de peso dos vasos, conforme Nagakura et al. (2004).

2.2.4 Custo de construção do tecido foliar

Os custos de construção das folhas (CCO), que dependem de sua composição química e podem influenciar diretamente a taxa de crescimento da planta (Villar et al., 2004), foram determinados em amostras secas a 60°C, por 72 h, triturando-se, posteriormente, o material vegetal em moinho de bola, que foi então peneirado em malha de 0,08 mm. Considerando-se a eficiência de crescimento das folhas, o calor de combustão e a concentração de nitrogênio e cinzas das folhas, calculou-se CCO conforme a equação abaixo (Williams et al., 1987):

$$\text{CCO} = [(0,06968 \times Hc - 0,065)(1 - Cz) + (7,5 \times k \times N_{\text{org}}/14,0067)]/Eg$$

em que Hc é o calor de combustão (kJ g^{-1}), determinado via combustão completa de 500 mg do material vegetal em bomba adiabática calorimétrica (Villar e Merino, 2001); Cz é a concentração de cinzas (g g^{-1}), determinada por gravimetria após a queima de 200 mg do material vegetal por 4 h, a 500°C, em mufla; k é o estado de oxidação da fonte de nitrogênio (+5 para nitrato ou -3 para amônio) - como a fonte de nitrogênio não era única, foi utilizado o valor médio (+1); N_{org} é a concentração de nitrogênio orgânico (g g^{-1}) determinada conforme DaMatta et al. (1999); C é a concentração de carbono determinada com analisador elementar (Carlo Erba, Milão, Itália); Eg é a eficiência de crescimento do tecido foliar, utilizando-se o valor de 0,89 (Williams et al., 1987).

2.2.5 Correlação linear entre as variáveis e análise de trilha

Para o estudo das relações entre as variáveis envolvidas na caracterização do fenótipo, utilizou-se a técnica de correlação linear de Pearson (r). Convém enfatizar que os estudos de correlações entre caracteres não permitem tirar conclusões sobre as relações de causa e efeito, sendo necessário o desdobramento das correlações estimadas em efeitos diretos e indiretos sobre uma variável básica, por meio da análise de trilha. A decomposição da correlação é dependente do conjunto de variáveis estudadas, da importância de cada uma e das possíveis interações. Com essa técnica, procurou-se

quantificar o quanto cada variável (variáveis explicativas: TAL, AFE e FMF), dentre um grupo de variáveis consideradas secundárias, influenciou o comportamento da TCR (variável-resposta). Os resultados da análise de trilha foram assim interpretados: (i) coeficientes de correlação e efeito direto altos indicam que a variável explicativa explica grande parte da variação da variável-resposta, i.e. há uma verdadeira associação entre essas variáveis; e (ii) coeficientes de correlação positivo ou negativo, mas com efeito direto de sinal contrário ou de magnitude negligenciável, variável com maior efeito indireto e os fatores causais indiretos devem ser considerados simultaneamente para explicar a variação na variável-resposta. A diagnose da multicolinearidade entre as variáveis foi examinada e, quando necessário, para contornar os efeitos adversos, variáveis do modelo de regressão foram eliminadas.

2.2.6 Plasticidade e integração fenotípica

Como forma de avaliar-se o efeito funcional da PF e a limitação imposta por DH na aclimação das plantas à luz, bem como a limitação imposta pela luz na aclimação das plantas a DH, calculou-se, para cada variável, um índice de plasticidade fenotípica (IPF), variando de 0 a 1 (Valladares et al., 2000). Usar-se-á o termo “*limites*” como uma expressão abrangente, para se referir às barreiras impostas para que a plasticidade máxima não seja alcançada. A média aritmética dos valores do IPF, obtida por cada uma das variáveis analisadas, foi calculada em cada uma das condições experimentais impostas. A integração fenotípica foi avaliada pelo número de correlações significativas ($P < 0,05$) obtidas por cada variável, conforme Gianoli e Palacio-López (2009). Calculou-se, também, para cada variável, um índice de integração fenotípica (IIF), determinado a partir da média do módulo de todos os coeficientes de correlação linear de Pearson (r), apresentados por uma determinada variável (X), com as outras n variáveis analisadas, conforme equação:

$$\mathbf{IIF}_x = \frac{\sum_{i=1}^n |r_{xi}|}{n}$$

A média aritmética dos valores do IIF, obtida para cada uma das variáveis analisadas, foi calculada em cada uma das condições experimentais impostas. Análise de regressão linear simples foi usada para determinar a relação entre IPF (variável dependente) e IIF (variável independente).

2.3 Resultados

2.3.1 Efeito dos fatores e suas interações

Os diferentes fenótipos de *C. arabica* apresentaram mudanças morfológicas e fisiológicas após a variação da disponibilidade de luz e água, afetando o desempenho da planta como um todo (Tabelas 2, 3 e 4). Algumas variáveis (TAL, FMF, FMC, FMFA, FMR, N_{org}, PNF, A, TTE e E_d) apresentaram interação ($P < 0,05$) entre todos os efeitos estudados (interação F x L x A; Tabela 2). A interação F x L foi altamente significativa ($P < 0,001$) para todas as variáveis analisadas, explicando 57% da variação total de TCR. As variáveis que compõem TCR diferiram grandemente entre os fenótipos; as variações em TAL, AFE e FMF explicaram 59, 91 e 33% da variância total, respectivamente. Contudo, somente algumas variáveis apresentaram valores altamente significativos para interação F x A (TAL e N_{org}) e para a interação L x A (TAL, A e C) (Tabela 2). Quando os fenótipos são dissociados, e os efeitos da variação da luz, da água, e da interação L x A são comparados, observa-se uma resposta diferenciada de cada fenótipo, em função da variação da disponibilidade desses recursos (Tabela 3).

Tabela 2: Efeitos dos fatores: fenótipo ($n=2$), luz ($n=2$) e água ($n=2$), e as interações entre esses fatores, em variáveis morfológicas e fisiológicas de plantas de *C. arabica*, de acordo com a análise de variância (ANOVA) de três fatores.

Variáveis	Fatores			Interações				R ²	CV (%)
	Fenótipo (F)	Luz (L)	Água (A)	F x L	F x A	L x A	F x L x A		
TCR	0,11 ^{ns}	0,00 ^{ns}	11,93 ^{***}	56,99 ^{***}	1,78 ^{ns}	3,58 [*]	2,00 ^{ns}	76,40	17,28
TAL	59,23 ^{***}	7,28 ^{***}	6,12 ^{***}	11,67 ^{***}	4,77 ^{***}	2,81 ^{***}	12,81 ^{***}	94,67	26,74
AFE	90,83 ^{***}	0,57 ^{***}	0,92 ^{***}	6,12 ^{***}	0,21 [*]	0,13 ^{ns}	0,02 ^{ns}	98,81	1,81
FMF	33,33 ^{***}	2,33 ^{ns}	2,39 ^{ns}	22,22 ^{***}	1,67 ^{ns}	2,22 ^{ns}	5,00 [*]	69,17	10,23
FMC	9,41 ^{**}	16,06 ^{***}	0,29 ^{ns}	28,65 ^{***}	0,29 ^{ns}	1,65 ^{ns}	16,06 ^{***}	72,42	7,88
FMR	3,81 ^{ns}	7,62 [*]	0,10 ^{ns}	18,10 ^{***}	1,90 ^{ns}	12,38 ^{**}	12,38 ^{**}	56,29	12,91
TCR _A	0,03 ^{ns}	1,06 ^{ns}	33,40 ^{***}	45,94 ^{***}	0,00 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,51 ^{ns}	81,52	20,64
TCR _B	0,13 ^{ns}	2,22 ^{ns}	34,68 ^{***}	18,51 ^{***}	0,38 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,09 ^{ns}	56,09	34,73
TCR _R	0,46 ^{ns}	0,85 ^{ns}	13,71 ^{***}	61,62 ^{***}	0,25 ^{ns}	1,17 ^{ns}	0,76 ^{ns}	78,83	21,35
N _{org}	7,90 [*]	14,25 ^{***}	7,53 [*]	10,99 ^{***}	15,44 ^{***}	0,29 ^{ns}	8,91 ^{**}	65,31	8,81
PNF	5,93 ^{**}	3,87 [*]	10,06 ^{***}	39,38 ^{***}	5,98 ^{**}	6,85 ^{**}	7,92 ^{**}	79,99	30,73
A	28,28 ^{***}	26,44 ^{***}	12,67 ^{***}	20,52 ^{***}	1,55 ^{**}	3,62 ^{**}	2,96 ^{***}	96,03	16,72
TTE	15,62 ^{***}	16,61 ^{***}	3,40 [*]	41,58 ^{***}	2,83 [*]	2,00 ^{ns}	2,15 [*]	84,19	21,18
E _d	9,11 ^{***}	1,03 [*]	31,27 ^{***}	47,77 ^{***}	1,22 [*]	0,17 ^{ns}	3,03 ^{***}	93,60	14,93
C	40,48 ^{***}	1,18 [*]	0,00 ^{ns}	42,26 ^{***}	0,00 ^{ns}	7,80 ^{***}	0,00 ^{ns}	91,72	0,83
CCO	0,00 ^{ns}	1,24 ^{ns}	0,88 ^{ns}	78,01 ^{***}	1,59 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}	81,75	3,15

A proporção da variância explicada (Soma de quadrados da variável/Soma de quadrados total) e o nível de significância, avaliado pelo teste *F* ($^*P < 0,05$, $^{**}P < 0,01$, $^{***}P < 0,001$ e $^{ns}P > 0,05$) para cada fator e as interações são indicados. A variabilidade dos dados em relação à média é representada pelo coeficiente de variação (CV). R² é a proporção da variância total explicada pelo modelo. Vide a lista de abreviaturas para maiores detalhes.

Independentemente do fenótipo, a maior proporção da variação dos dados foi explicada pelo fator luz, exceto para a variável TCR_D no fenótipo de sol, e TCR_D , A e E_d no fenótipo de sombra, em que a maior variação foi explicada pelo fator água, a julgarem-se pelos maiores valores do R^2 (Tabela 3). O fenótipo de sol respondeu de forma significativa à interação L x A (com exceção de TCR_A , TCR_D e CCO); em contraste, essa interação foi significativa apenas para C no fenótipo de sombra (Tabela 3). É importante ressaltar que, em função de o efeito isolado do fenótipo e da interação F x L explicar, para a maioria das variáveis, a maior proporção da variação total dos dados, e como forma de amenizar possíveis ruídos ontogenéticos, a julgar-se pela diferença de biomassa (80%) e de área foliar (62%) entre os fenótipos investigados (Tabela 1), foram avaliados os efeitos da interação L x A apenas dentro de cada fenótipo.

Tabela 3: Efeitos da luz ($n = 2$) e da água ($n = 2$) e a interação entre esses fatores, em variáveis morfológicas e fisiológicas de plantas de *C. arabica*, provenientes de dois fenótipos distintos (sol e sombra), de acordo com a análise de variância (ANOVA) de dois fatores.

Variáveis	Fenótipo de sol					Fenótipo de sombra				
	Luz (L)	Água (A)	L x A	R^2	CV (%)	Luz (L)	Água (A)	L x A	R^2	CV (%)
TCR	55,47 ^{***}	22,72 ^{***}	10,84 ^{***}	89,02	11,71	58,65 ^{***}	4,55 ^{ns}	0,23 ^{ns}	63,43	21,61
TAL	46,43 ^{***}	26,94 ^{***}	13,95 ^{***}	87,32	20,59	49,63 ^{***}	8,06 ^{ns}	0,00 ^{ns}	57,69	38,05
AFE	88,36 ^{***}	7,55 ^{***}	1,56 ^{**}	97,47	0,56	69,54 ^{***}	13,43 ^{*P}	1,79 ^{ns}	84,76	2,19
FMF	44,98 ^{***}	0,23 ^{ns}	29,56 ^{***}	74,77	5,28	39,06 ^{**}	7,64 ^{ns}	2,98 ^{ns}	49,69	12,46
FMC	3,86 ^{ns}	0,25 ^{ns}	60,19 ^{***}	64,30	6,39	65,23 ^{***}	0,39 ^{ns}	5,59 ^{ns}	71,21	8,93
FMR	2,47 ^{ns}	2,65 ^{ns}	57,75 ^{***}	62,88	10,57	46,19 ^{**}	1,57 ^{ns}	0,00 ^{ns}	47,77	15,14
TCR_A	39,50 ^{***}	39,95 ^{***}	0,00 ^{ns}	79,46	19,54	52,01 ^{***}	28,50 ^{***}	1,87 ^{ns}	82,38	21,71
TCR_D	33,86 ^{***}	42,63 ^{***}	0,00 ^{ns}	76,49	25,69	7,84 ^{ns}	27,50 [*]	0,34 ^{ns}	35,68	41,43
TCR_R	60,58 ^{***}	12,98 ^{**}	5,07 [*]	78,63	19,71	64,03 ^{***}	14,77 ^{**}	0,04 ^{ns}	78,83	22,71
N_{org}	36,92 ^{***}	32,71 ^{***}	9,10 [*]	78,73	7,75	0,44 ^{ns}	2,93 ^{ns}	12,49 ^{ns}	15,85	9,88
PNF	45,31 ^{***}	21,06 ^{***}	19,71 ^{***}	86,08	27,27	48,41 ^{**}	1,38 ^{ns}	0,10 ^{ns}	49,90	35,38
A	69,79 ^{***}	17,21 ^{***}	9,79 ^{***}	96,79	12,44	3,98 ^{ns}	57,03 ^{***}	0,35 ^{ns}	61,36	26,66
TTE	72,31 ^{***}	8,12 ^{**}	5,42 [*]	85,85	20,87	36,07 ^{**}	0,17 ^{ns}	0,02 ^{ns}	36,25	20,71
E_d	68,59 ^{***}	21,96 ^{***}	5,08 ^{***}	95,63	14,06	38,55 ^{***}	49,77 ^{***}	1,94 ^{ns}	90,26	15,09
C	66,57 ^{***}	0,00 ^{ns}	18,13 ^{***}	84,70	0,74	76,76 ^{***}	0,00 ^{ns}	10,15 ^{**}	86,92	0,92
CCO	71,19 ^{***}	0,12 ^{ns}	0,06 ^{ns}	71,37	3,62	84,76 ^{***}	4,16 [*]	0,01 ^{ns}	88,92	2,59

A proporção da variância explicada (Soma de quadrados da variável/Soma de quadrados total) e o nível de significância, avaliado pelo teste F ($*P < 0,05$, $**P < 0,01$, $***P < 0,001$ e $^{ns}P > 0,05$) para cada fator e as interações são indicados. A variabilidade dos dados em relação à média é representada pelo coeficiente de variação (CV). R^2 é a proporção da variância total explicada pelo modelo. Vide a lista de abreviaturas para maiores detalhes.

2.3.2 Coeficientes de resposta do crescimento

A contribuição relativa de cada uma das variáveis do crescimento (TAL, AFE e FMF) envolvidos nas variações de TCR está apresentada na Figura 1. As reduções da TCR, em todas as condições experimentais, independentemente do fenótipo, foram majoritariamente associadas a reduções em TAL (Tabela 4), conforme sugerem seus valores elevados e positivos de CRC (Figura 1). Plantas do fenótipo de sol, sob condições de sombra e variação da disponibilidade de água, exibiram, além da redução em TAL, reduções em TCR, fato secundariamente associado à redução em FMF; como consequência, apenas nessa condição, naquele fenótipo, o valor de CRC_{FMF} foi positivo, porém de baixa magnitude ($CRC_{FMF} = 0,35$) (Tabela 4).

As reduções globais em TCR, em todas as condições experimentais e independentemente do fenótipo, foram inversamente associadas com AFE (Tabela 4), i.e. valores negativos de CRCs (Figura 1). A AFE teve efeito mais acentuado nas plantas do fenótipo de sombra, quando submetidas à variação da disponibilidade de água, em ambos os níveis de luz ($CRC_{AFE} = -0,33$ e $-0,44$, quando as plantas estavam ao sol e à sombra, respectivamente). Maiores valores de AFE foram associados com reduções em FMF e, principalmente, em TAL (Figura 1). Destaca-se, que os CRCs explicam, nessa situação, uma pequena variação de TCR, já que o efeito da variação da disponibilidade de água não foi significativo para o fenótipo de sombra (Tabelas 3 e 4). Os valores de CRC apresentados pela TAL foram fortemente associados com a PF ($r^2 = 0,73$).

2.3.3 Plasticidade e integração fenotípica

2.3.3.1 Fenótipo de sol

Variação da disponibilidade de luz

O IPF em relação ao fator luz foi limitado pela disponibilidade de água em 29% ($CC = 0,38$; $DH = 0,27$), sendo que algumas variáveis apresentaram limitação ainda maior, como TAL (70%), FMF (90%), N_{org} (70%) e PNF (54%) (Tabela 5); associado a essa limitação, IIF foi limitado em 26% ($CC = 0,86$; $DH = 0,64$) ou em 29%, considerando-se a número de correlações significativas ($CC = 14$; $DH = 10$) (Tabela 6). Especificamente, TCR apresentou limitação de 41% ($CC = 0,46$; $DH = 0,27$) e 20% ($CC = 0,91$; $DH = 0,72$) em IPF e IIF, respectivamente (Tabelas 5 e 6). A análise de trilha para plantas cultivadas em CC, sob disponibilidade variável de luz, revelou que TCR foi fortemente relacionada com TAL ($r = 0,99$), com um efeito direto positivo (4,67). A

AFE e FMF se correlacionaram negativamente com TCR ($r = -0,96$ e $r = -0,91$, para AFE e FMF, respectivamente), com um efeito direto positivo, portanto sem relação de causa/efeito, i.e. as correlações negativas são devidas a outras variáveis atuando de forma indireta, destacando-se os valores dos coeficientes de trilha para o efeito indireto da TAL (-4,43 e -4,12 para AFE e FMF, respectivamente) e A (-6,28 e -5,63 para AFE e FMF, respectivamente) (Tabela 7). Para plantas sob DH sob variação da disponibilidade de luz, TCR foi positivamente correlacionada com TAL ($r = 0,99$), porém com efeito direto negativo (-0,89), i.e. efeitos indiretos explicariam essa correlação, destacando-se os valores dos coeficientes de trilha para o efeito indireto de PNF (1,34) e E_d (0,98). A AFE apresentou coeficientes de trilha negativos para os efeitos diretos (-0,44) e indiretos (-0,46), i.e., aumentos em AFE associados com reduções em TAL ($r = -0,96$) (Tabela 7).

Varição da disponibilidade de água

No geral, maiores limitações em PF (34%) e em IF (25%) foram exibidas quando as plantas foram submetidas à variação da disponibilidade de água ($IPF_{\text{médio}} = 0,21$; $IIF_{\text{médio}} = 0,56$), independentemente do nível de luz, em relação à variação da disponibilidade de luz ($IPF_{\text{médio}} = 0,32$; $IIF_{\text{médio}} = 0,76$) (Tabelas 5 e 6). Em relação ao fator água, PF e IF foram limitadas pelo sombreamento em relação às plantas cultivadas a pleno sol em 35% ($IPF_{\text{sombra}} = 0,17$; $IPF_{\text{sol}} = 0,26$) e 33% ($IIF_{\text{sombra}} = 0,45$; $IIF_{\text{sol}} = 0,67$), respectivamente. Limitações em TCR, em função do sombreamento, também ocorreram, sendo 68% em IPF e 54% em IIF, com redução de 50% do número de correlações significativas (Tabelas 5 e 6).

Tabela 4: Médias ($n = 5$) da taxa de crescimento relativo ao acúmulo de biomassa (TCR), taxa assimilatória líquida (TAL), área foliar específica (AFE), fração de massa foliar (FMF), fração de massa caulinar (FMC), fração de massa radicular (FMR), taxa de crescimento relativo à altura (TCR_A), taxa de crescimento relativo ao diâmetro (TCR_D), taxa de crescimento relativo ao comprimento dos ramos plagiotrópicos (TCR_R), concentração de nitrogênio foliar (N_{org}), produtividade do nitrogênio foliar (PNF), fotossíntese líquida (A), taxa de transporte de elétrons (TTE), taxa transpiratória (E_d), concentração de carbono foliar (C) e custo de construção do tecido foliar (CCO) em plantas de dois fenótipos [**fenótipo de sol** (plantas cultivadas por oito meses sob 100% da luz solar direta) e **fenótipo de sombra** (plantas cultivadas por oito meses sob 15% da luz solar direta)] de *Coffea arabica* submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [**sol** (100% da luz solar direta) e **sombra** (15% da luz solar direta)] e água [**capacidade de campo** (CC; 100% da água disponível) e **déficit hídrico** (DH; 30% da água disponível)].

Variáveis	Fenótipo de sol				Fenótipo de sombra			
	Sol		Sombra		Sol		Sombra	
	CC	DH	CC	DH	CC	DH	CC	DH
TCR (mg g ⁻¹ dia ⁻¹)	10,46 ^{aA}	6,88 ^{bA}	5,69 ^{aB}	5,04 ^{aB}	8,92 ^{aA}	8,19 ^{aA}	5,76 ^{aB}	4,61 ^{aB}
TAL (g m ⁻² dia ⁻¹)	7,98 ^{aA}	3,92 ^{bA}	3,18 ^{aB}	2,52 ^{aB}	0,75 ^{aA}	0,61 ^{aA}	0,39 ^{aB}	0,24 ^{aB}
AFE (m ² kg ⁻¹)	12,33 ^{bB}	12,65 ^{aB}	13,19 ^{bA}	13,32 ^{aA}	16,18 ^{aB}	16,58 ^{aB}	17,39 ^{bA}	18,25 ^{aA}
FMF (g g ⁻¹)	0,323 ^{bB}	0,356 ^{aA}	0,405 ^{aA}	0,365 ^{bA}	0,404 ^{aB}	0,390 ^{aB}	0,514 ^{aA}	0,452 ^{aA}
FMC (g g ⁻¹)	0,272 ^{bB}	0,313 ^{aA}	0,327 ^{aA}	0,280 ^{bB}	0,270 ^{aB}	0,299 ^{aB}	0,371 ^{aA}	0,354 ^{aA}
FMR (g g ⁻¹)	0,325 ^{aA}	0,268 ^{bB}	0,268 ^{bB}	0,355 ^{aA}	0,254 ^{aB}	0,241 ^{aB}	0,327 ^{aA}	0,313 ^{aA}
TCR _A (cm cm ⁻¹ dia ⁻¹)	0,0018 ^{aA}	0,0012 ^{bA}	0,0012 ^{aB}	0,0006 ^{bB}	0,0018 ^{aA}	0,0014 ^{bA}	0,0012 ^{aB}	0,0004 ^{bB}
TCR _D (mm mm ⁻¹ dia ⁻¹)	0,0042 ^{aA}	0,0026 ^{bA}	0,0028 ^{aB}	0,0011 ^{bB}	0,0039 ^{aA}	0,0024 ^{bA}	0,0030 ^{aB}	0,0018 ^{bA}
TCR _R (cm cm ⁻¹ dia ⁻¹)	0,0058 ^{aA}	0,0041 ^{bA}	0,0029 ^{aB}	0,0025 ^{aB}	0,0061 ^{aA}	0,0048 ^{bA}	0,0033 ^{aB}	0,0019 ^{bB}
N _{org} (g kg ⁻¹)	27,32 ^{aB}	36,55 ^{bA}	36,93 ^{aA}	39,79 ^{aA}	32,24 ^{aA}	33,38 ^{aA}	34,04 ^{aA}	30,74 ^{aA}
PNF (g g ⁻¹ dia ⁻¹)	1,117 ^{aA}	0,467 ^{bA}	0,313 ^{aB}	0,302 ^{aA}	0,561 ^{aA}	0,506 ^{aA}	0,296 ^{aB}	0,265 ^{aB}
A (μmol m ⁻² s ⁻¹)	9,34 ^{aA}	5,08 ^{bA}	2,59 ^{aB}	1,98 ^{aB}	3,44 ^{aA}	2,14 ^{bA}	2,84 ^{aB}	1,57 ^{bB}
TTE (μmol m ⁻² s ⁻¹)	80,64 ^{aA}	55,96 ^{bA}	29,01 ^{aB}	26,52 ^{aB}	37,78 ^{aA}	36,97 ^{aA}	28,45 ^{aB}	28,02 ^{aA}
E_d (mol m ⁻² dia ⁻¹)	22,5 ^{aA}	12,7 ^{bA}	7,6 ^{aB}	4,2 ^{bB}	26,4 ^{aA}	14,6 ^{bA}	15,8 ^{aB}	7,9 ^{bB}
C (g kg ⁻¹)	475,61 ^{aA}	468,80 ^{bA}	456,00 ^{bB}	462,64 ^{aB}	456,30 ^{bA}	463,00 ^{aA}	444,81 ^{aB}	438,38 ^{bB}
CCO (g de glicose g ⁻¹)	1,342 ^{aA}	1,344 ^{aA}	1,209 ^{aB}	1,219 ^{aB}	1,380 ^{aA}	1,344 ^{aA}	1,214 ^{aB}	1,176 ^{aB}

Para a mesma variável, dentro de cada fenótipo, médias seguidas pela mesma letra minúscula não são significativamente diferentes entre os regimes hídricos para um mesmo nível de luz, e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes entre as condições de luz dentro de um mesmo regime hídrico. As médias foram comparadas entre si pelo teste F ($P < 0,05$).

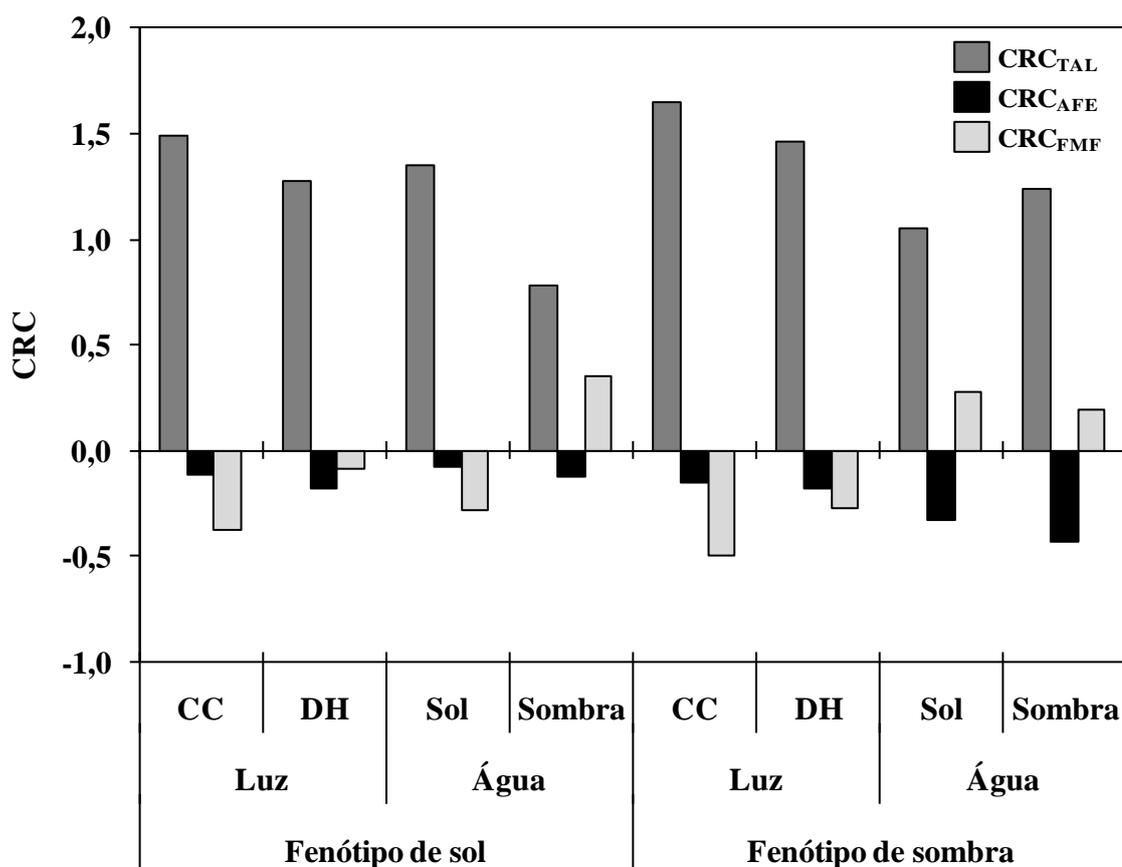


Figura 1: Coeficientes de resposta do crescimento (CRC) em plantas de dois fenótipos [fenótipo de sol (plantas cultivadas por oito meses sob 100% da luz solar direta) e fenótipo de sombra (plantas cultivadas por oito meses sob 15% da luz solar direta)] de *Coffea arabica* submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 30% da água disponível)].

A pleno sol, apesar de TAL ter-se correlacionado positivamente com TCR ($r = 0,99$), o coeficiente de trilha para o efeito direto foi negativo (-2,43), destacando os efeitos indiretos de PNF (6,23) e E_d (1,23) (Tabela 7). A AFE e FMF foram negativamente correlacionadas com TCR ($r_{AFE} = -0,91$; $r_{FMF} = -0,80$), sendo positivo, porém de baixa magnitude, o efeito direto de AFE sobre TCR; contudo, o efeito indireto foi negativo e de maior magnitude, em grande parte em função das variáveis PNF (-5,32) e E_d (-1,24) (Tabela 7). A correlação negativa entre FMF e TCR foi acompanhada pelo coeficiente de trilha para o efeito direto com aproximadamente a mesma magnitude e sinal, i.e. esta correlação explica a verdadeira associação existente entre as variáveis (Tabela 7). Sob sombreamento, somente TAL e AFE correlacionaram-se significativamente com TCR ($r_{TAL} = 0,99$; $r_{AFE} = -0,84$). A correlação entre FMF e TCR

foi positiva ($r = 0,34$), porém não significativa. A relação de TAL com TCR foi positiva, assim como o efeito direto (2,07). A relação de AFE com TCR foi negativa, causada pelo efeito indireto (-0,84), indicando que aquela relação é proporcionada pelo efeito indireto de outras variáveis (Tabela 7).

Tabela 5: Índice de plasticidade fenotípica [(maior valor – menor valor)/maior valor] para variáveis morfológicas e fisiológicas em plantas de dois fenótipos (**fenótipo de sol** e **fenótipo de sombra**) de *Coffea arabica* submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [**sol** (100% da luz solar direta) e **sombra** (15% da luz solar direta)] e água [**capacidade de campo** (CC; 100% da água disponível) e **déficit hídrico** (DH; 30% da água disponível)]. O valor representa o índice da variável dentro de cada fenótipo para um dos níveis dos fatores fixo (fator água: capacidade de campo e déficit hídrico ou, fator luz: sol e sombra) combinado com a variação dos níveis do outro fator que compõe a interação (luz ou água). A linha preenchida representa a média de todas as variáveis.

Variáveis	Fenótipo de sol				Fenótipo de sombra			
	Luz		Água		Luz		Água	
	CC	DH	Sol	Sombra	CC	DH	Sol	Sombra
TAL	0,59	0,37	0,51	0,21	0,48	0,60	0,19	0,38
AFE	0,07	0,05	0,03	0,01	0,07	0,09	0,02	0,05
FMF	0,20	0,02	0,09	0,10	0,21	0,14	0,04	0,12
FMC	0,17	0,11	0,13	0,14	0,27	0,16	0,10	0,05
FMR	0,18	0,25	0,18	0,25	0,22	0,23	0,05	0,04
TCR _A	0,33	0,50	0,36	0,50	0,36	0,67	0,27	0,67
TCR _D	0,33	0,58	0,41	0,61	0,23	0,25	0,39	0,40
TCR _R	0,50	0,36	0,29	0,12	0,46	0,60	0,23	0,42
N _F	0,26	0,08	0,25	0,05	0,05	0,08	0,08	0,10
PNF	0,72	0,33	0,58	0,04	0,47	0,48	0,10	0,10
A	0,73	0,60	0,46	0,21	0,17	0,25	0,38	0,48
TTE	0,64	0,53	0,31	0,09	0,25	0,24	0,02	0,02
E	0,66	0,67	0,44	0,45	0,40	0,46	0,47	0,50
C _F	0,04	0,01	0,01	0,01	0,03	0,05	0,01	0,01
CC _F	0,10	0,09	0,00	0,01	0,12	0,13	0,03	0,03
Média	0,38^a	0,27^b	0,26^a	0,17^b	0,25^a	0,27^a	0,19^a	0,21^a
TCR	0,46	0,27	0,34	0,11	0,37	0,42	0,13	0,18

Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes entre os regimes hídricos, considerando a variação do fator luz, e entre as condições de luz, considerando o fator água. As médias foram comparadas entre si pelo teste F ($P < 0,05$). Vide a lista de abreviaturas para maiores detalhes.

2.3.3.2 Fenótipo de sombra

Variação da disponibilidade de luz

Não houve limitações significativas para a média (de todas as características) dos IPF e IIF, como também em IPF_{TCR} e IIF_{TCR}, quando houve variação da disponibilidade

de luz ou de água. O IPF e o IIF foram maiores, 23% e 31%, respectivamente, quando as plantas foram submetidas à variação da disponibilidade de luz em relação à variação da disponibilidade de água (Luz, $IPF_{\text{médio}} = 0,26$ e $IIF_{\text{médio}} = 0,55$; Água, $IPF_{\text{médio}} = 0,20$ e $IIF_{\text{médio}} = 0,38$) (Tabelas 5 e 6). Algumas variáveis tiveram IPF muito acima da média, independentemente da condição hídrica, destacando-se TAL, TCR_A , TCR_R , PNF e E_d (Tabela 5). Em relação a IIF, algumas variáveis comportaram-se de modo muito diferente das demais, por exemplo, sob CC, N_F apresentou IIF (0,20) 63% inferior ao da média (0,55) e nenhuma de suas correlações foi significativa. Sob DH, TCR_D apresentou IIF (0,22) 59% inferior ao da média (0,54) e também nenhuma de suas correlações foi significativa; nessa condição, IIF para A (0,23) foi 57% inferior ao da média, e somente duas de suas correlações foram significativas (Tabela 6).

Sob CC, TAL correlacionou-se fortemente com TCR ($r = 0,99$), com efeito direto positivo e de magnitude semelhante. Em contraste, AFE e FMF se correlacionaram negativamente com TCR ($r_{AFE} = -0,93$ e $r_{FMF} = -0,88$), fato explicado pelo efeito indireto com outras variáveis (Tabela 7). Sob DH, apesar da correlação positiva entre TAL e TCR ($r = 0,99$), os efeitos indiretos foram preponderantes, destacando-se o efeito de PNF sobre TAL, com coeficiente de trilha para o efeito indireto de 1,23 (Tabela 7). A AFE e FMF foram negativamente correlacionadas com TAL ($r_{AFE} = -0,88$ e $r_{FMF} = -0,79$), fato explicado pelo efeito indireto de outras variáveis, uma vez que o coeficiente de trilha para o efeito direto foi positivo (FMF) ou de baixa magnitude (AFE) (Tabela 7).

Variação da disponibilidade de água

Independentemente da disponibilidade de luz, quando as plantas foram submetidas à variação da disponibilidade de água, as variáveis morfológicas (AFE, FMF, FMC e FMR) apresentaram baixos IPFs ($IPF_{\text{sol}} = 0,19$ e $IPF_{\text{sombra}} = 0,21$), em oposição às variáveis fisiológicas (TAL, A e E_d), cujos IPFs foram expressivos (Sol, $IPF_{TAL} = 0,20$, $IPF_A = 0,38$ e $IPF_{E_d} = 0,47$; Sombra, $IPF_{TAL} = 0,38$, $IPF_A = 0,48$ e $IPF_{E_d} = 0,50$). Destaca-se ainda que IPF_{TCR} foi menor que o da média (Sol, $IPF_{TCR} = 0,13$; Sombra, $IPF_{TCR} = 0,18$) (Tabela 5). De modo geral, para o fenótipo de sombra, sob variação da disponibilidade hídrica, tanto nas plantas ao sol ou à sombra, todas as variáveis estudadas apresentaram menor IIF e, também, redução do número de correlações significativas, refletindo uma redução de IIF da planta como um todo ($IIF_{\text{sol}} = 0,36$ e $IIF_{\text{sombra}} = 0,39$) e também redução do IIF e do número de correlações significativas apresentadas por TCR

(Sol, $IIF_{TCR} = 0,49$ e 6 correlações significativas; Sombra, $IIF_{TCR} = 0,43$ e 5 correlações significativas) (Tabela 6).

Tabela 6: Índice de integração fenotípica para variáveis morfológicas e fisiológicas em plantas de dois fenótipos (**fenótipo de sol** e **fenótipo de sombra**) de *Coffea arabica* submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [**sol** (100% da luz solar direta) e **sombra** (15% da luz solar direta)] e água [**capacidade de campo** (CC; 100% da água disponível) e **déficit hídrico** (DH; 30% da água disponível)]. O valor representa o índice da variável dentro de cada fenótipo para um dos níveis dos fatores fixo (fator água: capacidade de campo e déficit hídrico ou, fator luz: sol e sombra) combinado com a variação dos níveis do outro fator que compõe a interação (luz ou água). O valor subscrito, entre parênteses, representa o número de correlações significativas ($P < 0,05$) entre as variáveis. A linha preenchida representa a média de todas as variáveis.

Variáveis	Fenótipo de sol				Fenótipo de sombra			
	Luz		Água		Luz		Água	
	CC	DH	Sol	Sombra	CC	DH	Sol	Sombra
TAL	0,89 ⁽¹⁴⁾	0,69 ⁽¹¹⁾	0,78 ⁽¹³⁾	0,45 ⁽⁰⁶⁾	0,59 ⁽¹⁰⁾	0,70 ⁽¹¹⁾	0,43 ⁽⁰⁴⁾	0,39 ⁽⁰⁴⁾
AFE	0,88 ⁽¹⁴⁾	0,78 ⁽¹¹⁾	0,70 ⁽¹²⁾	0,58 ⁽⁰⁸⁾	0,69 ⁽¹¹⁾	0,71 ⁽¹¹⁾	0,41 ⁽⁰⁴⁾	0,58 ⁽⁰⁷⁾
FMF	0,85 ⁽¹⁴⁾	0,37 ⁽⁰²⁾	0,67 ⁽¹¹⁾	0,62 ⁽¹¹⁾	0,58 ⁽⁰⁸⁾	0,44 ⁽⁰⁵⁾	0,35 ⁽⁰³⁾	0,48 ⁽⁰⁶⁾
FMC	0,85 ⁽¹⁴⁾	0,56 ⁽⁰⁶⁾	0,76 ⁽¹²⁾	0,46 ⁽⁰⁵⁾	0,66 ⁽¹²⁾	0,50 ⁽⁰⁸⁾	0,37 ⁽⁰³⁾	0,23 ⁽⁰¹⁾
FMR	0,71 ⁽¹⁴⁾	0,71 ⁽¹¹⁾	0,71 ⁽¹²⁾	0,59 ⁽⁰⁹⁾	0,44 ⁽⁰⁵⁾	0,37 ⁽⁰⁶⁾	0,39 ⁽⁰³⁾	0,27 ⁽⁰¹⁾
TCR_A	0,79 ⁽¹⁴⁾	0,65 ⁽¹⁰⁾	0,67 ⁽¹²⁾	0,63 ⁽⁰⁹⁾	0,54 ⁽⁰⁶⁾	0,71 ⁽¹¹⁾	0,34 ⁽⁰⁵⁾	0,47 ⁽⁰⁶⁾
TCR_D	0,71 ⁽¹⁴⁾	0,68 ⁽¹¹⁾	0,71 ⁽¹²⁾	0,53 ⁽⁰⁸⁾	0,40 ⁽⁰⁵⁾	0,22 ⁽⁰⁰⁾	0,44 ⁽⁰⁶⁾	0,49 ⁽⁰⁶⁾
TCR_R	0,85 ⁽¹⁴⁾	0,68 ⁽¹²⁾	0,71 ⁽¹²⁾	0,37 ⁽⁰⁵⁾	0,66 ⁽¹⁰⁾	0,58 ⁽⁰⁹⁾	0,36 ⁽⁰⁴⁾	0,50 ⁽⁰⁷⁾
N_{org}	0,82 ⁽¹⁴⁾	0,41 ⁽⁰¹⁾	0,73 ⁽¹³⁾	0,36 ⁽⁰²⁾	0,20 ⁽⁰⁰⁾	0,50 ⁽⁰⁹⁾	0,21 ⁽⁰¹⁾	0,43 ⁽⁰⁵⁾
PNF	0,90 ⁽¹⁴⁾	0,74 ⁽¹¹⁾	0,79 ⁽¹³⁾	0,33 ⁽⁰³⁾	0,58 ⁽⁰⁸⁾	0,64 ⁽⁰⁹⁾	0,41 ⁽⁰⁵⁾	0,36 ⁽⁰⁴⁾
A	0,89 ⁽¹⁴⁾	0,68 ⁽¹¹⁾	0,74 ⁽¹³⁾	0,37 ⁽⁰³⁾	0,58 ⁽¹¹⁾	0,23 ⁽⁰²⁾	0,30 ⁽⁰³⁾	0,50 ⁽⁰⁷⁾
TTE	0,82 ⁽¹³⁾	0,66 ⁽¹²⁾	0,53 ⁽⁰⁷⁾	0,43 ⁽⁰⁵⁾	0,35 ⁽⁰³⁾	0,49 ⁽⁰⁷⁾	0,22 ⁽⁰²⁾	0,19 ⁽⁰⁰⁾
E_d	0,88 ⁽¹⁴⁾	0,74 ⁽¹²⁾	0,70 ⁽¹²⁾	0,58 ⁽⁰⁸⁾	0,61 ⁽⁰⁸⁾	0,67 ⁽¹¹⁾	0,41 ⁽⁰⁵⁾	0,49 ⁽⁰⁷⁾
C	0,87 ⁽¹⁴⁾	0,62 ⁽¹²⁾	0,68 ⁽¹¹⁾	0,46 ⁽⁰⁶⁾	0,63 ⁽⁰⁹⁾	0,70 ⁽¹¹⁾	0,32 ⁽⁰⁵⁾	0,39 ⁽⁰²⁾
CCO	0,84 ⁽¹⁴⁾	0,62 ⁽¹¹⁾	0,14 ⁽⁰⁰⁾	0,32 ⁽⁰¹⁾	0,68 ⁽¹²⁾	0,69 ⁽¹¹⁾	0,19 ⁽⁰¹⁾	0,39 ⁽⁰⁴⁾
Média	0,86^a(14)	0,64^b(10)	0,67^a(11)	0,45^b(06)	0,55^a(07)	0,54^a(08)	0,36^a(04)	0,39^a(05)
TCR	0,91⁽¹⁵⁾	0,72⁽¹²⁾	0,82⁽¹⁴⁾	0,44⁽⁰⁷⁾	0,65⁽¹⁰⁾	0,72⁽¹¹⁾	0,49⁽⁰⁶⁾	0,43⁽⁰⁵⁾

Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes entre os regimes hídricos, considerando a variação do fator luz, e entre as condições de luz, considerando o fator água. As médias foram comparadas entre si pelo teste F ($P < 0,05$). Vide a lista de abreviaturas para maiores detalhes.

Nas plantas cultivadas ao sol, tanto o coeficiente de correlação entre TAL e TCR ($r = 0,97$) e o seu efeito direto (3,05) foram altos e com mesmo sinal, indicando uma relação de causa/efeito. Como o coeficiente de correlação entre AFE e TCR foi negativo ($r = -0,89$), mas o efeito direto positivo (0,52), nessa situação os fatores causais indiretos (-1,41) devem ser considerados simultaneamente, a destacar-se o efeito indireto de TAL (-2,89). A FMF correlacionou-se negativamente com TCR ($r = -0,65$), assim como o coeficiente de trilha para o efeito direto (-0,94) (Tabela 7). Sob sombreamento, somente TAL e AFE correlacionaram-se com TCR ($r_{TAL} = 0,98$ e $r_{AFE} = -0,59$); para TAL, a correlação foi explicada pelo efeito direto (0,88) e, a apresentada por AFE, pelo efeito indireto (-0,63) de outras variáveis, destacando-se o efeito indireto de TAL (-0,63) (Tabela 7).

2.3.3.3 Relação entre a plasticidade e a integração fenotípica

Independentemente do fenótipo, IPF e IIF associaram-se positiva e significativamente ($r^2 > 0,83$; Figura 2A); portanto, condições que favoreceram a maior integração do fenótipo foram associadas com maior PF. O IPF e o IIF obtidos apresentaram relação positiva e altamente significativa com IPF_{TCR} (Figura 2B e 2C). Especificamente, verificaram-se fortes associações entre IPF_{TCR} e IIF_{TCR} ($r^2 = 0,89$ no fenótipo de sombra e $r^2 = 0,96$ no fenótipo de sol) (Figura 2D).

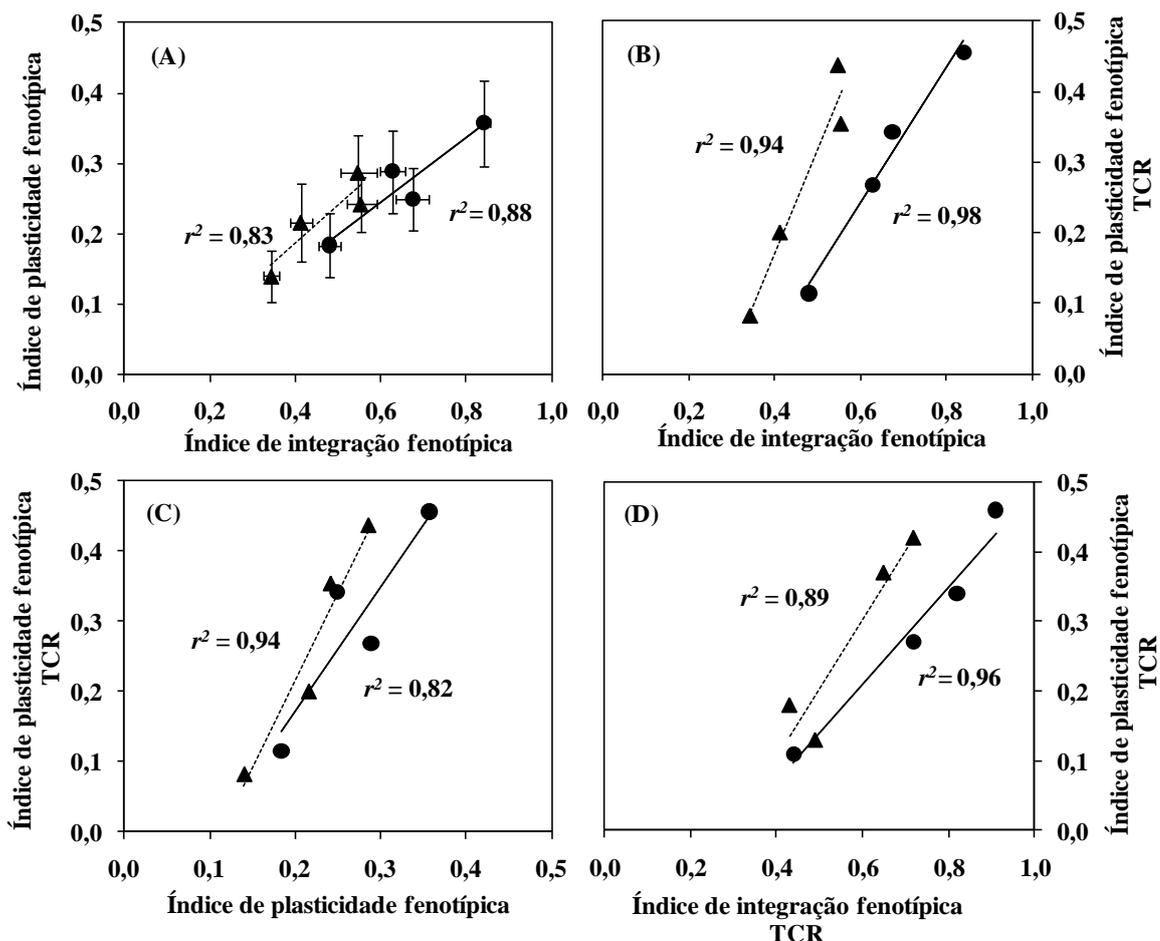


Figura 2: Regressão linear simples entre o índice de integração fenotípica e o índice de plasticidade fenotípica (média \pm erro padrão) (A), índice de integração fenotípica e índice de plasticidade fenotípica da taxa de crescimento relativo ao acúmulo de biomassa (TCR) (B), índice de plasticidade fenotípica e o índice de plasticidade fenotípica da TCR (C) e entre índice de integração fenotípica da TCR e o índice de plasticidade fenotípica da TCR (D), em plantas de dois fenótipos (**fenótipo de sol** e **fenótipo de sombra**) de *Coffea arabica* submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [**sol** (100% da luz solar direta) e **sombra** (15% da luz solar direta)] e água [**capacidade de campo** (CC; 100% da água disponível) e **déficit hídrico** (DH; 30% da água disponível)]. Círculos e linha contínua representam os tratamentos do fenótipo de sol e triângulos e linha pontilhada representam os tratamentos do fenótipo de sombra. Para cada um dos fenótipos é apresentado o coeficiente de determinação (r^2).

Tabela 7: Correlações lineares de Pearson (r) e coeficientes de trilha entre a taxa de crescimento relativo ao acúmulo de biomassa (TCR, variável resposta) e variáveis morfológicas e fisiológicas (variáveis explicativas) em plantas de dois fenótipos [**fenótipo de sol** (plantas cultivadas por oito meses sob 100% da luz solar direta) e **fenótipo de sombra** (plantas cultivadas por oito meses sob 10% da luz solar direta) de *Coffea arabica* submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [**sol** (100% da luz solar direta) e **sombra** (15% da luz solar direta)] e água [**capacidade de campo** (CC; 100% da água disponível) e **déficit hídrico** (DH; 30% da água disponível)] ($n = 10$).

Fenótipo	Fator variável	Fator fixo	Variáveis	r	Coeficientes de trilha																
					Efeito direto	Efeito indireto															
						Total	TAL	AFE	FMF	FMC	FMR	TCR _A	TCR _D	TCR _R	N _{org}	PNF	A	TTE	E _d	C	CCO
Fenótipo de sol	Luz	CC	TAL	0,99 ^{***}	4,67	-3,68	-	-1,70	-0,12	-2,13	-0,11	1,01	-0,12	-0,38	-1,24	-1,89	5,97	-1,48	0,78	0,04	-2,44
			AFE	-0,96 ^{***}	1,79	-2,75	-4,43	-	0,11	1,99	0,09	-0,98	0,11	0,37	1,29	1,76	-6,28	1,60	-0,83	-0,04	2,59
			FMF	-0,91 ^{***}	0,13	-1,04	-4,12	1,50	-	1,86	0,12	-1,01	0,13	0,30	1,13	1,84	-5,63	1,38	-0,76	0,04	2,37
		DH	TAL	0,99 ^{***}	-0,89	1,88	-	0,39	-0,08	0,28	-0,89	-0,29	0,17	0,51	-0,11	1,34	-0,41	-0,04	0,98	0,03	-0,03
			AFE	-0,90 ^{***}	-0,44	-0,46	0,80	-	0,07	-0,38	1,19	0,37	-0,19	-0,54	0,17	-1,35	0,51	0,04	-1,11	-0,03	0,02
			FMF	-0,51 ^{ns}	0,17	-0,68	0,44	-0,17	-	-0,23	0,34	0,09	-0,09	-0,14	-0,16	-0,50	0,17	0,04	-0,44	-0,02	0,02
	Água	Sol	TAL	0,99 ^{***}	-2,43	3,42	-	-0,51	0,74	1,25	-3,55	-0,67	-0,39	1,15	0,83	6,23	-2,97	-0,08	1,23	0,10	0,10
			AFE	-0,91 ^{***}	0,55	-1,47	2,26	-	-0,49	-1,10	2,52	0,58	0,34	-1,11	-0,81	-5,32	2,98	0,08	-1,24	-0,09	-0,13
			FMF	-0,80 ^{**}	-0,97	0,17	1,85	0,28	-	-1,05	4,06	0,67	0,38	-0,78	-0,60	-5,69	2,13	0,06	-0,91	-0,10	-0,12
		Sombra	TAL	0,99 ^{***}	2,07	-1,08	-	-0,01	0,07	-0,05	0,13	-0,51	-0,22	-0,28	-0,01	-0,24	-0,01	-0,02	0,04	0,01	-0,02
			AFE	-0,84 ^{**}	0,00	-0,84	-1,85	-	-0,13	0,13	-0,26	0,64	0,24	0,30	0,02	0,18	-0,01	-0,01	-0,05	-0,02	0,00
			FMF	0,34 ^{ns}	0,17	0,15	0,90	-0,01	-	-0,17	0,34	-0,64	-0,19	-0,25	-0,03	-0,03	0,02	0,07	0,04	0,03	0,02
Fenótipo de sombra	Luz	CC	TAL	0,97 ^{***}	1,08	-0,11	-	-0,05	0,20	0,01	0,04	0,03	-0,10	0,20	0,01	-0,12	-0,11	-0,01	-0,15	0,03	-0,07
			AFE	-0,93 ^{***}	0,05	-0,98	-1,01	-	-0,20	-0,01	-0,12	-0,05	0,10	-0,27	-0,01	0,11	0,11	0,05	0,22	-0,03	0,08
			FMF	-0,88 ^{***}	-0,26	-0,62	-0,85	0,04	-	-0,01	-0,09	-0,03	0,02	-0,18	-0,01	0,10	0,09	0,08	0,16	-0,03	0,08
		DH	TAL	0,99 ^{***}	0,11	0,88	-	0,09	-0,19	-0,07	-0,08	0,72	-0,13	0,41	-0,11	1,23	-0,05	-0,16	-0,77	0,04	-0,02
			AFE	-0,88 ^{***}	-0,10	-0,77	-0,10	-	0,11	0,09	0,17	-0,79	0,18	-0,59	0,12	-1,00	0,03	0,15	0,86	-0,04	0,02
			FMF	-0,79 ^{**}	0,26	-1,05	-0,08	-0,04	-	0,00	-0,05	-0,36	-0,01	-0,07	0,06	-1,08	0,09	0,08	0,40	-0,03	0,01
	Água	Sol	TAL	0,97 ^{***}	3,05	-2,07	-	-0,49	0,46	-0,19	-0,41	-0,05	0,60	-0,02	-0,29	-1,48	-0,17	0,11	-0,09	-0,01	-0,05
			AFE	-0,89 ^{***}	0,52	-1,41	-2,89	-	-0,23	0,25	0,32	0,07	-0,55	0,06	0,23	1,27	-0,04	-0,09	0,12	-0,01	0,06
			FMF	-0,65 [*]	-0,94	0,29	-1,49	0,13	-	0,05	0,55	-0,01	-0,21	-0,11	0,08	0,94	0,44	0,00	-0,05	0,01	-0,03
		Sombra	TAL	0,98 ^{***}	0,88	0,10	-	-0,03	0,04	0,01	-0,01	0,11	0,07	-0,29	-0,01	0,24	-0,08	0,04	-0,01	0,01	-0,01
			AFE	-0,59 [*]	0,04	-0,63	-0,63	-	0,06	0,01	0,00	-0,25	-0,89	0,97	0,01	-0,09	0,19	-0,05	0,01	-0,01	0,01
			FMF	-0,48 ^{ns}	-0,14	-0,34	-0,29	-0,02	-	-0,04	0,01	0,18	1,12	-0,93	-0,01	-0,21	-0,15	0,01	-0,01	-0,01	0,00

^{ns} $P > 0,05$, ^{*} $P < 0,05$, ^{**} $P < 0,01$ e ^{***} $P < 0,001$. Vide a lista de abreviaturas para maiores detalhes.

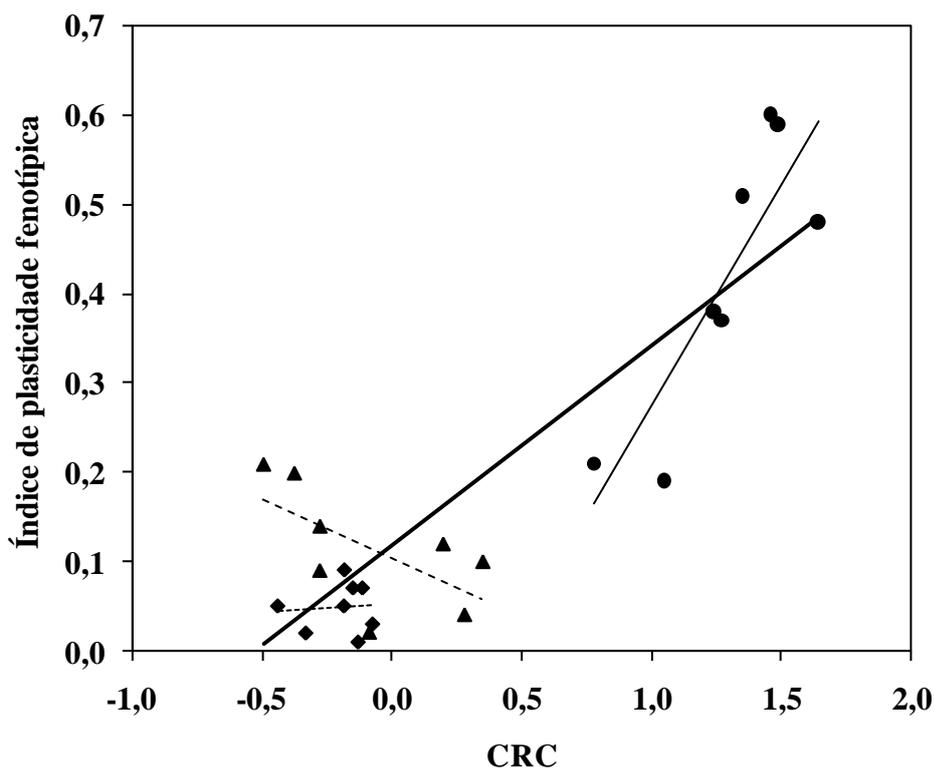


Figura 3: Regressão linear simples entre os coeficientes de resposta do crescimento (CRC) e o índice de plasticidade fenotípica. Círculos representam a resposta da taxa assimilatória líquida ($\hat{y} = 0,4948x - 0,2201$, $r^2 = 0,73$), losangos da área foliar específica ($\hat{y} = 0,0195x + 0,0526$, $r^2 = 0,01$), triângulos da fração de massa foliar ($\hat{y} = -0,1316x + 0,1036$, $r^2 = 0,39$) e o padrão geral dos dados é representado pela linha espessa ($\hat{y} = 0,2229x + 0,1190$, $r^2 = 0,74$).

2.4 Discussão

As diferenças substanciais no acúmulo de biomassa e no padrão de partição de biomassa verificadas entre os fenótipos de sol e de sombra (Tabela 1) poderiam ser reflexo, em larga escala, da deriva ontogenética, i.e. plasticidade aparente (McConnaughay e Coleman, 1999; Wright e McConnaughay, 2002; Weiner, 2004). É importante distinguir a plasticidade verdadeira da plasticidade aparente, uma vez que a deriva ontogenética pode obscurecer o grau e a natureza das mudanças adaptativas de plantas em resposta a condições variáveis de crescimento (Pigliucci e Schlichting, 1995; Wright e McConnaughay, 2002). Embora essa distinção seja fundamental, a deriva ontogenética tem sido frequentemente ignorada na análise de crescimento. Neste estudo, foram avaliados os efeitos da interação L x A, especificamente dentro de cada fenótipo, como forma de amenizar possíveis ruídos ontogenéticos.

Diferentemente da premissa deste estudo, TCR foi associada fortemente a TAL, sem contribuição significativa de AFE ou FMF, mesmo sob baixa irradiância, independentemente de qualquer covariância entre variáveis, conforme demonstram os CRCs e a análise de trilha. Estes resultados contrastam com o que se tem observado em várias espécies sob limitação lumínica, quando AFE se reveste de maior significância na determinação da magnitude de TCR (Shipley, 2000, 2002). Considerando-se a competição (*trade-off*) entre TAL com AFE e FMF, e que TCR é positivamente relacionada com a aquisição de recursos e ocupação do espaço (Lambers et al., 2008), sugere-se que a expressão de qualquer plasticidade em AFE e/ou FMF será não-adaptativa, em função de proporcionar redução em TAL e, conseqüentemente, em TCR. Porquanto os custos de plasticidade são representados por qualquer redução do desempenho (*fitness*) associada com a variação de uma determinada variável (Auld et al., 2010), a plasticidade em AFE e /ou FMF poderá apresentar custo elevado para a planta. Além disso, os valores elevados de IPF expressos por TAL podem ter limitado a expressão da plasticidade de AFE e FMF. Essa limitação pode estar associada às relações alométricas entre características, na medida em que a plasticidade em uma variável pode restringir a plasticidade em outra característica (Valladares et al., 2007).

O sombreamento limitou a plasticidade fenotípica à variação da disponibilidade hídrica no fenótipo de sol, mas não no fenótipo de sombra. Embora não significativo, neste fenótipo, a condição de pleno sol reduziu a plasticidade das plantas à variação da disponibilidade hídrica. Dentre os possíveis limites de plasticidade propostos (DeWitt et al., 1998; Givnish, 2002; vanKleunen e Fischer, 2005; Valladares et al., 2007), pode-se destacar aqueles impostos pelo histórico de plasticidade, que ocorrem quando o potencial de uma resposta ao ambiente atual depende de respostas anteriores, e os limites ecológicos, que ocorrem quando um fator ambiente restringe as possibilidades de respostas a outros fatores ambientes. Em geral, fatores que podem restringir a expressão de qualquer característica podem restringir PF (Scheiner et al., 1991; Schlichting e Pigliucci, 1998; Callahan e Pigliucci, 2005). Por exemplo, nos indivíduos inicialmente cultivados ao sol e posteriormente transferidos para a sombra, a condição inicial de pleno sol pode ter limitado o desenvolvimento da plasticidade sob sombreamento; o oposto pode ser válido para o fenótipo de sombra, cuja condição inicial de cultivo (sombreamento) pode ter limitado o desenvolvimento da plasticidade a pleno sol. Fenótipos que são vantajosos no âmbito de valores extremos de um determinado fator

abiótico podem ser mal-adaptados para valores extremos de outro fator (Valladares et al., 2007). Assim, a plasticidade se torna prejudicial quando os valores extremos de ambos os fatores ocorrem simultaneamente, como ocorreu quando as plantas tiveram que responder à variação de disponibilidade de luz sob deficiência hídrica e responder à disponibilidade de água sob sombreamento.

Evidenciou-se, neste trabalho, que a magnitude de PF de uma determinada variável depende da importância que essa variável tem na determinação do desempenho da planta (Figura 3). Foi também demonstrado que o padrão de IF altera a expressão de PF; contudo, em contraste ao que tem sido proposto (Gianoli e Palacio-López, 2009), os dados sugerem que a expressão da plasticidade de um determinado genótipo é condicionada por IF. Portanto, sugere-se que PF e IF sejam processos complementares, e não mutuamente excludentes. A expressão da plasticidade em resposta à disponibilidade de luz e água é, pois, dependente do padrão de covariação entre características funcionais e difere entre ambientes, como forma de o indivíduo responder às alterações na disponibilidade de recursos de forma integrada. A estratégia adotada por um genótipo na confecção do fenótipo ideal não deve ser somente focada em uma única variável; para que haja aumento em TAL, como forma de conferir maior TCR, obrigatoriamente outras variáveis foram alteradas, destacando-se ainda que, em determinadas condições (e.g. sob DH), o efeito de TAL é indireto em função da relação com outras variáveis. Assim, quanto maior for IF, maior será a habilidade do genótipo de alterar todo o seu fenótipo de forma adaptativa, traduzindo essas mudanças em maior plasticidade, alterando o padrão de alocação de recursos de forma equilibrada e funcional. Com efeito, conclui-se que IF sob sombreamento e DH, condições em que o ganho de C é reduzido, é limitada como forma de limitar a plasticidade da planta como um todo, evitando-se grandes alterações do fenótipo e, portanto, o desenvolvimento de plasticidade mal-adaptativa. Nessas condições, a planta responderá de forma particular, desenvolvendo mecanismos específicos para contornar a condição desfavorável. Por exemplo, sob condições não limitantes, observa-se uma relação entre o acúmulo de biomassa na parte aérea e no sistema radicular como forma de maximizar o crescimento; em contraste, com limitação de recursos acima ou abaixo do solo, aquela relação não poderá ser mantida, devendo a planta concentrar seus recursos na direção limitante. Portanto, condições estressantes parecem levar à redução das correlações entre variáveis como forma de evitar perdas e maximizar o crescimento. Assim, uma resposta a um fator ambiente pode influenciar

respostas a outros fatores, e o fato de as respostas às várias condições poderem ser integradas parece crucial para se entender a base de variação na plasticidade e como ela é restringida.

2.5 Referências

- Antunes WC, Pompelli MF, Carretero DM, DaMatta FM (2008)** Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *Annals of Applied Biology* **153**: 33-40.
- Auld JR, Agrawal AA, Relyea RA (2010)** Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity. *Proceedings of the Royal Society* **277**: 503-511.
- Bradshaw AD (1965)** Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* **13**: 115-155.
- Callahan HS, Pigliucci M (2005)** Indirect consequences of artificial selection on plasticity to light quality in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Evolutionary Biology* **18**: 1403-1415.
- DaMatta FM (2004)** Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research* **86**: 99-114.
- DaMatta FM, Amaral JAT, Rena AB (1999)** Growth periodicity in trees of *Coffea arabica* L. in relation to nitrogen supply and nitrate reductase activity. *Field Crops Research* **60**: 223-229.
- DeWitt TJ, Sih A, Wilson DS (1998)** Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* **13**: 77-81.
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989)** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* **990**: 87-92.
- Gianoli E K, Palacio-López K (2009)** Phenotypic integration may constrain phenotypic plasticity in plants. *Oikos* **118**: 1924-1928.
- Givnish TJ (2002)** Ecological constraints on the evolution of plasticity in plants. *Evolutionary Ecology* **16**: 213-242.
- Grime JP, Hunt R (1975)** Relative growth rate: its range and adaptive significance in a local flora. *Journal of Ecology* **63**: 393-422.
- Groeneveld HW (1998)** Measuring the RGR of individual grass plant. *Annals of Botany* **82**: 803-808.
- Hunt R (1982)** *Plant growth curves. The functional approach to growth analysis*. London, Edward Arnold.
- Hunt R, Causton DR, Shipley B, Askew AP (2002)** A modern tool for classical plant growth analysis. *Annals of Botany* **90**: 485-488.
- van Kleunen M, Fischer M (2005)** Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* **166**: 49-60.

- Lambers H, Chapin FS, Pons TL** (2008) *Plant physiological ecology*. New York, Springer-Verlag.
- McConnaughay KDM, Coleman JS** (1999) Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? Test along tree resource gradients. *Ecology* **80**: 2581-2593.
- McKenna MF, Shipley B** (1999) Interacting determinants of interspecific relative growth: empirical patterns and a theoretical explanation. *Ecoscience* **6**: 286-296.
- Mallitt KL, Bonser SP, Hunt J** (2010) The plasticity of phenotypic integration in response to light and water availability in the pepper grass, *Lepidium bonariense*. *Evolutionary Ecology* **24**:1321-1337.
- Nagakura J, Shigenaga H, Akama A, Takahashi M** (2004) Growth and transpiration of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) and Hinoki cypress (*Chamaecyparis obtuse*) seedlings in response to soil water content. *Tree Physiology* **24**: 1203-1028.
- Osoné Y, Ishida A, Tateno M** (2008) Correlation between relative growth rate and specific leaf area requires associations of specific leaf area with nitrogen absorption rate of roots. *New Phytologist* **179**: 417-427.
- Pigliucci M** (2001) *Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture*. Baltimore, John Hopkins University Press.
- Pigliucci M** (2003) Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecology Letters* **6**: 265-272.
- Pigliucci M, Preston K** (2004). *Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes*. New York, Oxford University Press.
- Pigliucci M, Schlichting CD** (1995) Reaction norms of *Arabidopsis* (Brassicaceae). III. Response to nutrients in 26 populations from a worldwide collection. *American Journal of Botany* **82**: 1117-1125.
- Poorter H, Garnier E** (1996) Plant growth analysis: An evaluation of experimental design and computational methods. *Journal of Experimental Botany* **47**: 1343-1351.
- Poorter H, Nagel O** (2000) The role of biomass allocation in the growth responses of plants to different levels of light, CO₂ and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 595-607.
- Portsmuth A, Niinemets Ü** (2007) Structural and physiological plasticity in response to light and nutrients in five temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Functional Ecology* **21**: 61-77.
- Scheiner SM, Caplan RL, Lyman RF** (1991) The genetics of phenotypic plasticity. III. Genetic correlations and fluctuating asymmetry. *Journal of Evolutionary Biology* **4**: 51-68.
- Schlichting CD, Pigliucci M** (1998) *Phenotypic evolution: a reaction norm perspective*. Sunderland, Sinauer Associates.
- Shipley B** (2000) Plasticity in relative growth rate and its components following a change in irradiance. *Plant, Cell and Environment* **23**: 1207-1216.
- Shipley B** (2002) Trade-offs between net assimilation rate and specific leaf area in determining relative growth rate: Relationship with daily irradiance. *Functional Ecology* **16**: 682-689.

- Shipley B** (2006) Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis. *Functional Ecology* **20**: 565-574.
- Sultan SE** (2004) Promising directions in plant phenotypic plasticity. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **6**: 227-233.
- Valladares F, Gianoli E, Gómez JM** (2007) Ecological limits to plant phenotypic plasticity. Tansley review. *New Phytologist* **176**: 749-763.
- Valladares F, Niinemets Ü** (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **39**: 237-257.
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Pearcy RW** (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* **81**: 1925-1936.
- Villar R, Merino J** (2001) Comparison of leaf construction costs in woody species with differing leaf life-spans in contrasting ecosystems. *New Phytologist* **151**: 213-226.
- Weiner J** (2004) Allocation, plasticity, and allometry in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **6**: 207-215.
- Williams K, Percival F, Merino J, Mooney HA** (1987) Estimation of tissue construction cost from heat of combustion and organic nitrogen content. *Plant, Cell and Environment* **10**: 725-734.
- Wright SD, McConnaughay KDM** (2002) Interpreting phenotypic plasticity: the importance of ontogeny. *Plant Species Biology* **17**: 119-131.

III. CAPÍTULO III

Análise funcional dos custos de construção e de manutenção e da composição química de folhas de *Coffea arabica* em resposta à disponibilidade de luz e de água

3.1 Introdução

Enquanto a fotossíntese, processo intrinsecamente associado com a construção da biomassa, vem sendo explorada em profundidade, muito pouco tem sido investigado sobre o destino posterior do carbono (C) assimilado. Fatores que controlam a respiração da planta e a translocação de C para vários órgãos são apenas fragmentariamente compreendidos (Poorter e Villar, 1997). Na maioria dos estudos, o crescimento das plantas é considerado simplesmente como o acúmulo de biomassa, sem considerar-se a composição química da biomassa formada. No entanto, a maneira de como uma planta investe seus assimilados e os minerais absorvidos em diferentes compostos químicos influencia diretamente o seu crescimento e os custos de construção (CCO) e de manutenção (CMT) (Merino et al., 1984; Villar et al., 2006). Tecnicamente, CCO é definido pela quantidade de glicose utilizada para a construção de um grama de biomassa (Penning de Vries et al., 1974; Williams et al., 1987), variando de 1,1 a 1,9 g glicose g⁻¹ para folhas de diferentes espécies (Penning de Vries et al., 1974; Sims e Pearcy, 1994; Poorter et al., 1997; Poorter e Villar, 1997; Poorter e DeJong, 1999; Poorter et al., 2006; Villar et al., 2006). A energia necessária para manter processos que não resultam em incremento de biomassa, e.g. giro de moléculas orgânicas, manutenção de membranas e troca de solutos, é associada com CMT (Merino et al., 1984).

Informações relativas aos efeitos de fatores ambientes, como luz e água, sobre CCO de espécies lenhosas são conflitantes. Por exemplo, enquanto Sims e Pearcy (1994) estimaram maior CCO em folhas de *Alocasia macrorrhiza* sob baixa irradiância, Poorter

et al. (2006) relataram, em um estudo com 12 espécies lenhosas, que folhas desenvolvidas sob baixas irradiâncias tiveram, em média, CCO 3% menor que o de folhas expostas a altas irradiâncias. Em todo o caso, usualmente apenas variações pequenas ou insignificantes têm sido identificadas em CCO em resposta à variação de fatores ambientes (luz, água, CO₂ e nutrientes), suportando a premissa de que as alterações em CCO em resposta a tais fatores são relativamente modestas ou inexistentes, conforme sugerido por Poorter et al. (2006). O padrão de correlação entre os constituintes químicos foliares pode ajudar a explicar esse comportamento. Correlações positivas entre compostos com alto e baixo custo energético [e.g. entre proteínas e minerais (Poorter e Bergkotte, 1992; Poorter, 1994; Poorter e Villar, 1997; Villar e Merino, 2001; Villar et al., 2006) e/ou fenóis solúveis e minerais (Martinez et al., 2002)] e correlações negativas entre compostos de elevado custo energético [e.g. proteínas e lignina, lignina e taninos (Chapin, 1989) e/ou lipídios e proteínas (Martinez et al., 2002)] têm sido utilizadas para explicar as pequenas variações observadas em CCO em espécies desenvolvendo-se em diferentes ecossistemas (Villar e Merino, 2001; Martinez et al., 2002; Villar et al., 2006). Isso significa que a composição química foliar pode variar grandemente, mas sem alterações correspondentes em CCO.

A hipótese de compromisso entre crescimento e defesa (sobrevivência) pode explicar os padrões de composição química de uma folha (Rhoades e Cates, 1976; Coley, 1988). Segundo essa teoria, a planta enfrenta um compromisso energético entre sintetizar compostos de defesa (com alto custo metabólico) ou investir essa energia em processos relacionados com o crescimento (Coley et al., 1985; Reich et al., 1997; Westoby et al., 2002). Nesse contexto, o crescimento pode competir com a sobrevivência por um substrato comum, e.g. fenilalanina, precursor usado tanto na síntese de compostos fenólicos como na síntese protéica (Boudet, 2007). Todavia, poucos estudos examinaram como o desenvolvimento de defesas químicas pode interagir com os atributos funcionais foliares, considerando-se potenciais efeitos negativos no crescimento e desempenho da planta devido ao desvio de recursos para defesa (Pujol et al., 2005; Agrawal e Fishbein, 2006; Mondolot et al., 2008; Pujol et al., 2008). Sugere-se, aqui, que a seleção de determinadas características que favoreçam o crescimento mais rápido pode limitar a capacidade da planta em sobreviver sob condições limitantes de recursos.

Apesar da origem em ambientes sombreados, cultivares modernas de café (*Coffea arabica* L.) produzem mais ao sol que à sombra, especialmente quando o uso de

insumos, como água e particularmente N, é intensivo (DaMatta, 2004). Entretanto, o cafeeiro exibe taxas fotossintéticas muito baixas (tipicamente de 4 a 11 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), mesmo sob condições ótimas de cultivo (Silva et al., 2004). Em paralelo, os requerimentos de nitrogênio (N) são elevados, com teores médios da ordem de 3 a 4 % na massa seca foliar, resultando em baixa eficiência do uso do N (Araújo et al., 2008). Em ambientes sombreados, apesar de a taxa de fotossíntese ser menor devido a limitações fotoquímicas, a capacidade fotossintética potencial, medida sob luz e CO_2 saturantes, pouco difere ao compararem-se folhas de sol e de sombra, podendo alcançar valores superiores a 30 $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (DaMatta et al., 2007). Isso representaria, a princípio, uma alocação ineficiente de recursos sob condições nas quais, dificilmente, o cafeeiro poderá expressar seu desempenho fotossintético potencial. Registra-se, ainda, que o cafeeiro exibe concentrações elevadas de compostos do metabolismo secundário, tanto compostos ricos em C (e.g. fenóis – Salgado et al., 2008) como em N (e.g. alcalóides purínicos – Barros et al., 1994). Tais compostos têm sido normalmente associados com aumentos da capacidade de defesa não somente contra herbivoria, mas também contra a ocorrência de danos oxidativos, de modo a aumentar a capacidade de sobrevivência, ainda que em detrimento do crescimento (Close et al., 2003). Portanto, sugere-se aqui que, concomitantemente às baixas taxas fotossintéticas *in situ*, altas concentrações de N e de compostos secundários devem afetar sobretudo a economia do C, CCO e CMT em café. Contudo, nenhuma abordagem quantitativa até o presente foi feita para se examinar como a alocação de N e a composição química da folhagem impactam CCO e as taxas de crescimento dessa espécie.

Vários estudos têm sido conduzidos sobre os efeitos separados da disponibilidade de luz e de água sobre a ecofisiologia do café, mas muito pouco se conhece sobre os efeitos combinados desses fatores sobre a sua fisiologia. Neste trabalho, examinaram-se como fatores ambientes (e.g. luz e água) e endógenos (e.g. idade foliar) influenciam a alocação do N foliar, CCO e a composição química, procurando-se avaliar possíveis impactos sobre o crescimento. Especificamente, testou-se a hipótese de que fração significativa do N é alocada em processos não relacionados diretamente com a fotossíntese, e que isso pouco se alteraria em plantas à sombra ou a pleno sol. Foram também testadas as relações de dependência entre crescimento, CCO e CMT e composição química da folhagem, como forma de aumentar a compreensão da

significância ecofisiológica da aclimação do cafeeiro à disponibilidade de água e de luz.

3.2 Material & Métodos

3.2.1 Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°54'W, 650 m altitude), Minas Gerais. Estudou-se um único genótipo, visando-se analisar somente as variações ambientais, na ausência de potenciais fontes de confundimento (variações genéticas e variações associadas com as interações do genótipo com o ambiente). Utilizou-se de plantas de *Coffea arabica* L. cv 'Catuaí Vermelho IAC 44', propagadas por semente, cultivadas em vasos com capacidade de 30 litros. O substrato para o crescimento das plantas foi constituído de uma mistura de solo, esterco de curral curado e areia (4:1:1, v/v/v). A mistura foi adubada e teve o pH corrigido, de acordo com análise de solo e recomendações técnicas usuais para a cultura. Sessenta (60) mudas foram plantadas em fevereiro de 2009. Metade dessas mudas (30) foi cultivada a pleno sol (fenótipos de sol) e a outra metade (30) foi cultivada sob sombreamento, i.e. 15% da radiação solar, empregando-se, para tal, telas de poliolefinas (fenótipos de sombra). As plantas foram mantidas nessas condições por dez meses. Após a emissão do oitavo par de ramos plagiotrópicos, 10 plantas de cada fenótipo foram colhidas e caracterizadas morfológicamente. Os fenótipos de sol e de sombra apresentavam diferenças típicas de plantas de sol e de sombra, respectivamente, conforme Lambers et al. (2008), destacando-se que plantas do fenótipo de sombra apresentavam folhas maiores (área foliar unitária 25% superior), maior investimento de biomassa em estruturas da parte aérea (razão parte aérea/sistema radicular 53% maior) em relação as plantas do fenótipo de sol. Dos 20 indivíduos remanescentes do cultivo a pleno sol, metade (10) permaneceu a pleno sol, e a outra metade (10) foi transferida para ambiente sombreado (15% de radiação solar); os dois tratamentos lumínicos foram, então, combinados com dois níveis de água disponível no solo (déficit hídrico, DH, e capacidade de campo, CC, aqui definidos como sendo 30 e 100% de água disponível no solo, conforme descrito abaixo). O mesmo foi feito com os 20 indivíduos remanescentes do cultivo à sombra, i.e. metade (10) permaneceu à sombra, e a outra metade (10) foi transferida para pleno sol, combinando-se estes dois tratamentos com os dois níveis de água disponível no solo. Portanto, 40 plantas foram distribuídas em oito tratamentos (cinco plantas por

tratamento), em esquema fatorial 2x2x2 (dois fenótipos x dois níveis de irradiância x dois níveis de água disponível), impostos durante 120 dias, quando, então, as plantas foram colhidas. O experimento foi montado e analisado sob delineamento inteiramente casualizado. A unidade experimental foi composta por uma planta por recipiente de cultivo.

A água disponível (AD) foi calculada observando-se os valores de umidade volumétrica na curva de retenção de água no solo para CC (determinada na tensão de -0,010 MPa) e para o ponto de murcha permanente (PMP) (determinado na tensão de -1,5 MPa), utilizando-se da seguinte expressão: $AD = CC - PMP$. Previamente, o peso de todos os vasos foi padronizado. Posteriormente, procedeu-se à elevação do teor de umidade do substrato até atingir-se a CC, determinada pela curva de retenção, com posterior pesagem dos vasos. Uma vez estabelecido o peso dos vasos na CC e, considerando-se a quantidade de AD, foi estabelecido o peso dos vasos com 30% de AD. O estabelecimento e o controle dos níveis de umidade do substrato em cada tratamento foram realizados pelo acompanhamento do peso dos vasos. O ajuste do peso dos vasos foi feito quinzenalmente, devido ao incremento propiciado pelo crescimento das plantas.

Durante o período de cultivo das plantas, a temperatura média do ar foi de 25,7°C (média das máximas de 27,2°C e a média das mínimas de 16,8°C) e a umidade relativa média de 77,4%, medidas com sensores (LICOR, modelo LI-104) instalados em abrigo meteorológico no local do experimento. A radiação fotossinteticamente ativa, medidas com sensores (LICOR, modelo LI-190SB), foi de $19,02 \pm 1,58 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ para as plantas cultivadas a pleno sol e $2,91 \pm 0,25 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ para as plantas cultivadas sob sombreamento. Todos os sensores foram conectados a um sistema de aquisição de dados (LI-1400, LICOR, EUA), coletando-se os dados a cada minuto e armazenando-se o valor médio a cada 5 min.

3.2.2 Análise de crescimento

Após o período de imposição dos tratamentos (120 dias), realizou-se a última avaliação destrutiva; as raízes foram lavadas com água de torneira sobre uma peneira de 0,5 mm e, juntamente com os tecidos de caules e folhas, secas em estufa, a 70°C, até atingirem peso constante; posteriormente, o peso seco de folhas, caules e raízes foi obtido. A AFE foi calculada a partir da razão entre a área e o peso seco de 20 discos

foliares. Calculou-se a taxa de crescimento relativo (TCR) conforme o suplemento disponível em Hunt et al. (2002).

3.2.3 Composição química do tecido foliar

As análises químicas seguiram os procedimentos descritos em Poorter e Villar (1997), com algumas modificações. A composição química foi analisada em folhas com duas idades (folhas com 360 e 30 dias após a expansão completa, doravante designadas folhas velhas e novas, respectivamente). Para tal, oito folhas foram coletadas em nitrogênio líquido, liofilizadas, trituradas em moinho de bola, passadas em peneira de 0,80 mm e, posteriormente, secas novamente em estufa a 60°C, por 48 h. Todas as medições posteriores foram realizadas em duplicatas da amostra fracionada.

Em uma fração da amostra (10 mg), a concentração de C e N foi determinada com um analisador elementar (Carlo Erba, Milão, Itália), utilizando-se esta mesma fração para determinação da abundância relativa de ^{13}C e ^{12}C , determinada em espectrômetro de massa, conforme descrito em Pinheiro et al. (2005). A concentração de nitrato $[\text{NO}_3^-]$ foi determinada em uma segunda fração da amostra (100 mg), conforme Cataldo et al. (1975). A concentração de nitrogênio orgânico $[\text{N}_{\text{org}}]$ foi determinada subtraindo-se da concentração de nitrogênio total a $[\text{NO}_3^-]$. Uma terceira fração da amostra (200 mg) foi incinerada a 550°C em mufla, por 12 h, determinando-se a concentração de cinzas [CZ] por gravimetria. A concentração total de carbonatos foi determinada quantitativamente, transferindo-se as cinzas para um frasco *erlenmeyer* e determinando-se a sua alcalinidade (AC) adicionando-se HCl 0,05 N seguida de, titulação com NaOH 0,05 N, utilizando-se alaranjado de metila 0,1% com indicador de pH. A concentração (expressa em mEq g^{-1}) de ácidos orgânicos [AO] foi estimada conforme a equação: $[\text{AO}] (\text{mg g}^{-1}) = (\text{AC} - [\text{NO}_3^-]) \times 62$, em que 62 é o valor médio do peso de 1 Eq de ácidos orgânicos (Poorter e Villar, 1997). A concentração de minerais [MIN] foi determinada conforme a equação: $[\text{MIN}] (\text{mg g}^{-1}) = [\text{CZ}] - (\text{AC} \times 30) + [\text{NO}_3^-]$, em que [CZ] e $[\text{NO}_3^-]$ são expressos em mg g^{-1} do peso seco, e AC, em mEq g^{-1} ; 30 representa o peso de 1 Eq de carbonato.

Uma quarta fração da amostra (250 mg) foi utilizada para a determinação de lipídios (LIP), fenóis solúveis totais (FEN), açúcares solúveis totais (AST), amido (AMD), proteínas (PRO) totais, aminoácidos solúveis totais (AMN), lignina (LIG), celulose (CEL) e hemicelulose (HCE). Para isso, a cada amostra foram adicionados 4 mL

de uma mistura de metanol/clorofórmio (1:1) (Bligh e Dyer, 1959), mantidas sob agitação durante 30 min, seguida de centrifugação a 4000 g por 5 min. O sobrenadante foi coletado e, após a adição de 2 mL de água, sob agitação, a mistura foi centrifugada (4000 g, 5 min), separando-se a fase clorofórmio da fase metanol/água. A concentração de LIP foi determinada por gravimetria, após a evaporação do clorofórmio em estufa de circulação forçada a 60°C e pesagem do resíduo resultante, composto em grande parte por fosfolipídios, galactolipídios, bem como alguns esteróis e clorofilas (Poorter e Villar, 1997). A concentração de FEN foi determinada colorimetricamente (725 nm) no extrato da fase metanol/água, utilizando-se do reagente de Folin-Ciocalteu (1:1) e ácido tânico como padrão. A concentração de AMN foi determinada na fase metanol/água (DaMatta et al., 1999). No *pellet* resultante da extração metanol/clorofórmio (composto principalmente de CEL, HCE, LIG, proteínas da parede celular, proteínas que foram precipitadas durante a extração e amido) determinou-se a concentração de amido; para tal, aos tubos contendo o *pellet* foram adicionados 3 mL de HCl 3%, permanecendo por 3 h a 100°C, com o fim de quebrar o amido e, após centrifugação a 4000 g por 5 min, o sobrenadante foi coletado e os açúcares resultantes da hidrólise ácida, assim como os açúcares solúveis presentes no sobrenadante da fase metanol/água, foram determinados colorimetricamente (620 nm) usando-se o reagente de antrona (Fales, 1951). Tubos contendo concentração conhecida de amido foram submetidos aos mesmos procedimentos para que a concentração pudesse ser obtida mediante curva-padrão (utilizando-se glicose como padrão). O resíduo resultante após a hidrólise ácida foi considerado como sendo material de parede celular e proteínas, quantificados por gravimetria após secagem a 60°C, durante 24 h. O conteúdo de parede celular foi determinado subtraindo-se do peso do resíduo o conteúdo de proteínas. A concentração de proteínas foi determinada multiplicandose $[N_{org}]$ (cf. DaMatta et al. (1999)) presente no resíduo resultante após a hidrólise ácida por 6,25 (Merino et al., 1984).

O resíduo resultante após a hidrólise ácida e secagem a 60°C foi acondicionado em frascos de polietileno. Em seqüência, foram adicionados 80 mL de solução de detergente neutro (Mertens, 2002), omitindo-se o uso de sulfito de sódio e utilizando-se α -amilase termoestável (Termamyl 2X, Novozymes). Os frascos foram lacrados e autoclavados a 105°C, por 1 h. O material insolúvel foi retido por filtração sob vácuo em cadinhos (porosidade grossa) e submetido à lavagem seqüencial com água quente e acetona. O conteúdo de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foi quantificado após

a secagem do material em estufa não ventilada a 105°C, durante 16 h. Os cadinhos contendo FDN foram acondicionados em frascos de polietileno, sendo-lhes adicionados 80 mL de solução de detergente ácido (Van Soest e Robertson, 1985). A fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) foi obtida seguindo-se os procedimentos de autoclavagem, filtração, lavagem e secagem supradescritos. Os teores de HCE foram obtidos a partir da diferença entre os conteúdos de FDN e FDA. Cadinhos contendo a FDA foram acondicionados em frascos de polietileno, adicionando-se-lhes aproximadamente 5 mL de H₂SO₄ (12 M). O material foi homogeneizado, adicionando-se a seguir H₂SO₄ de forma a cobrir cerca da metade da altura útil dos cadinhos. O material permaneceu à temperatura ambiente por 3 h. Após este período, procedeu-se à filtração sob vácuo, lavagem com água destilada quente e secagem (105°C/16 h). O teor de CEL foi obtido a partir da diferença entre os conteúdos de FDA e do resíduo obtido após o tratamento com H₂SO₄. O resíduo insolúvel em H₂SO₄ dos cadinhos foi posteriormente incinerado (500°C/3 h), quantificando-se o resíduo mineral. A lignina foi quantificada como a perda de material orgânico durante a incineração. A concentração de carboidratos totais estruturais (CTE) foi obtida subtraindo-se do conteúdo de parede celular o conteúdo de lignina. A concentração de carboidratos totais não-estruturais (CTN) foi obtida somando-se os conteúdos de amido e de AST.

3.2.4 Custos de construção e de manutenção do tecido foliar

Em função da diversidade de metodologias usadas para estimar-se CCO e como forma de possibilitar uma comparação dos dados obtidos com os reportados por diversos autores (comparações de valores de CCO obtidos por diferentes métodos para uma mesma amostra pode variar em até 20% – Williams et al., 1987; Griffin, 1994), CCO foi aqui estimado via dois dos principais métodos disponíveis. Considerando-se a eficiência de crescimento das folhas, o calor de combustão e a concentração de nitrogênio e cinzas das folhas, calculou-se CCO (g de glicose g⁻¹) conforme a equação abaixo, proposta por Williams et al. (1987):

$$CCO_w = [(0,06968 \times Hc - 0,065) \times (1 - CZ) + (7,5 \times k \times N_{org}/14,0067)]/Eg$$

em que *Hc* é o calor de combustão (kJ g⁻¹), determinado via combustão completa de 500 mg do material vegetal (quinta fração) em bomba adiabática calorimétrica (Villar e Merino, 2001); *CZ* é a concentração de cinzas (g g⁻¹); *k* é o estado de oxidação da fonte de nitrogênio (+5 para nitrato ou -3 para amônio) – como a fonte de nitrogênio não era

única, foi utilizado o valor médio (+1); N_{org} é a concentração de nitrogênio orgânico foliar ($g\ g^{-1}$); Eg é a eficiência de crescimento do tecido foliar, sendo o valor utilizado neste estudo igual a 0,89 (Williams et al., 1987). Utilizando-se as concentrações foliares ($mg\ g^{-1}$) de C, N_{org} e MIN, CCO (g de glicose g^{-1}) também foi estimado segundo metodologia de Vertregt e Penning de Vries (1987) e modificada por Poorter (1994), conforme a equação:

$$CCO_P = (-1,041 + 5,077 \times C) \times (1 - MIN) \times (5,235 \times N_{org})$$

Foi explorada a sensibilidade do CCO foliar após alterações em cada uma das três variáveis independentes utilizadas em cada método (CCO_w: calor de combustão e concentração de nitrogênio orgânico e cinzas; CCO_p: concentração de carbono, nitrogênio orgânico e cinzas), mantendo-se as outras duas variáveis constantes, semelhantemente à abordagem de Griffin et al. (1996) e Villar e Merino (2001). Calculou-se o percentual de mudança em CCO foliar associada à variação de \pm dois desvios-padrão de cada uma das variáveis independentes, mantendo-se as duas outras variáveis constantes. O valor médio de cada variável, obtido a partir do conjunto de dados, foi usado como constante. A estimativa da contribuição de cada composto químico associada à diferença em CCO foi feita conforme Poorter e DeJong (1999).

Os custos de manutenção (CMT) por unidade de massa seca (g glicose g^{-1} MS dia^{-1}) foram determinados a partir das concentrações foliares de lipídios, proteínas e minerais, considerando-se os seguintes coeficientes de manutenção: 0,0425 (lipídios), 0,0405 (proteínas) e 0,008 (concentração iônica), conforme Merino et al. (1984). O CMT foi calculado pela soma do produto da multiplicação de cada coeficiente de manutenção pela concentração de cada composto correspondente, acrescentando-se os custos de manutenção da concentração iônica (Penning de Vries et al., 1974).

3.2.5 Partição do nitrogênio

As respostas da taxa de assimilação líquida do carbono (A) à concentração interna de CO_2 (curva A/C_i) foram determinadas com um analisador de gases a infravermelho (Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, EUA), a 25°C, sob 1000 μmol (fótons) $m^{-2}\ s^{-1}$, um valor saturante, mas não fotoinibitório, variando-se a pressão parcial de CO_2 , de 5 a 200 Pa (Long e Bernacchi, 2003). As curvas A/C_i também foram realizadas em folhas mortas (após fervura), a fim de se corrigir os valores de A e C_i , em função de vazamentos de

CO₂ da câmara de medição do analisador de gases, conforme Flexas et al. (2007). A partir dessas curvas, foram calculadas a taxa de carboxilação máxima ($V_{c\max}$), a taxa de carboxilação máxima limitada pelo transporte de elétrons (J_{\max}) e a taxa de respiração na presença de luz. Foram então estimadas as frações do N em Rubisco (P_r), proteínas da cadeia de transporte de elétrons (P_b) e pigmentos envolvidos na captura de luz (P_l), de acordo com as equações de Niinemets e Tenhunen (1997):

$$P_r = \frac{V_{c\max}}{6,25 \times 20,5 \times \left(\frac{1}{AFE}\right) \times N_m}$$

em que 6,25 g Rubisco (g N em Rubisco)⁻¹ é um fator para converter o conteúdo de N em proteína; 20,5 μmol CO₂ (g Rubisco)⁻¹ s⁻¹ é a atividade específica da Rubisco; AFE é a área foliar específica; e N_m é o teor de N total em base de massa.

$$P_b = \frac{J_{\max}}{8,06 \times 156 \times \left(\frac{1}{AFE}\right) \times N_m}$$

em que 8,06 μmol citocromo *f* (g N em componentes de transporte de elétrons)⁻¹ é um fator de conversão; e 156 mol elétrons (mol citocromo *f*)⁻¹ s⁻¹ o fator de atividade do transporte de elétrons por unidade de citocromo *f*.

$$P_l = \frac{C_m}{N_m \times C_B}$$

em que C_m é a concentração de clorofilas totais, e C_B a média ponderada da quantidade de clorofila por quantidade de nitrogênio que há nos fotossistemas (FSII e FSI) e nas antenas do FSII (LHC II). A concentração de cada complexo enzimático por unidade de área e a proporção de clorofila em cada complexo enzimático em relação à concentração total foram calculadas de acordo com Hikosaka e Terashima (1995). A fração do N em componentes estruturais (P_s) foi determinada conforme equação abaixo:

$$P_s = 100 - P_r - P_b - P_l$$

3.2.6 Análises estatísticas

Os dados foram analisados via análise de variância (ANOVA) e, para o estudo das relações entre as variáveis, utilizou-se da técnica de correlação linear de Pearson (r) e

da análise de componentes principais, utilizando-se do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas da UFV (SAEG, versão 9.1).

3.3 Resultados

O principal fator responsável por diferenças em CCO foi a variação da disponibilidade de luz (Tabela 1). Os valores dos CCO_W variaram entre 1,162 g glicose g^{-1} (folhas do fenótipo de sombra, à sombra sob DH) e 1,416 g glicose g^{-1} (folhas do fenótipo de sol, a pleno sol sob CC) (Tabela 2). Estes valores, no geral, foram inferiores (10%) aos valores de CCO_P . A variação da disponibilidade hídrica explicou somente uma pequena proporção da variação dos CCO (2% no máximo). No geral, folhas expandidas a pleno sol apresentaram CCO_W (1,367 g glicose g^{-1}) 12% superior ao das folhas expandidas à sombra (1,223 g glicose g^{-1}). Considerando-se CCO_P , folhas expandidas a pleno sol apresentaram CCO_P (1,501 g glicose g^{-1}) 11% superior ao das folhas expandidas à sombra (1,354 g glicose g^{-1}) (Tabela 2). As variações dos CMT foram explicadas principalmente pela idade foliar; nas folhas velhas, CMT (14,7 mg glicose $g^{-1} \text{ dia}^{-1}$) foi 8% superior ao das folhas novas (13,6 mg glicose $g^{-1} \text{ dia}^{-1}$), independentemente do fenótipo e da disponibilidade de água e luz. A $\delta^{13}C$ aumentou (1,67‰) com a imposição do DH a pleno sol ($\delta^{13}C_{CC} = -24,59\text{‰}$; $\delta^{13}C_{DH} = -22,92\text{‰}$), contudo houve redução (0,72‰) em $\delta^{13}C$ quando o DH foi imposto à sombra ($\delta^{13}C_{CC} = -26,33\text{‰}$; $\delta^{13}C_{DH} = -27,05\text{‰}$). Em relação ao fator luz, $\delta^{13}C$ foi menor em folhas expandidas à sombra, com redução de 1,74‰ e 4,13‰ em relação às folhas expandidas a pleno sol, quando a expansão ocorreu sob CC e DH, respectivamente (Tabela 2).

A área foliar específica foi 25% superior em folhas expandidas à sombra em relação às expandidas a pleno sol, enquanto TCR foi maior nas plantas a pleno sol, independentemente do fenótipo e do regime hídrico (Tabela 2). Registra-se, também, que a abscisão foliar ocorreu aos 394 ± 14 dias após a completa expansão do limbo nas plantas ao sol; à sombra, as folhas marcadas tinham 420 dias após a expansão quando da última coleta destrutiva, sem qualquer sinal evidente de senescência, resultando portanto em maior longevidade foliar em relação à das folhas ao sol (dados não mostrados).

Tabela 1: Porcentagem da variância (soma de quadrados do fator/soma de quadrados total) explicada pelos fatores: água ($n=2$), idade foliar ($n=2$), luz ($n = 2$) e a interação entre esses fatores, em variáveis morfológicas e fisiológicas de plantas de *C. arabica*, provenientes de dois fenótipos distintos (sol e sombra), de acordo com a análise de variância (ANOVA) de três fatores. A variabilidade dos dados em relação à média é representada pelo coeficiente de variação (CV). R^2 é a proporção da variância total explicada pelo modelo.

Variáveis	Fenótipo de sol									Fenótipo de sombra								
	Água	Idade	Luz	AxF	AxL	FxL	AxFxL	R^2	CV	Água	Idade	Luz	AxF	AxL	FxL	AxFxL	R^2	CV
LIP	1 ^{ns}	73 ^{***}	1 ^{ns}	2 ^{ns}	1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	1 ^{ns}	78	8,1	8 [*]	46 ^{***}	9 ^{**}	1 ^{ns}	4 ^{ns}	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	67	7,3
LIG	13 ^{ns}	12 ^{ns}	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	27	27,0	< 1 ^{ns}	9 ^{ns}	6 ^{ns}	2 ^{ns}	1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	5 ^{ns}	23	31,8
FEN	< 1 ^{ns}	18 ^{***}	48 ^{***}	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	19 ^{***}	1 ^{ns}	86	13,8	4 [*]	24 ^{***}	32 ^{***}	< 1 ^{ns}	1 ^{ns}	19 ^{***}	< 1 ^{ns}	81	25,2
PRO	3 ^{ns}	24 ^{***}	8 [*]	1 ^{ns}	5 ^{ns}	< 1 ^{ns}	2 ^{ns}	44	12,1	4 ^{ns}	< 1 ^{ns}	22 ^{**}	5 ^{ns}	1 ^{ns}	5 ^{ns}	< 1 ^{ns}	37	14,9
CEL	1 ^{ns}	4 ^{ns}	45 ^{***}	< 1 ^{ns}	5 [*]	10 [*]	< 1 ^{ns}	65	18,9	< 1 ^{ns}	1 ^{ns}	40 ^{***}	6 [*]	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	19 ^{**}	67	14,4
HCE	1 ^{ns}	27 ^{***}	37 ^{***}	1 ^{ns}	1 ^{ns}	19 ^{***}	< 1 ^{ns}	86	7,4	< 1 ^{ns}	16 ^{***}	33 ^{***}	< 1 ^{ns}	8 [*]	1 ^{ns}	2 ^{ns}	61	10,3
AMD	45 ^{***}	9 ^{***}	7 ^{***}	8 ^{***}	6 ^{***}	3 [*]	5 [*]	84	16,7	43 ^{***}	5 [*]	< 1 ^{ns}	8 [*]	< 1 ^{ns}	8 [*]	< 1 ^{ns}	65	23,3
AST	10 ^{***}	5 ^{***}	72 ^{***}	2 [*]	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	1 ^{ns}	90	18,0	11 ^{***}	< 1 ^{ns}	35 ^{***}	7 ^{**}	21 ^{***}	1 ^{ns}	1 ^{ns}	75	29,3
AO	12 ^{**}	6 [*]	14 ^{**}	4 ^{ns}	4 ^{ns}	16 ^{***}	3 ^{ns}	60	11,8	6 [*]	41 ^{***}	7 [*]	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	15 ^{***}	1 ^{ns}	70	10,9
MIN	5 ^{**}	< 1 ^{ns}	71 ^{***}	3 [*]	< 1 ^{ns}	2 ^{ns}	< 1 ^{ns}	82	13,1	1 ^{ns}	26 ^{***}	26 ^{***}	1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	4 ^{ns}	< 1 ^{ns}	58	17,6
AMN	7 ^{**}	58 ^{***}	< 1 ^{ns}	5 ^{**}	1 ^{ns}	11 ^{***}	1 ^{ns}	82	20,3	10 ^{**}	3 ^{ns}	38 ^{***}	10 ^{**}	3 ^{ns}	1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	66	15,5
N	11 ^{***}	20 ^{***}	50 ^{***}	< 1 ^{ns}	4 ^{**}	2 [*]	1 ^{ns}	88	4,5	11 ^{**}	16 ^{***}	2 ^{ns}	4 ^{ns}	22 ^{***}	8 ^{**}	3 ^{ns}	66	6,8
C	< 1 ^{ns}	42 ^{***}	27 ^{***}	1 ^{ns}	7 ^{***}	12 ^{***}	< 1 ^{ns}	88	1,0	< 1 ^{ns}	1 ^{ns}	64 ^{***}	1 ^{ns}	9 ^{**}	3 [*]	< 1 ^{ns}	78	1,3
C:N	12 ^{***}	7 ^{***}	62 ^{***}	< 1 ^{ns}	9 ^{***}	< 1 ^{ns}	1 ^{ns}	91	3,9	11 [*]	12 ^{**}	2 ^{ns}	2n ^s	16 ^{**}	5 ^{ns}	1 ^{ns}	49	8,3
$\delta^{13}C$	18 ^{***}	8 ^{***}	44 ^{***}	2 ^{**}	3 ^{**}	10 ^{***}	< 1 ^{ns}	86	2,7	25 ^{***}	6 ^{**}	18 ^{***}	1 ^{ns}	17 ^{***}	13 ^{***}	1 ^{ns}	81	2,6
H_c	< 1 ^{ns}	40 ^{***}	16 ^{***}	< 1 ^{ns}	7 ^{**}	7 ^{**}	3 ^{ns}	72	3,0	2 ^{ns}	< 1 ^{ns}	82 ^{***}	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	85	2,5
CCO _W	< 1 ^{ns}	35 ^{***}	24 ^{***}	< 1 ^{ns}	4 ^{**}	9 ^{**}	3 [*]	76	3,3	2 [*]	4 ^{**}	79 ^{***}	1 ^{ns}	1 ^{ns}	1 ^{ns}	1 ^{ns}	88	2,6
CCO _P	2 [*]	53 ^{***}	15 ^{***}	1 ^{ns}	3 ^{**}	14 ^{***}	< 1 ^{ns}	87	1,9	1 ^{ns}	9 ^{***}	56 ^{***}	1 ^{ns}	12 ^{***}	7 ^{***}	< 1 ^{ns}	85	2,2
CMT	1 ^{ns}	70 ^{***}	< 1 ^{ns}	2 ^{ns}	3 ^{ns}	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	76	3,1	10 ^{**}	23 ^{***}	25 ^{***}	1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	59	3,4
AFE	< 1 ^{ns}	< 1 ^{ns}	49 ^{***}	15 ^{***}	1 ^{ns}	1 ^{ns}	14 ^{***}	81	4,6	< 1 ^{ns}	7 ^{**}	52 ^{***}	< 1 ^{ns}	6 [*]	6 [*]	1 ^{ns}	72	5,1
TCR	23 ^{***}	-	55 ^{***}	-	11 ^{***}	-	-	89	11,7	5 ^{ns}	-	59 ^{***}	-	< 1 ^{ns}	-	-	63	21,6

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ e ^{ns} $P > 0,05$. Ácidos orgânicos, AO; açúcares solúveis totais, AST; amido, AMD; aminoácidos, AMN; calor de combustão, H_c ; celulose, CEL; fenóis solúveis totais, FEN; hemicelulose, HCE; lignina, LIG; lipídios, LIP; proteínas, PRO; minerais, MIN; carbono, C; nitrogênio, N; relação entre a concentração de carbono e nitrogênio, C:N; composição isotópica de carbono, $\delta^{13}C$; custos de construção, CCO_W [método proposto por Willians et al., (1987)] e CCO_P [método proposto por Vertregt e Penning de Vries (1987) e modificado por Poorter (1994)], custos de manutenção, CMT; área foliar específica, AFE; taxa de crescimento relativo, TCR.

O conjunto de dados apresentou pequena variação dos CCO, independentemente do método (C.V. \cong 2,5%), acompanhada de pequenas variações em H_c e [C] (C.V. \cong 2,0%) (Tabela 1). Assim, as variações apresentadas pelo conjunto de dados pode ser perfeitamente representada pela análise de sensibilidade (Anexos; Figuras 6, 7 e 8), em que se permite destacar a importância de H_c e [C] na determinação dos CCO. Analizando-se as alterações em CCO_w , a variação (\pm dois desvios-padrão) de H_c causou aumento de 21% em CCO_w ; entretanto, o aumento da [CZ] foi associado com redução de 6% dos CCO_w , enquanto [N] apresentou efeito negligenciável, causando somente 1% de aumento dos CCO_w . Ademais, CCO_w correlacionou-se positivamente com H_c ($r = 0,98$) e negativamente com [CZ] ($r = -0,69$), enquanto [N] não se correlacionou significativamente com CCO_w . A variação da [C] e [N] causou aumento de 18% e 7% dos CCO_p , respectivamente, ao passo que a variação da [MIN] reduziu em 4% os CCO_p . Semelhantemente, CCO_p correlacionou-se significativamente com [C] ($r = 0,98$, $P < 0,0001$) e [N] ($r = 0,53$), e negativamente com [MIN] ($r = -0,64$) (Anexos).

A análise dos constituintes químicos do tecido foliar foi considerada, uma vez que H_c e [C] são altamente dependentes da composição química. Similarmente aos CCO, o principal fator responsável por diferenças na composição química, de forma geral, foi a luz. O fator água somente explicou a maior proporção da variação total da concentração de AMD. Para o fenótipo de sol, uma proporção significativa da variância de LIP, PRO, AMN, C, H_c , CCO_w , CCO_p , CMT e AFE é explicada pelo fator idade foliar, enquanto no fenótipo de sombra esse fator explica grande parte da variação em LIP, FEN, HCE, AO, MIN, N, $\delta^{13}C$ e CMT (Tabela 1). Contudo, a maior parte dessas variações é reflexo da diferença de disponibilidade de luz durante a formação do tecido foliar, antes da aplicação dos tratamentos, com exceção da concentração de LIP, que foi 25% maior nas folhas velhas em relação às novas, independentemente do regime hídrico ou da disponibilidade de luz (Figuras 1A e 1B).

Considerando-se que as folhas expandidas ao sol e posteriormente expostas à sombra não mostraram variação da concentração de LIP, em relação às folhas expandidas à sombra e posteriormente expostas a pleno sol, sugere-se que grande parte daquele aumento seja reflexo puramente da idade foliar. Nas folhas velhas expandidas e mantidas sob sombreamento, a concentração de LIP foi menor (2%) em relação às folhas velhas expandidas e mantidas a pleno sol.

Tabela 2: Médias ($n = 5$) dos custos de construção determinado conforme método proposto por Willians et al. (1987) (CCO_w , g glicose g^{-1}) e segundo metodologia proposta por Vertregt e Penning de Vries (1987) e modificada por Poorter (1994) (CCO_p , g glicose g^{-1}), custos de manutenção total (CMT, mg glicose $g^{-1} dia^{-1}$), calor de combustão (H_c , kJ g^{-1}) concentração de carbono (C, mg g^{-1}), concentração de minerais (Minerais, mg g^{-1}), área foliar específica (AFE, $m^2 kg^{-1}$), composição isotópica de carbono ($\delta^{13}C$, ‰) em folhas com diferentes idades ontogenéticas (folhas com 360 dias; folhas com 30 dias) e taxa de crescimento relativo (TCR, mg $g^{-1} d^{-1}$) de plantas de *C. arabica* L. provenientes de dois fenótipos (**fenótipo de sol** e **fenótipo de sombra**) submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [**sol** (100% da luz solar direta) e **sombra** (15% da luz solar direta)] e água [**capacidade de campo** (CC; 100% da água disponível) e **déficit hídrico** (DH; 30% da água disponível)].

Variáveis	Idade foliar (dias)	Fenótipo de sol				Fenótipo de sombra			
		Sol		Sombra		Sol		Sombra	
		DH	CC	DH	CC	DH	CC	DH	CC
CCO_w	360	1,366 ^{aA}	1,416 ^{aA*}	1,396 ^{aA*}	1,322 ^{bB*}	1,321 ^{aA}	1,318 ^{aA*}	1,162 ^{aB}	1,197 ^{aB}
	30	1,344 ^{aA}	1,342 ^{aA}	1,218 ^{aB}	1,209 ^{aB}	1,343 ^{aA}	1,380 ^{aA}	1,176 ^{aB}	1,214 ^{aB}
CCO_p	360	1,517 ^{aA}	1,539 ^{aA*}	1,545 ^{aA*}	1,508 ^{bA*}	1,412 ^{aA*}	1,372 ^{aA*}	1,300 ^{aB}	1,344 ^{aA}
	30	1,486 ^{aA}	1,471 ^{aA}	1,401 ^{aB}	1,346 ^{bB}	1,510 ^{aA}	1,432 ^{bA}	1,311 ^{bB}	1,343 ^{aB}
CMT	360	14,9 ^{aA*}	14,7 ^{aA*}	14,7 ^{aA*}	15,1 ^{aA*}	14,8 ^{aA*}	14,6 ^{aA*}	14,4 ^{aA}	14,0 ^{aA}
	30	13,8 ^{aA}	13,1 ^{bA}	13,6 ^{aA}	13,4 ^{aA}	14,4 ^{aA}	14,0 ^{bA}	13,8 ^{aB}	13,2 ^{aB}
H_c	360	19,07 ^{aA}	19,78 ^{aA*}	19,66 ^{aA*}	19,07 ^{bB*}	18,72 ^{aA}	19,00 ^{aA}	16,95 ^{aB}	17,35 ^{aB}
	30	18,63 ^{aA}	18,84 ^{aA}	17,52 ^{aB}	18,86 ^{bA}	17,38 ^{aA}	19,21 ^{aA}	17,00 ^{aB}	17,37 ^{aB}
C	360	471,02 ^{bA}	481,16 ^{aA*}	474,78 ^{aA*}	468,78 ^{aB*}	458,62 ^{aA*}	453,84 ^{aA}	438,44 ^{aA}	446,14 ^{aA}
	30	466,58 ^{aA}	470,06 ^{aA}	450,50 ^{aB}	443,22 ^{bB}	467,38 ^{aA}	458,76 ^{bA}	438,32 ^{aA}	443,48 ^{aB}
Minerais	360	32,09 ^{aB*}	30,66 ^{aB}	44,87 ^{aA}	47,86 ^{aA}	45,62 ^{aA*}	45,62 ^{aA*}	52,08 ^{aA}	51,45 ^{aA}
	30	24,86 ^{bB}	33,78 ^{aB}	46,58 ^{bA}	54,42 ^{aA}	33,84 ^{aB}	27,13 ^{aB}	46,41 ^{aA}	43,92 ^{aA}
AFE	360	10,63 ^{aA}	10,98 ^{aA}	10,48 ^{aA*}	10,49 ^{aA*}	13,51 ^{aB*}	13,35 ^{aB*}	14,24 ^{aA}	14,86 ^{aA}
	30	10,85 ^{aB}	10,88 ^{aB}	11,58 ^{bA}	12,84 ^{aA}	11,63 ^{aB}	11,89 ^{aB}	14,12 ^{aA}	14,90 ^{aA}
$\delta^{13}C$	360	-22,80 ^{aA}	-24,29 ^{bA}	-24,50 ^{aB*}	-24,80 ^{aA*}	-26,68 ^{aA*}	-26,17 ^{aA*}	-27,76 ^{bB}	-25,99 ^{aA}
	30	-22,28 ^{aA}	-24,65 ^{bA}	-25,96 ^{aB}	-27,12 ^{bB}	-23,68 ^{aA}	-24,82 ^{bA}	-27,32 ^{bB}	-25,88 ^{aB}
TCR		6,88 ^{bA}	10,46 ^{aA}	5,04 ^{aB}	5,69 ^{aB}	8,19 ^{aA}	8,92 ^{aA}	4,61 ^{aB}	5,76 ^{aB}

Para a mesma variável, dentro de cada fenótipo, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem significativamente entre os regimes hídricos para um mesmo nível de luz e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes entre as condições de luz dentro de um mesmo regime hídrico. Asterisco representa diferença significativa entre idade foliar considerando-se um mesmo regime hídrico e nível de luz. As médias foram comparadas entre si pelo teste F ($P < 0,05$).

Os fatores analisados explicaram uma pequena proporção da variação total da concentração de LIG (23% e 27% da variação total para plantas do fenótipo de sol e sombra, respectivamente) e PRO (37% e 44% da variação total para plantas do fenótipo de sol e sombra, respectivamente) (Tabela 1), sem diferenças entre os tratamentos. Em média, as concentrações de LIG (Figuras 1E e 1F) e de PRO (Figuras 1G e 1H) foram de cerca de 6% da massa seca foliar. Folhas expandidas a pleno sol apresentaram, em média, 8% de FEN, 9% de CEL, 11% de HCE, 5% de AST, 0,5% de AMN, 6% de AO e 3% de MIN, valores substancialmente maiores aos das folhas expandidas à sombra (3% de FEN, 12% de CEL, 15% de HCE, 2% de AST, 0,4% de AMN, 8% de AO e 5% de MIN) (Figuras 1C e 1D; Figuras 2A, 2B, 2C, 2D, 2G e 2H; Figuras 3A, 3B, 3C e 3D; Tabela 2). A concentração de AMD em folhas expandidas sob CC foi de aproximadamente 8% da massa seca, valor 60% superior ao encontrado em folhas que se expandiram sob DH (5%) (Figuras 2E e 2F). Independentemente dos tratamentos, [N] foliar por unidade de massa foi superior a 30 g kg⁻¹, com [NO₃⁻] negligenciáveis, de modo que a maior proporção do N esteve presente na forma N_{org}. Entretanto, a proporção de N_{org} alocada em proteínas foi relativamente baixa, variando de 22 a 35%, com média de 26,7% nas folhas novas e 28,6%, nas folhas velhas. No geral, mais de 70% do N_{org} esteve alocado em compostos não protéicos. A partição do N investido em Rubisco e em componentes envolvidos no transporte de elétrons também pouco diferiu entre os tratamentos; porém, maior fração do N_{org} alocado em componentes envolvidos na captura de luz foi observada nas plantas à sombra em relação às plantas ao sol (Tabela 4).

Houve correlação forte e positiva de H_c e [C] com a concentração de FEN, AMD, AST e AMN. Registre-se que, entre os constituintes químicos do tecido foliar, FEN apresentou melhor associação com CCO_W ($r = 0,83$) e CCO_P ($r = 0,89$). A concentração de FEN (uma classe de compostos de maior custo energético) foi negativamente correlacionada com a concentração de CEL ($r = -0,73$), HCE ($r = -0,92$), AO ($r = -0,84$) e MIN ($r = -0,77$), que possuem baixo custo energético. O aumento da concentração de FEN foi relacionado com aumento em $\delta^{13}C$ ($r = 0,84$), sem haver relação significativa com o aumento da concentração de PRO ($r = 0,15$) e LIP ($r = 0,26$) e, portanto, com CMT ($r = 0,25$). Destaca-se, ainda, que CCO, assim como FEN, correlacionaram-se negativamente

Tabela 3: Correlações lineares de Pearson entre os valores médios da composição química (ácidos orgânicos, AO; açúcares solúveis totais, AST; amido, AMD; aminoácidos, AMN; celulose, CEL; fenóis solúveis totais, FEN; hemicelulose, HCE; lignina, LIG; lipídios, LIP; proteínas, PRO; minerais, MIN; carbono, C; nitrogênio N; relação entre a concentração de carbono e nitrogênio, C:N; composição isotópica de carbono, $\delta^{13}\text{C}$), calor de combustão, H_c ; custos de construção [método proposto por Willians et al. (1987), CCO_w ; metodologia proposta por Vertregt e Penning de Vries (1987) e modificada por Poorter (1994), CCO_p] e custos de manutenção total (CMT) do tecido foliar, área foliar específica (AFE) e taxa de crescimento relativo (TCR) de plantas de *C. arabica* L. cultivadas sob condições contrastantes de luz e disponibilidade hídrica.

	LIG	FEN	PRO	CEL	HCE	AMD	AST	AO	MIN	AMN	N	C	C:N	$\delta^{13}\text{C}$	H_c	CCO_w	CCO_p	CMT	AFE	TCR	
LIP	0,19 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,52*	-0,35 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	-0,45*	0,29 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,64**	0,18 ^{ns}	0,44*	-0,03 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,52*	0,43*	0,40 ^{ns}	0,94***	-0,37 ^{ns}	0,09 ^{ns}	
LIG		0,19 ^{ns}	0,15 ^{ns}	-0,57*	-0,08 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,29 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,20 ^{ns}	-0,30 ^{ns}	0,12 ^{ns}	
FEN			0,15 ^{ns}	-0,76***	-0,92***	-0,10 ^{ns}	0,62**	-0,84***	-0,77***	0,61**	0,32 ^{ns}	0,89***	-0,06 ^{ns}	0,84***	0,73***	0,83***	0,89***	0,25 ^{ns}	-0,79***	0,45*	
PRO				-0,21 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,55*	-0,12 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,50*	0,56*	0,32 ^{ns}	-0,47*	0,21 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,77***	-0,35 ^{ns}	0,01 ^{ns}	
CEL					0,73***	0,07 ^{ns}	-0,60**	0,56*	0,65**	-0,47*	-0,15 ^{ns}	-0,78***	-0,10 ^{ns}	-0,75***	-0,71**	-0,73***	-0,75***	-0,34 ^{ns}	0,59**	-0,55*	
HCE						-0,06 ^{ns}	-0,76***	0,74***	0,79***	-0,63**	-0,17 ^{ns}	-0,83***	-0,10 ^{ns}	-0,74***	-0,79***	-0,86***	-0,81***	-0,37 ^{ns}	0,74***	-0,55*	
AMD							0,40 ^{ns}	-0,23 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,49*	-0,01 ^{ns}	0,55*	-0,07 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,55*	0,11 ^{ns}	0,52*	
AST								-0,46*	-0,74***	0,19 ^{ns}	-0,43 ^{ns}	0,59**	0,65**	0,44*	0,67**	0,69**	0,46*	0,17 ^{ns}	-0,44*	0,81***	
AO									0,59**	-0,42 ^{ns}	-0,40 ^{ns}	-0,70**	0,21 ^{ns}	-0,74***	-0,52*	-0,65**	-0,74***	0,05 ^{ns}	0,73***	-0,33 ^{ns}	
MIN										-0,28 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,66**	-0,29 ^{ns}	0,81***	-0,63**	-0,74***	-0,64**	-0,02 ^{ns}	0,44*	-0,64**	
AMN											0,60**	0,69**	-0,40 ^{ns}	0,53*	0,67**	0,68**	0,74***	0,67**	-0,61**	0,04 ^{ns}	
N												0,36 ^{ns}	-0,94***	0,37 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,53*	0,35 ^{ns}	-0,54*	-0,42 ^{ns}	
C														-0,06 ^{ns}	0,79***	0,91***	0,98***	0,45*	-0,79***	0,58**	
C:N															0,12 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,65**	
$\delta^{13}\text{C}$															0,62**	0,74***	0,83***	0,17 ^{ns}	-0,62**	0,35 ^{ns}	
H_c																0,98***	0,83***	0,54*	-0,65**	0,69**	
CCO_w																	0,91***	0,45*	-0,70**	0,67**	
CCO_p																		0,45*	-0,82***	0,44*	
CMT																			-0,41 ^{ns}	0,07 ^{ns}	
AFE																					-0,26 ^{ns}

^{ns} $P > 0,05$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$.

com AFE [CCO_W ($r = -0,70$); CCO_P ($r = -0,82$); FEN ($r = -0,79$)], porém positivamente com TCR [CCO_W ($r = 0,67$); CCO_P ($r = 0,44$); FEN ($r = 0,45$)]. A AFE foi positivamente correlacionada com a concentração de CEL ($r = 0,59$), HCE ($r = 0,74$); AO ($r = 0,73$) e MIN ($r = 0,44$) (Tabela 4).

Dois componentes da análise de componentes principais explicaram 72% da variação total dos dados. Três grupos diferentes de variáveis foram observados: (i) TCR, AST, FEN, $\delta^{13}C$, CCO_W , C e CCO_P ; (ii) AFE, CEL, HCE, AO e MIN, e; (iii) CMT, PRO, AMN, N e LIP, enquanto AMD e LIG não foram correlacionados com outras variáveis (Figura 4). Dentro de cada grupo, as variáveis associaram-se entre si forte e positivamente, porém negativamente entre os grupos.

Considerando-se que a maior proporção da variação dos CCO foi explicada pelo fator luz, e que aproximadamente 85% da massa seca foliar foram recuperados na análise da composição química (dados não mostrados), a análise da contribuição de cada componente na variação de CCO foi feita somente para o fator luz, utilizando-se da metodologia proposta por Willians et al. (1987) (Figura 5). Independentemente da idade foliar ou da disponibilidade hídrica, diferenças em FEN explicaram 57% da diferença dos CCO entre folhas com 360 dias após a expansão submetidas a variação da disponibilidade de luz sob CC (Figura 5A), com 87% da diferença entre folhas com 30 dias após a expansão submetidas a variação da disponibilidade de luz sob CC (Figura 5B), com 55% da diferença entre folhas com 360 dias após a expansão submetidas a variação da disponibilidade de luz sob DH (Figura 5C) e, com 67% da diferença entre folhas com 30 dias após a expansão submetidas a variação da disponibilidade de luz sob DH (Figura 5D). As diferenças em CCO em folhas com 360 dias após a expansão submetidas à variação da disponibilidade de luz sob CC foram também explicadas pela variação nas concentrações de MIN (~16%) e LIP (23%). A concentração de AST variou largamente em folhas de sol em relação às de sombra, mas não contribuíram significativamente para explicar as diferenças em CCO (Figura 5).

3.4 Discussão

Os CCO do tecido foliar ora apresentados situam-se dentro do intervalo publicado (1,1 a 1,9 g glicose g^{-1}) para folhas de diferentes espécies (vide Introdução). Apesar da falta de variação significativa em CCO de folhas expandidas em diferentes condições hídricas, observou-se variação altamente significativa para folhas expandidas sob

diferentes disponibilidades de luz, sendo 12% maior a pleno sol que à sombra. Esta diferença é muito superior à encontrada em diferentes espécies por Poorter et al. (2006), que relataram CCOs entre 1 e 5% maiores em folhas ao sol que em folhas de sombra, sendo os maiores custos associados com maior acúmulo de FEN, conforme aqui também demonstrado. Diferentemente de vários estudos (e.g. Poorter et al., 2006; Villar et al., 2006), em que se verificam correlações negativas entre compostos de alto e baixo custo energético, o quê, em tese, tamponaria variações em CCO, neste estudo, não se observou correlação negativa entre FEN (composto de elevado custo energético) com CEL, HCE, AO e MIN (compostos de baixo custo energético), como também não houve correlação significativa entre FEN e outros compostos de elevado custo energético (LIP, Pro e LIG), o que pode explicar as grandes diferenças em CCO entre folhas expandidas a pleno sol em relação a folhas expandidas sob sombreamento. Ademais, concentrações de outros compostos cuja síntese demanda grande quantidade de energia (e.g. alcalóides) são elevadas em café (Barros et al., 1994), e podem aumentar com o aumento da irradiância (Frischknecht e Baumann, 1985), de modo a aumentar ainda mais CCO das folhas expandidas ao sol.

A partição do N entre as frações envolvidas em carboxilação (P_r) e bioenergética (P_b) não variou entre os fenótipos de sol e sombra, à semelhança dos resultados obtidos por Katahata et al. (2007) e Niinemets et al. (1998) ao estudarem a aclimação a diferentes irradiâncias em várias espécies, com alterações insignificantes em relação à disponibilidade hídrica e à idade foliar. Apesar de a teoria de otimização de recursos prever aumentos em P_r e P_b para aumentar a eficiência do uso da luz em altas irradiâncias, o cafeeiro segue o comportamento geralmente observado em plantas lenhosas, em que a aclimação à luz é governada, principalmente, por alterações em AFE e, em menor extensão, pela partição do N (Niinemets et al., 1998; Evans e Poorter, 2001). Em todo o caso, é importante salientar que, em concordância com a hipótese deste estudo, a maior proporção do N (>70%) foi alocada em compostos não associados à fotossíntese e, portanto, uma baixa eficiência fotossintética do uso do N se torna implícita, independentemente da disponibilidade de luz e de água. Considerando-se que (i) concentrações foliares de N inferiores a $27 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$ caem na zona de deficiência desse elemento em café (Morais 1981); (ii) há uma relação quase linear entre taxa de fotossíntese líquida e concentração foliar de N (DaMatta et al., 2002); (iii) grandes conteúdos de N são alocados em compostos do metabolismo secundário ricos em N,

como cafeína e trigonelina (Barros et al., 1994) – o teor de cafeína, por exemplo, pode alcançar $25 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$ (Mazzafera, 1999), imobilizando cerca de $7 \text{ g N kg}^{-1} \text{ MS}$, e; (v) é improvável que tais compostos representem uma forma de estoque de N (Barros et al., 1994); pode-se sugerir que a partição de N para rotas metabólicas outras que a fotossíntese possa ter precedência em café. Coletivamente, essas informações suportam os altos requerimentos em N pelo café e a sua baixa eficiência do uso desse elemento.

Tanto em espécies lenhosas (e.g. Villar et al., 2006) como em espécies herbáceas (e.g. Poorter e Bergkotte, 1992), a variação interespecífica na composição química tem sido relacionada com TCR. Em ambos os estudos, TCR foi positivamente correlacionada com a concentração de AO, MIN e PRO, mas não com a concentração de outros compostos químicos, tais como FEN, LIG, alcalóides e terpenos, que estariam mais relacionados com a sobrevivência (Granado e Caballero, 2001). Usualmente, tem-se proposto a existência de respostas dicotômicas entre o investimento energético para compostos associados diretamente com o crescimento e com a defesa (Herms e Mattson, 1992). As relações entre os compostos químicos e TCR encontradas neste estudo não comprovam essa proposição. Aqui, maior TCR foi positivamente associada com maior concentração de FEN, que, por seu turno, foi correlacionada negativamente com AFE (maior proteção contra herbivoria). À primeira vista, correlação positiva entre concentração de FEN e TCR foi relatada até o presente em apenas dois estudos: Hanley e Lamont (2002) avaliando 14 espécies do gênero *Hakea*, e por Almeida-Cortez et al. (1999) investigando 31 espécies herbáceas de Asteraceae. Maior concentração de FEN, além de contribuir para as defesas da planta contra estresses bióticos, pode também contribuir significativamente para proteção contra o excesso de energia (Close et al., 2003; Wilhelm e Selmar, 2011) e danos associados à radiação UV-B (Li et al., 1993). Vários estudos demonstram que o cafeeiro, apesar de sua origem em ambientes de sombra, é bem protegido contra danos fotoinibitórios e fotooxidativos (Chaves et al., 2008; Moraes et al., 2010; Pompelli et al., 2010), e a alta concentração de FEN, conforme observada nas plantas ao sol, pode ter um papel de destaque nesse contexto. Coletivamente, essas informações sugerem que a capacidade da planta de aumentar o seu potencial de defesa sem comprometer o crescimento pode ser uma estratégia para que a espécie, originalmente de sombra, possa crescer e produzir mais a pleno sol que à sombra. Nesse contexto, o aumento da capacidade de defesa contra estresses levaria ao aumento da capacidade de crescimento em ambientes potencialmente estressantes.

Tabela 4: Partição do nitrogênio (N) em folhas com diferentes idades (folhas com 360 dias; folhas com 30 dias) de plantas de *Coffea arabica* L. provenientes de dois fenótipos (**fenótipo de sol** e **fenótipo de sombra**) submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [**sol** (100% da luz solar direta) e **sombra** (15% da luz solar direta)] e água [**capacidade de campo** (CC; 100% da água disponível) e **déficit hídrico** (DH; 30% da água disponível)]. Concentração de N total (N_{total} ; g kg⁻¹), concentração de N na forma nítrica (N_{nit} ; g kg⁻¹), concentração de N na forma orgânica (N_{org} ; g kg⁻¹), fração do N_{org} alocado em proteínas ($N_{org(P)}$; %), fração do N_{org} alocado compostos não protéicos ($N_{org(NP)}$; %), fração do N_{org} alocado em componentes envolvidos na captura de luz (P_l ; %), fração do N_{org} alocado em proteínas envolvidas no transporte de elétrons (P_b ; %), fração do N_{org} alocado em Rubisco (P_r ; %) e fração do N_{org} alocado em componentes estruturais (P_s ; %). Os dados são média ± erro padrão ($n = 5$).

Variáveis	Idade foliar (dias)	Fenótipo de sol				Fenótipo de sombra			
		Sol		Sombra		Sol		Sombra	
		DH	CC	DH	CC	DH	CC	DH	CC
N_{total}	360	37,85 ± 0,56	31,07 ± 1,00	43,34 ± 1,38	39,74 ± 1,82	30,56 ± 0,74	30,91 ± 2,35	30,12 ± 0,82	33,90 ± 2,01
	30	35,25 ± 1,49	32,56 ± 1,55	34,24 ± 1,36	34,12 ± 1,42	36,20 ± 1,12	33,56 ± 2,44	31,36 ± 1,07	34,18 ± 1,16
N_{nit}	360	0,12 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,72 ± 0,06	0,63 ± 0,09	0,29 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,97 ± 0,07	0,50 ± 0,06
	30	0,11 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,92 ± 0,16	0,56 ± 0,13	0,16 ± 0,02	0,21 ± 0,03	0,68 ± 0,05	0,34 ± 0,05
N_{org}	360	37,74 ± 0,57	30,86 ± 0,99	42,62 ± 1,41	39,11 ± 1,85	30,27 ± 0,73	30,70 ± 2,36	29,15 ± 0,83	33,39 ± 2,05
	30	35,14 ± 1,48	32,39 ± 1,56	33,31 ± 1,23	33,55 ± 1,46	36,04 ± 1,12	33,35 ± 2,46	30,69 ± 1,02	33,84 ± 1,13
$N_{org(P)}$	360	24,7 ± 0,8	28,8 ± 0,9	22,7 ± 1,3	25,9 ± 1,5	34,7 ± 1,2	31,7 ± 3,7	29,6 ± 1,2	30,3 ± 2,2
	30	21,9 ± 1,9	23,3 ± 1,1	27,6 ± 2,1	33,7 ± 3,3	24,1 ± 2,3	29,3 ± 3,2	28,7 ± 2,2	25,3 ± 2,3
$N_{org(NP)}$	360	75,3 ± 0,8	71,2 ± 0,9	77,3 ± 1,3	74,1 ± 1,5	65,3 ± 1,2	68,3 ± 3,7	70,4 ± 1,2	69,7 ± 2,2
	30	78,1 ± 1,9	76,7 ± 1,1	72,4 ± 2,1	66,3 ± 3,3	75,9 ± 2,3	70,7 ± 3,2	71,3 ± 2,2	74,7 ± 2,3
P_l	360	8,5 ± 0,2	11,6 ± 0,3	8,7 ± 0,6	8,5 ± 0,2	13,8 ± 0,9	12,7 ± 1,6	15,4 ± 1,1	16,8 ± 1,7
	30	10,7 ± 0,3	11,5 ± 1,1	11,3 ± 0,6	10,9 ± 0,5	11,0 ± 0,6	9,6 ± 0,7	16,2 ± 0,9	13,9 ± 0,2
P_b	360	2,6 ± 0,1	3,2 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,9 ± 0,1	2,9 ± 0,2	3,2 ± 0,1	2,9 ± 0,2
	30	3,1 ± 0,2	3,5 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	3,3 ± 0,1	3,4 ± 0,2	3,0 ± 0,1	2,8 ± 0,1
P_r	360	18,3 ± 0,5	22,7 ± 0,8	16,9 ± 1,0	15,9 ± 0,6	21,9 ± 0,6	21,8 ± 1,4	24,0 ± 0,5	22,2 ± 1,6
	30	22,1 ± 1,1	24,3 ± 1,7	17,1 ± 0,7	18,9 ± 0,7	22,9 ± 0,7	23,6 ± 1,5	22,6 ± 0,9	21,7 ± 0,8
P_s	360	70,6 ± 0,6	62,5 ± 1,2	71,9 ± 1,3	73,4 ± 0,7	61,4 ± 1,6	62,7 ± 3,0	57,4 ± 1,5	58,0 ± 3,4
	30	64,1 ± 1,5	60,7 ± 3,0	69,3 ± 1,2	67,8 ± 0,9	62,9 ± 1,3	63,5 ± 1,8	58,2 ± 1,7	61,6 ± 1,1

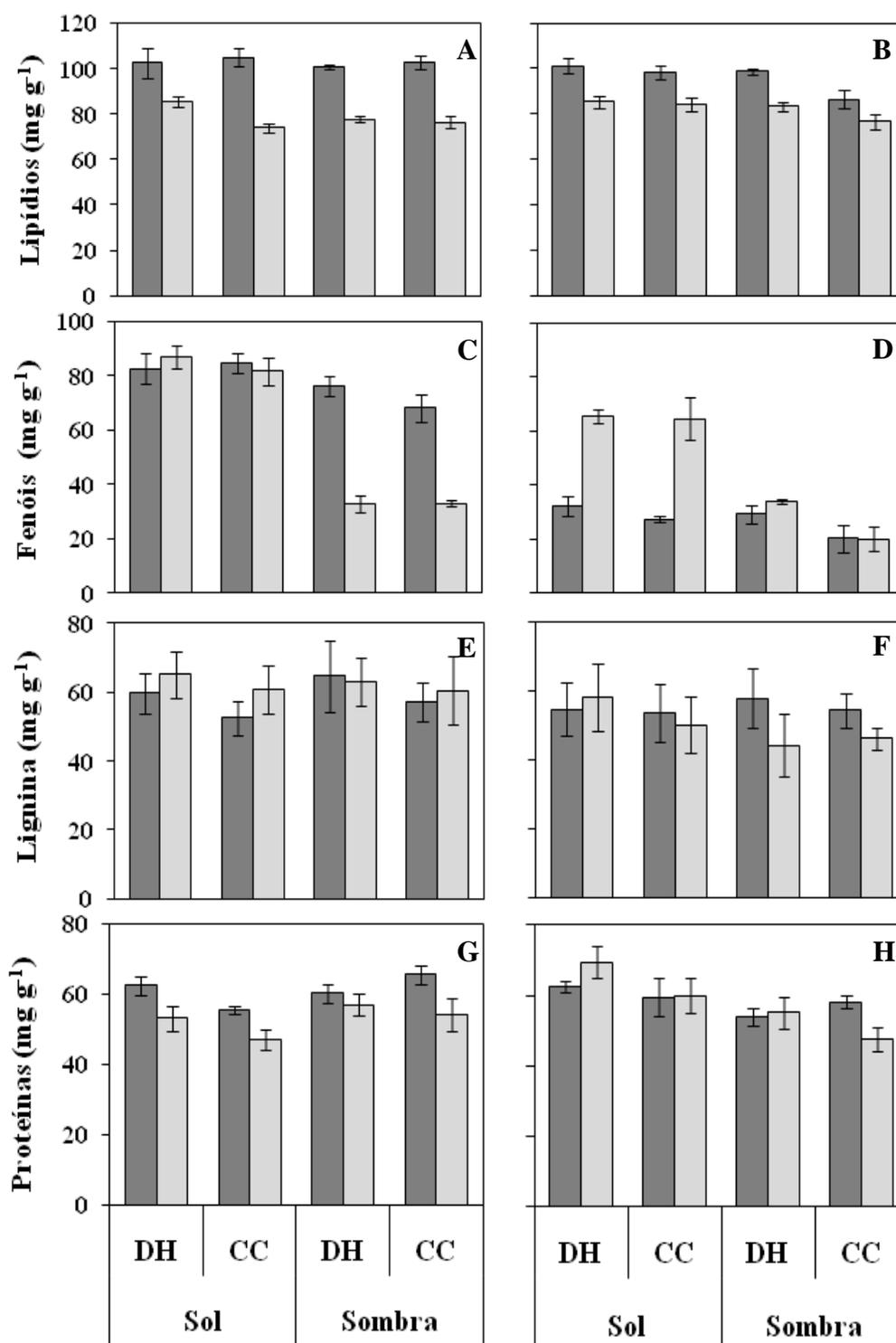


Figura 1: Composição química [lipídios (A e B), fenóis solúveis totais (C e D), lignina (E e F), proteínas (G e H)] em folhas de *C. arabica* com diferentes idades (barras cinza escuro, folhas com 360 dias; barras cinza claro, folhas com 30 dias) provenientes de plantas de dois fenótipos (fenótipo de sol, A, C, E e G; fenótipo de sombra, B, D, F e H) submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 30% da água disponível)]. Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$) e foram expressos em uma base de massa seca.

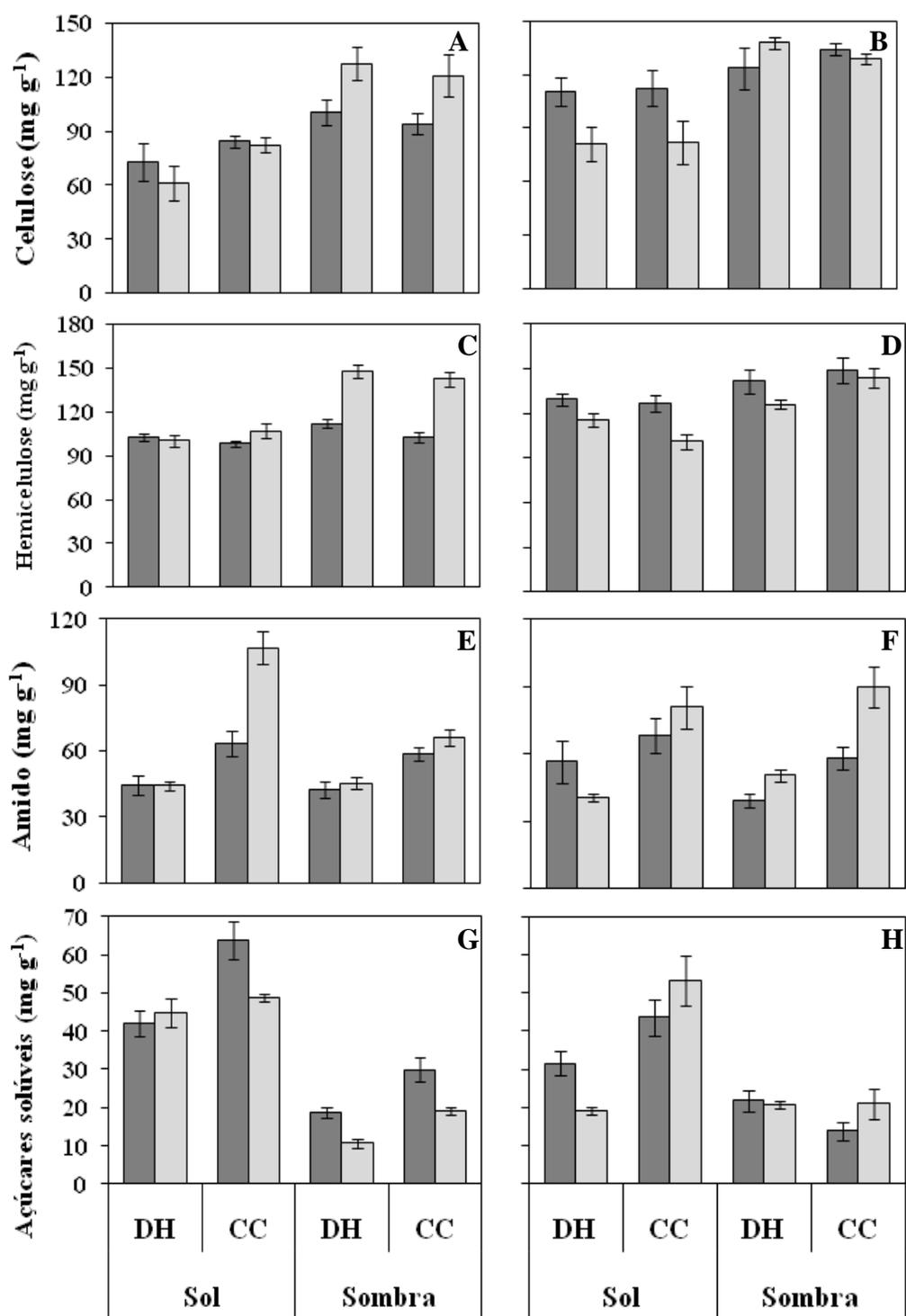


Figura 2: Composição química [celulose (A e B), hemicelulose (C e D), amido (E e F), açúcares solúveis (G e H)] em folhas de *C. arabica* com diferentes idades ontogenéticas (barras cinza escuro, folhas com 360 dias; barras cinza claro, folhas com 30 dias) provenientes de plantas de dois fenótipos (fenótipo de sol, A, C, E e G; fenótipo de sombra, B, D, F e H) submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 30% da água disponível)]. Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$) e foram expressos em uma base de massa seca.

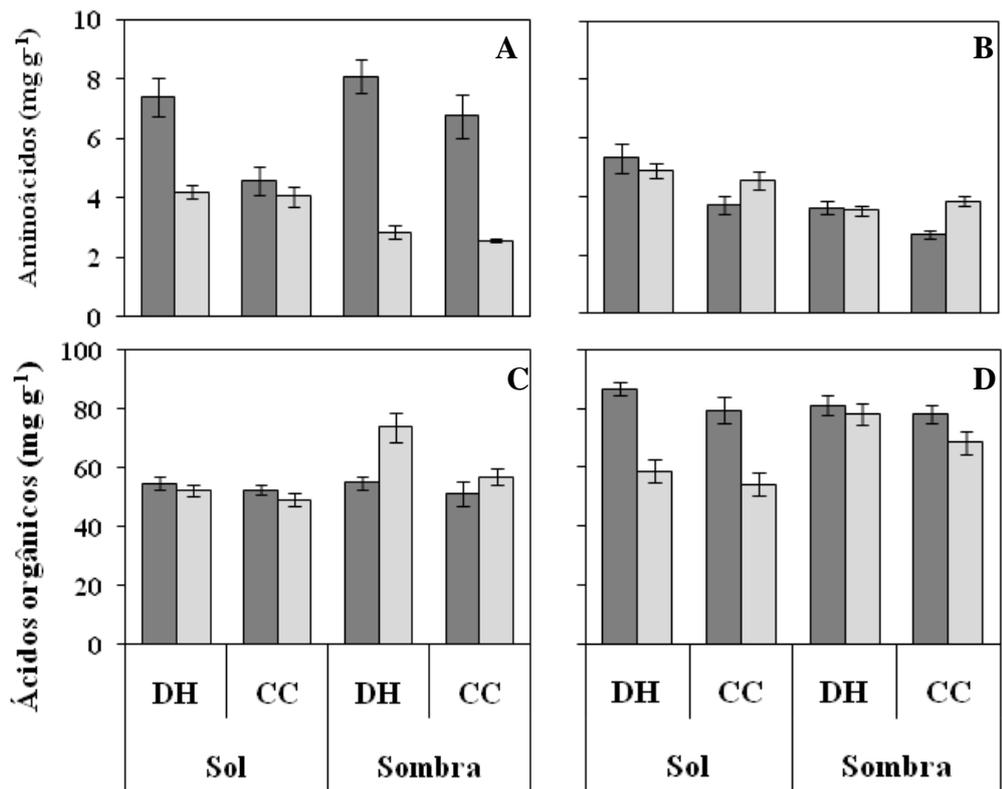


Figura 3: Composição química [aminoácidos (A e B), ácidos orgânicos (C e D em folhas de *C. arabica* com diferentes idades ontogenéticas (barras cinza escuro, folhas com 360 dias; barras cinza claro, folhas com 30 dias) provenientes de plantas de dois fenótipos (fenótipo de sol, A e C; fenótipo de sombra, B e D) submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 30% da água disponível)]. Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$) e foram expressos em uma base de massa seca.

Folhas expandidas a pleno sol exibiram maior CCO e mesma proporção de N alocada para Rubisco, mas, em função de sua menor longevidade, teriam um menor período útil em termos de fixação de C em relação às folhas expandidas à sombra. Folhas mais longevas têm sido frequentemente associadas com maiores CCOs (Merino, 1987; Sobrado, 1991; Villar e Merino 2001) e com maior capacidade fotossintética integrada ao longo do período útil de sua vida (Wright et al., 2004), de forma que, apesar de serem mais custosas e com menor capacidade fotossintética instantânea, poderiam compensar seus altos CCOs mediante um maior período produtivo, permitindo otimizar o uso de recursos em condições adversas, particularmente quando recursos ambientes (e.g. água, luz ou nutrientes) se tornam escassos (Aerts, 1995). Essas proposições não se confirmam

em café; de fato, a análise dos componentes principais sugere que CCO está diretamente associado com TCR e, portanto, folhas com maior CCO possuem maior ganho de C, de forma que os custos necessários para a construção do tecido foliar seriam mais rapidamente amortizados. Isso sugere que a longevidade foliar, no cafeeiro, estaria mais intimamente relacionada com o ganho de carbono que com CCO *per se*. Com efeito, considerando-se a abordagem de Poorter et al. (2006), o tempo estimado para uma folha expandida ao sol, independentemente do regime hídrico, “pagar” seus CCOs (tempo de retorno) seria de cerca de 11 dias, contra cerca de 38 dias para uma folha expandida à sombra, nas condições deste experimento (dados não mostrados). Maior TCR no cafeeiro, crescendo sob diferentes disponibilidades de água e de luz, pode ser obtida em plantas com folhas com (i) maior CCO em função de maior concentração de FEN, relacionado com defesa contra estresses; (ii) com menor concentração de CEL e HCE, que proporcionam menor AFE e, conseqüentemente, maiores taxas fotossintéticas por unidade de área e eficiência do uso da água (Nobel, 1991; Aranda et al., 2007), a julgar-se pela correlação negativa entre AFE e $\delta^{13}\text{C}$, e; (iii) com menor CMT, contribuindo, juntamente com maiores taxas fotossintéticas, para um balanço de C mais favorável, i.e. maior concentração de AMD e AST como forma de custear possíveis estratégias para contornar períodos de limitação de recursos e manutenção do crescimento.

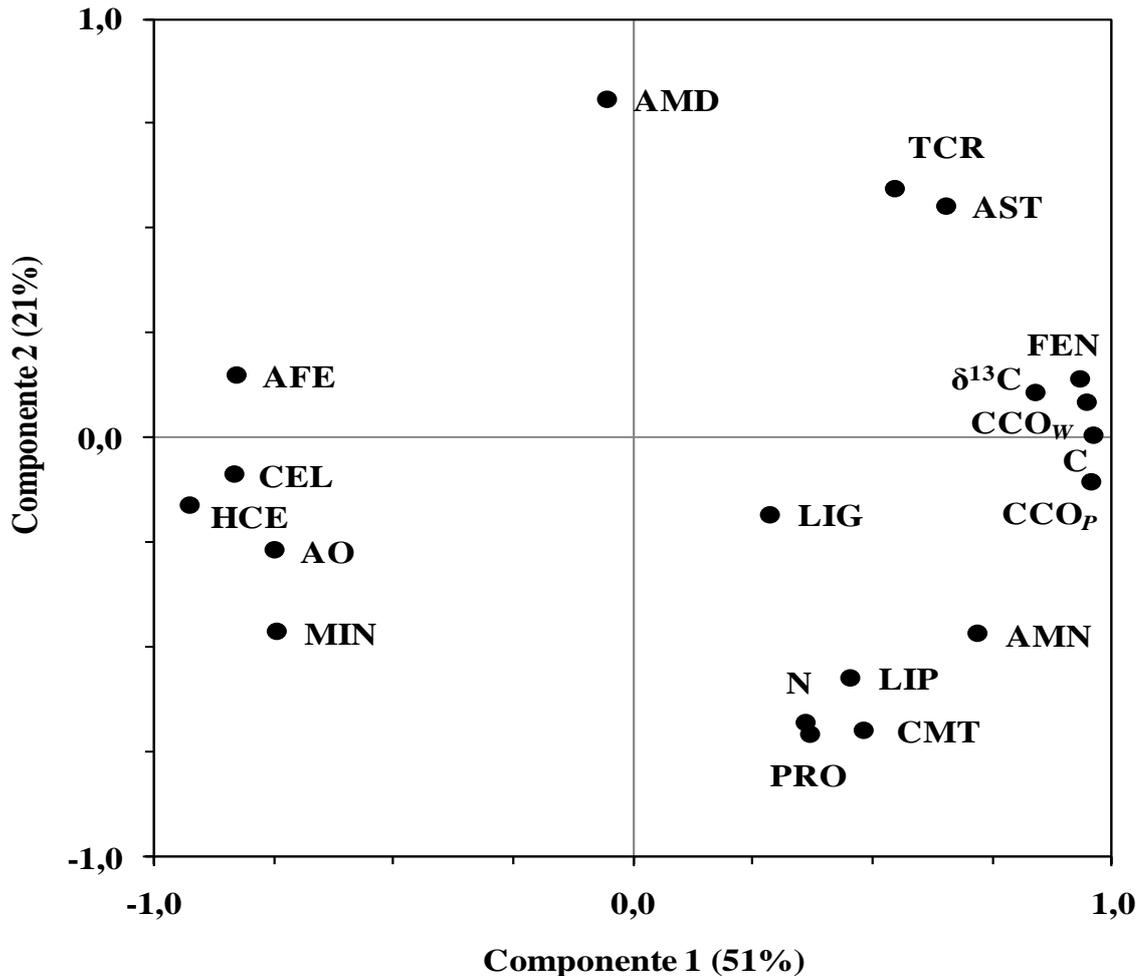


Figura 4: Análise de componentes principais para diferentes compostos químicos (ácidos orgânicos, AO; açúcares solúveis totais, AST; amido, AMD; aminoácidos, AMN; celulose, CEL; fenóis solúveis totais, FEN; hemicelulose, HCE; lignina, LIG; lipídios, LIP; proteínas, PRO; minerais, MIN), concentração (C) e composição isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), concentração de nitrogênio (N), custos de construção determinado conforme método proposto por Willians et al., (1987) (CCO_w) e segundo metodologia proposta por Vertregt e Penning de Vries (1987) e modificada por Poorter (1994) (CCO_p) e custos de manutenção total (CMT) de folhas, área foliar específica (AFE) e taxa de crescimento relativo (TCR) de plantas de dois fenótipos (**fenótipo de sol** e **fenótipo de sombra**) de *Coffea arabica* submetidas a combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [irrigado (IR; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 30% da água disponível)].

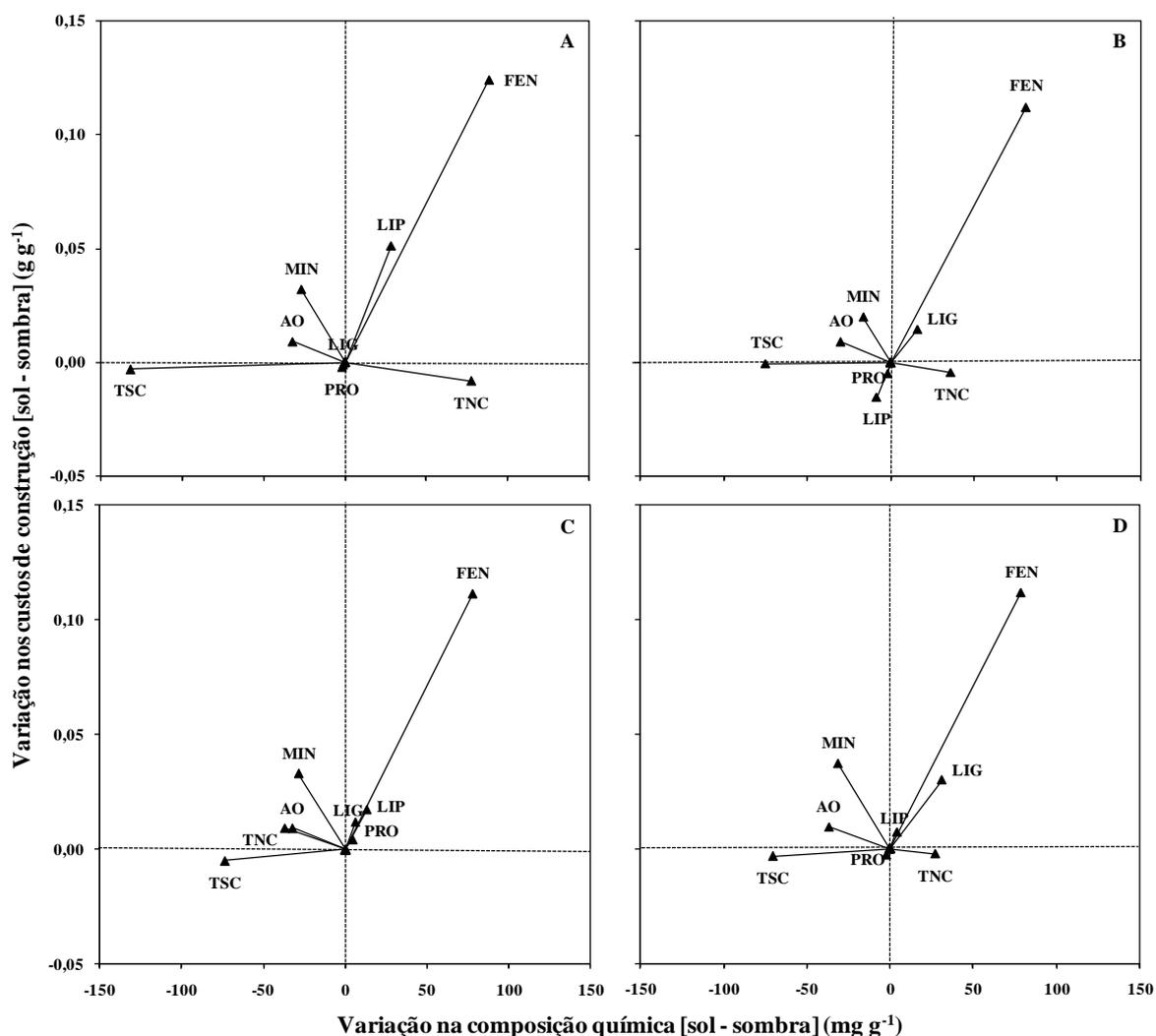


Figura 5: Efeito das diferenças entre as classes de compostos químicos (ácidos orgânicos, AO; carboidratos totais estruturais, TSC; carboidratos totais não-estruturais, TNC; fenóis solúveis totais, FEN; lignina, LIG; lipídios, LIP; proteínas, PRO; minerais, MIN), sobre a alteração nos custos de construção em folhas de *Coffea arabica* L. com duas idades ontogenéticas (folhas com 360 e 30 dias após a expansão completa) submetidas a condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] combinadas com diferentes disponibilidade hídrica [**capacidade de campo** (CC; 100% da água disponível) e **déficit hídrico** (DH; 30% da água disponível)]: (A) folhas velhas expandidas em diferentes disponibilidade de luz sob CC ($CCO_{sol} = 1,416$ g glicose g^{-1} e $CCO_{sombra} = 1,197$ g glicose g^{-1}); (B) folhas novas expandidas em diferentes disponibilidade de luz sob CC ($CCO_{sol} = 1,342$ g glicose g^{-1} e $CCO_{sombra} = 1,214$ g glicose g^{-1}); (C) folhas velhas expandidas em diferentes disponibilidade de luz sob DH ($CCO_{sol} = 1,366$ g glicose g^{-1} e $CCO_{sombra} = 1,162$ g glicose g^{-1}); (D) folhas novas expandidas em diferentes disponibilidade de luz sob DH ($CCO_{sol} = 1,344$ g glicose g^{-1} e $CCO_{sombra} = 1,176$ g glicose g^{-1}).

3.5 Referências

- Aerts R** (1995) The advantages of being evergreen. *Trends in Ecology and Evolution* **10**: 402-415.
- Almeida-Cortez JS, Shipley B, Arnason JT** (1999) Do plant species with high relative growth rates have poorer chemical defenses? *Functional Ecology* **13**: 819-827.
- Agrawal AA, M Fishbein** (2006) Plant defense syndromes. *Ecology* **87**: S132–S149.
- Aranda I, Pardos M, Puértolas J, Jiménez MD, Pardos JA** (2007) Water-use efficiency in cork oak (*Quercus suber*) is modified by the interaction of water and light availabilities *Tree Physiology* **27**: 671-677.
- Araújo WL, Dias PC, Moraes GABK, Celin EF, Cunha RL, Barros RS, DaMatta FM** (2008) Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. *Plant Physiology and Biochemistry* **46**: 884-890.
- Barros RS, Maestri M, Rena A** (1994) Purine alkaloids in *Coffea*. *Journal of Coffee Research* **24**: 55-86.
- Bligh EG, Dyer WJ** (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37**: 911-917.
- Boudet A** (2007) Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry* **68**: 2722-2735.
- Cataldo DA, Aaron M, Schrader LE, Youngs V** (1975) Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **6**: 71-80.
- Coley PD** (1988) Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defence. *Oecologia* **74**: 531-536.
- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS III** (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* **230**: 895-899.
- Chapin FS III** (1989) The cost of tundra plant structures: Evaluation of concepts and currencies. *American Naturalist* **133**: 1-19.
- Chaves ARM, Ten-Caten A, Pinheiro HA, Ribeiro A, DaMatta FM** (2008) Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. *Trees* **22**:351-361.
- Close D, McArthur C, Paterson S, Fitzgerald H, Walsh A, Kincade T** (2003) Photoinhibition: a link between effects of the environment on eucalypt leaf chemistry and herbivory. *Ecology* **84**: 2952-2966.
- DaMatta FM** (2004) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research* **86**: 99-114.
- DaMatta FM, Amaral JAT, Rena AB** (1999) Growth periodicity in trees of *Coffea arabica* L. in relation to nitrogen supply and nitrate reductase activity. *Field Crops Research* **60**: 223-229.
- DaMatta FM, Loos RA, Silva EA, Loureiro ME** (2002) Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. *Journal of Plant Physiology* **159**: 975-981

- DaMatta FM, Ronchi CP, Maestri M, Barros RS** (2007) Ecophysiology of coffee growth and production. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **19**: 485-510.
- Evans JR, Poorter H** (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell and Environment* **24**: 755-767.
- Fales FW** (1951) The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. *Journal of Biological Chemistry* **193**: 113-124.
- Flexas J, Dias-Espejo A, Berry JA, Cifre J, Galmés J, Kaldenhoff R, Medrano H, Ribas-Carbó M** (2007) Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization. *Journal of Experimental Botany* **58**: 1533-1543.
- Frischknecht PM, Baumann TW** (1985) Stress induced formation of purine alkaloids in plant tissue culture of *Coffea arabica*. *Phytochemistry* **24**: 2255-2257.
- Granado I, Caballero P** (2001) Feeding rates of *Littorina striata* and *Osilinus atratus* in relation to nutritional quality and chemical defenses of seaweeds. *Marine Biology* **138**: 1213-1224.
- Griffin KL** (1994) Calorimetric estimates of construction cost and their use in ecological studies. *Functional Ecology* **8**: 551-562.
- Griffin KL, Winner WE, Strain BR** (1996) Construction cost of loblolly and ponderosa pine leaves grown with varying carbon and nitrogen availability. *Plant, Cell and Environment* **19**: 729-738.
- Hanley ME, Lamont BB** (2002) Relationships between physical and chemical attributes of congeneric seedlings: how important is seedling defence? *Functional Ecology* **16**: 216-222.
- Herms DA, Mattson WJ** (1992) The dilemma of plants – to grow or defend. *Quarterly Review of Biology* **67**: 478-478.
- Hikosaka K, Terashima I** (1995) A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C₃ plants to sun and shade with respect to nitrogen use. *Plant, Cell and Environment* **18**: 605-618.
- Hunt R, Causton DR, Shipley B, Askew AP** (2002) A modern tool for classical plant growth analysis. *Annals of Botany* **90**: 485-488.
- Katahata S, Naramoto M, Kakubari Y, Mukai Y** (2007) Photosynthetic capacity and nitrogen partitioning in foliage of the evergreen shrub *Daphniphyllum humile* along a natural light gradient. *Tree Physiology* **27**: 199-208.
- Lambers H, Chapin FS, Pons TL** (2008) *Plant physiological ecology*. New York, Springer-Verlag.
- Li J, Ou-Lee YM, Raba R, Amundson RG, Last RL** (1993) Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *The Plant Cell* **5**: 171-179.
- Long SP, Bernacchi CJ** (2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* **54**: 2393-2401.

- Mazzafera P** (1999) Mineral nutrition and caffeine content in coffee leaves. *Bragantia* **58**: 387-391.
- Martinez F, Lazo YO, Fernandez-Galiano RM, Merino JA** (2002) Chemical composition and construction cost for roots of Mediterranean trees, shrub species and grassland communities. *Plant, Cell and Environment* **25**: 601-608.
- Merino JA** (1987) The costs of growing and maintaining leaves of Mediterranean plants. In: Tenhunen JD, Catarino FM, Lange DL, Oechel WC, eds. *Plant response to stress*. Berlin, Springer-Verlag, pp. 553-564.
- Merino JA, Field CB, Mooney HA** (1984) Construction and maintenance costs of mediterranean-climate evergreen and deciduous leaves. II. Biochemical pathway analysis. *Acta Oecologica* **5**: 211-229.
- Mertens DR** (2002) Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International*, **85**: 1217-1240.
- Mondolot L, Amandine Marlas A, Barbeau D, Gargadennec A, Pujol B, McKey D** (2008) Domestication and defence: Foliar tannins and C/N ratios in cassava and a close wild relative. *Acta Oecologica* **34**: 147-154.
- Moraes FRP** (1981) Adubação do cafeeiro: macronutrientes e adubação orgânica. In: Malavolta E, Yamada T, Guidolin JA, eds. *Nutrição e adubação do cafeeiro*. Piracicaba, Instituto Internacional da Potassa, pp.77-89.
- Moraes GABK, Chaves ARM, Martins SCV, Barros RS, DaMatta FM** (2010) Why is it better to produce coffee seedlings in full sunlight than in the shade? A morphophysiological approach. *Photosynthetica* **48**: 199-207.
- Niinemets Ü, Kull O, Tenhunen JD** (1998) An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, and light interception in temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Tree Physiology* **18**: 681-696
- Niinemets Ü, Tenhunen JD** (1997) A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. *Plant, Cell and Environment* **20**:845-866.
- Nobel PS** (1999) *Physicochemical and environmental plant physiology*. San Diego, Academic Press.
- Penning de Vries FWT, Brunsting AHM, van Laar HH** (1974) Products, requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. *Journal of Theoretical Biology* **45**: 339-377.
- Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves ARM, Loureiro ME, Ducatti C** (2005) Drought tolerance is associated with root depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. *Annals of Botany* **96**: 101-108.
- Poorter H** (1994) Construction costs and payback time of biomass: a whole plant approach. In: Roy J, Garnier J, eds. *A whole plant perspective on carbon-nitrogen interactions*. Leiden, Backhuys Publishers, pp. 111-127.
- Poorter H, Bergkotte M** (1992) Chemical composition of 24 wild species differing in relative growth rate. *Plant, Cell and Environment* **15**: 221-229.

- Poorter H, DeJong R** (1999) A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction cost of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist* **143**: 163-176.
- Poorter H, Villar R** (1997) The fate of acquired carbon in plants: Chemical composition and construction costs. In: Bazzaz FA, Grace J, eds. *Resource allocation in plants*. San Diego, Academic Press, pp. 39-72.
- Poorter H, Pepin S, Rijkers T, DeJong Y, Evans JR, Körner C** (2006) Construction costs, chemical composition and payback time of high- and low-irradiance leaves. *Journal of Experimental Botany* **57**: 355-371.
- Poorter H, Van Berkel Y, Baxter R, Den Hertog J, Dijkstra P, Gifford RM, Griffin KL, Roumet C, Roy J, Wong SC** (1997) The effect of elevated CO₂ on the chemical composition and construction costs of leaves of 27 C₃ species. *Plant, Cell and Environment* **20**: 472-482.
- Pompelli MF, Martins SCV, Antunes WC, Chaves ARM, DaMatta FM** (2010) Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. *Journal of Plant Physiology* **167**: 1052-1060
- Pujol B, Mühlen G, Garwood N, Horoszowski Y, Douzery EJP, McKey D** (2005) Evolution under domestication: contrasting functional morphology of seedlings in domesticated cassava and its closest wild relatives. *New Phytologist* **166**: 305-318.
- Pujol B, Salager JL, Beltran M, Bousquet S, McKey** (2008) Photosynthesis and leaf structure in domesticated cassava (Euphorbiaceae) and a close wild relative: Have leaf photosynthetic parameters evolved under domestication? *Biotropica* **40**: 305-312.
- Reich PB, Walters MB, Ellsworth DS** (1997) From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**: 13730-13734.
- Rhoades DF, Cates RG** (1976) Towards a general theory of plant antiherbivore chemistry. In: Wallace JW, Mansell RL, eds. *Biochemical interactions between plants and insects: Recent advances in phytochemistry*, New York, Plenum Press, pp. 168-213.
- Salgado PR, Favarin JL, Leandro RL, Lima Filho OF** (2008) Total phenol concentrations in coffee tree leaves during fruit development. *Scientia Agricola* **65**: 354-359.
- Silva EA, DaMatta FM, Ducatti C, Regazzi AJ, Barros RS** (2004) Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of arabica coffee trees. *Field Crops Research* **89**: 349-357.
- Sims DA, Pearcy RW** (1994) Scaling sun and shade photosynthetic acclimation of *Alocasia macrorrhiza* to whole-plant performance. I. Carbon balance and allocation at different daily photon flux densities. *Plant, Cell and Environment* **17**: 881-887.
- SAEG** (2007) *Sistema de análises estatísticas e genéticas*: versão 9.1. Viçosa, Fundação Arthur Bernardes.
- Sobrado MA** (1991) Cost-benefit relationships in deciduous and evergreen leaves of tropical dry forest species. *Functional Ecology* **5**: 608-616.
- van Soest PJ, Robertson JB** (1985). *Analysis of forages and fibrous foods*. Ithaca, Cornell University.

- Villar R, Merino J** (2001) Comparison of leaf construction costs in woody species with differing leaf life-spans in contrasting ecosystems. *New Phytologist* **151**: 213-226.
- Villar R, Robledo JR, DeJong Y, Poorter H** (2006) Differences in construction costs and chemical composition between deciduous and evergreen woody species are small as compared to differences among families. *Plant, Cell and Environment* **29**: 1629-1643.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ** (2002) Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **33**: 125-159.
- Wilhelm C, Selmar D** (2011) Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. *Journal of Plant Physiology* **168**: 79-87.
- Williams K, Percival F, Merino J, Mooney HA** (1987) Estimation of tissue construction cost from heat of combustion and organic nitrogen content. *Plant, Cell and Environment* **10**: 725-734.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z, Bongers F, Cavendar-Bares J, Chapin T, Cornelissen JHC, Diemer M, Flexas J, Garnier E, Groom PK, Gulias J, Hikosaka K, Lamont BB, Lee T, Lee B, Lusk C, Midgley JJ, Navas M-L, Niinemets Ü, Oleksyn J, Osada N, Poorter H, Poot P, Prior L, Pyankov VI, Roumet C, Thomas SC, Tjoelker MG, Veneklaas EJ, Villar R** (2004) The leaf economics spectrum worldwide. *Nature* **428**: 821–827.

3.6 Anexos

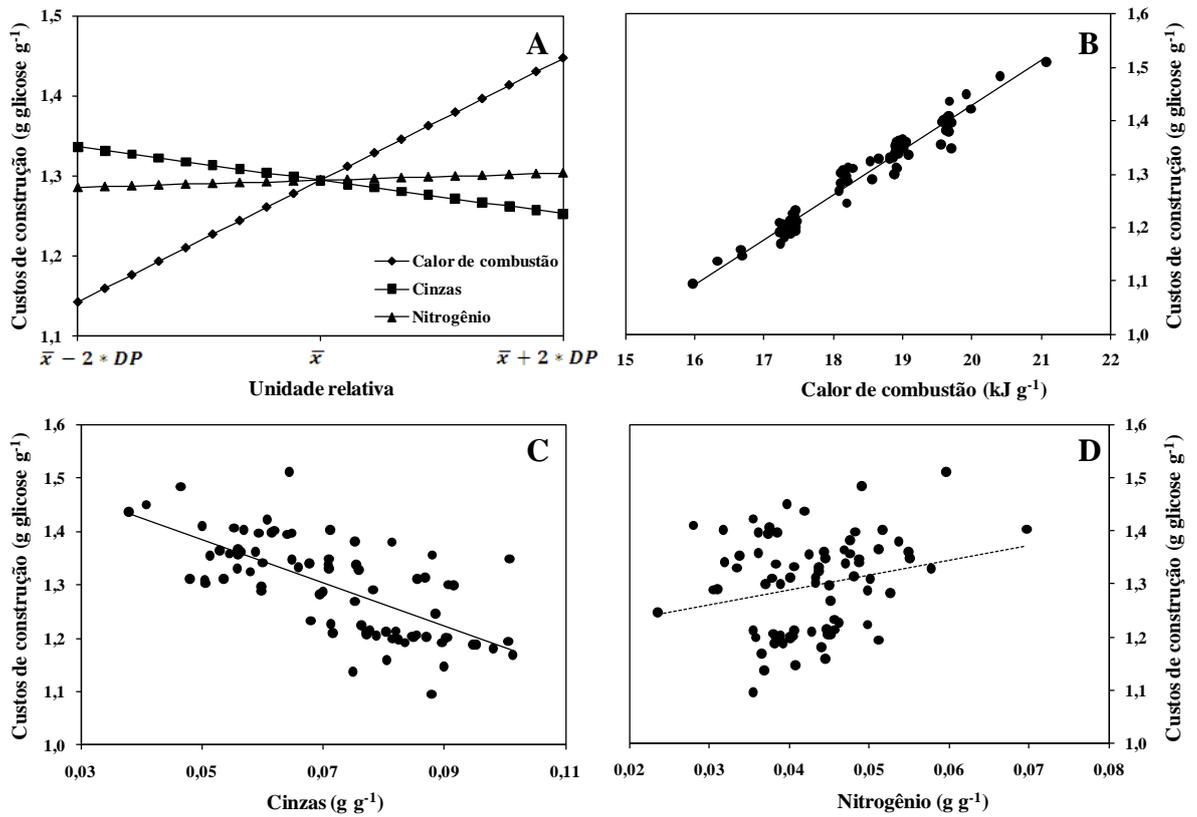


Figura 6: Análise de sensibilidade dos custos de construção do tecido foliar (A), calculado conforme o método proposto por Williams et al. (1987), para variação em apenas um componente (calor de combustão, concentração de cinzas ou nitrogênio), mantendo os outros dois componentes constantes. O valor médio de cada variável no conjunto de dados foi escolhido como o valor constante. A variação, em relação à média, de mais ou menos dois desvios padrão ($\bar{x} \pm 2 * DP$) usada para detectar a influência de cada uma das variáveis sobre o custo de construção do tecido foliar. Relações entre o custo de construção das folhas (g de glicose g⁻¹) e (B) calor de combustão ($r = 0,98$, $P < 0,0001$), (C) concentração de cinzas ($r = -0,69$, $P < 0,001$) e concentração de nitrogênio (D) em folhas de *C. arabica* (g g⁻¹) ($r = 0,19$, $P > 0,05$).

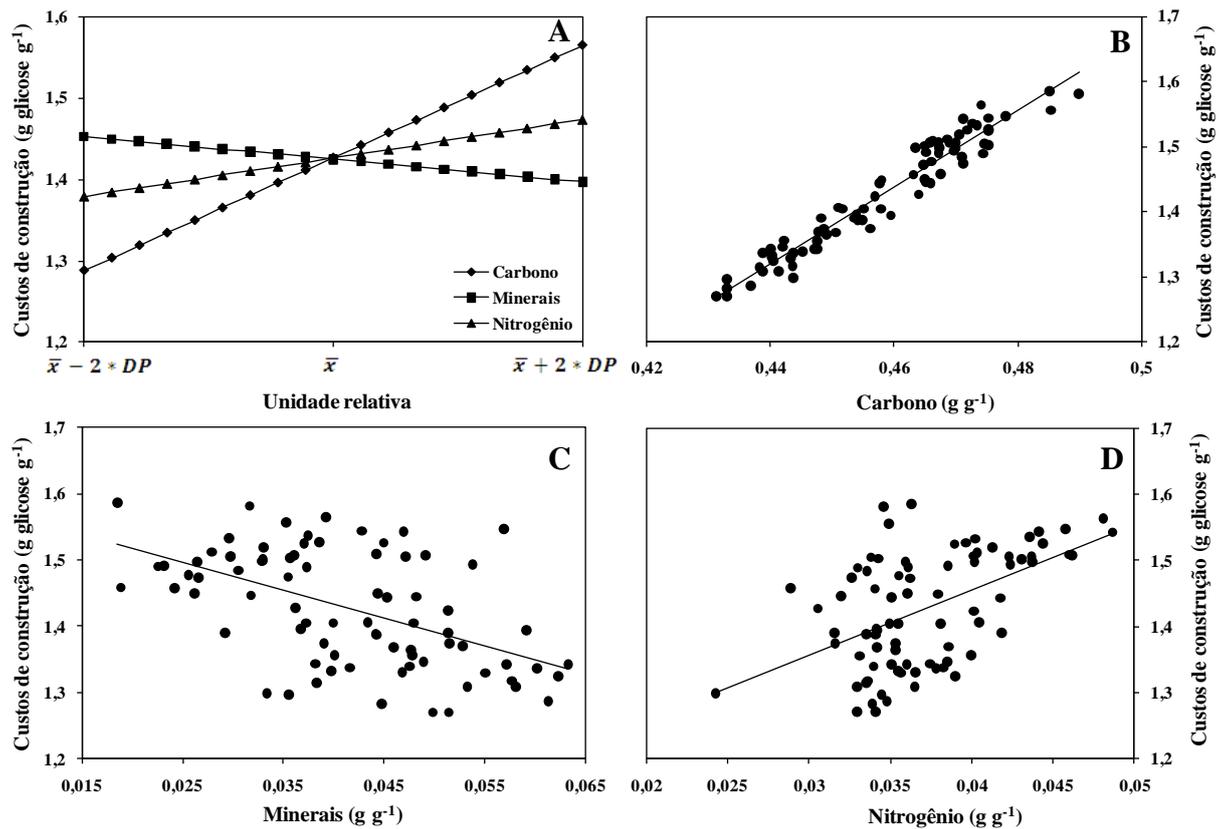


Figura 7: Análise de sensibilidade dos custos de construção do tecido foliar (A), calculado conforme o método proposto por Vertrejt e Penning de Vries (1987) e modificado por Poorter (1994), para variação em apenas um componente (calor de combustão, concentração de cinzas ou nitrogênio), mantendo os outros dois componentes constantes. O valor médio de cada variável no conjunto de dados foi escolhido como o valor constante. A variação, em relação à média, de mais ou menos dois desvios padrão (média $\pm 2*DP$) usada para detectar a influência de cada uma das variáveis sobre o custo de construção do tecido. Relações entre o custo de construção das folhas (g de glicose g⁻¹) e (B) concentração de carbono ($r = 0,98$, $P < 0,0001$), (C) concentração de minerais ($r = -0,64$, $P < 0,001$) e concentração de nitrogênio (D) em folhas de *C. arabica* (g g⁻¹) ($r = 0,53$, $P < 0,001$).

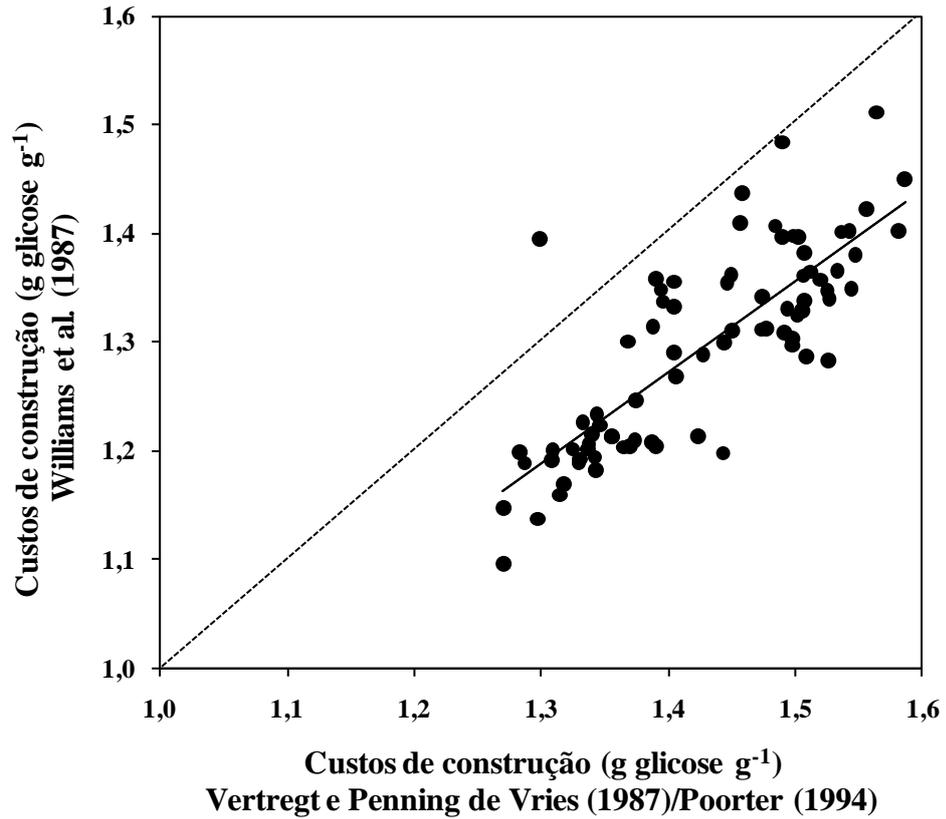


Figura 8: Relação entre os custos de construção em folhas de *C. arabica* L. (g de glicose g⁻¹) calculado conforme o método proposto por Williams et al. (1987) e o método proposto por Vertregt e Penning de Vries (1987), modificado por Poorter (1994) ($\hat{y} = 0,8392x + 0,0975$, $r^2 = 0,65$, $P < 0,0001$).

IV. CAPÍTULO IV

O sombreamento reduz os efeitos negativos do déficit hídrico em plantas de *Coffea arabica*? Uma abordagem morfofisiológica

4.1 Introdução

A extensão dos efeitos do déficit hídrico nas espécies vegetais depende da sua intensidade, duração e da capacidade genética das plantas em responder às mudanças do ambiente (Chaves, 1991). Para avaliar-se como as espécies irão responder a mudanças na disponibilidade de água, é necessário entender como elas estão se adaptando à seca. Atualmente, duas principais estratégias de adaptação à seca têm sido propostas, cada uma com suas especificidades: (i) tolerância à seca e (ii) evitação à seca. Tolerância à seca é caracterizada pela manutenção contínua dos processos fisiológicos sob baixa disponibilidade hídrica. Espécies tolerantes à seca reduzem a extensão da cavitação do xilema e apresentam manutenção das trocas gasosas, condutividade hidráulica e sobrevivência celular em potenciais hídricos relativamente baixos (Engelbrecht e Kursar, 2003; Tyree et al., 2003). Evitação à seca pode ser alcançada maximizando-se o acesso à água e minimizando-se a transpiração. Características associadas a esta estratégia incluem alto investimento de biomassa para o sistema radicular, elevado comprimento radicular específico, pequena área foliar e controle estomático eficiente da transpiração (Paz, 2003; Slot e Poorter, 2007; Markesteijn e Poorter, 2009).

Particularmente nos trópicos, o déficit hídrico é, geralmente, acompanhado por altas irradiâncias e temperatura e, portanto, a seca deve ser considerada como um estresse multidimensional, capaz de desencadear incrementos na produção de espécies reativas de oxigênio, o que pode resultar em danos oxidativos, especialmente nos cloroplastos, culminando com fotoinibição da fotossíntese (Smirnoff, 1995). Como consequência final, danos fotooxidativos, nas folhas, traduzem-se no aparecimento de áreas cloróticas

que, rapidamente, evoluem para a necrose e, pois, levando à abscisão foliar (Karpinski et al., 1999) e decréscimos na produção. Contudo, proteção contra a fotooxidação pode ocorrer a expensas de aumento na dissipação da energia de excitação, por meio de carotenóides, ou via metabolismo das espécies reativas de oxigênio, em função da maior atividade do sistema antioxidativo (Asada, 1999).

A resposta funcional das plantas aos efeitos combinados de luz e seca envolve mudanças estruturais, fisiológicas e bioquímicas nas folhas, raízes e em nível de planta inteira (Aranda et al., 2005). Três hipóteses gerais, e contraditórias em suas essências, têm sido propostas, no que respeita aos impactos combinados da disponibilidade de luz e de água sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. Na primeira, postula-se que, sob limitada disponibilidade de luz (principal limitação), a falta de outro recurso, como a água, deve ter menor impacto sobre o desempenho da planta (Canham et al., 1996). Outros estudos reforçam a hipótese de que o sombreamento pode reduzir os efeitos do déficit hídrico em espécies lenhosas (Holmgren, 2000; Prider e Facelli, 2004; Duan et al., 2005; Quero et al., 2006). Assim, de acordo com a intensidade da seca, os efeitos negativos da limitação por luz poderão ser compensados por seus benefícios, como: redução da temperatura das folhas e do ar, menor déficit de pressão de vapor, como forma de contribuir para a manutenção do status hídrico das plantas, e redução da radiação incidente, reduzindo a possibilidade de ocorrência do estresse oxidativo (Prider e Facelli, 2004; Holmgren, 2000; Castro et al., 2004; Gómez-Aparicio et al., 2004). Inversamente, as plantas sob alta irradiância, quando submetidas à deficiência hídrica, sofrem uma redução mais drástica na fotossíntese líquida, e podem ser mais predispostas à fotoinibição, em comparação com as plantas sombreadas (Holmgren, 2000).

A hipótese contrária prediz que a seca do solo poderá ser cada vez mais prejudicial às plantas sob sombreamento, devido à dicotomia entre as exigências simultâneas para alocação de biomassa em reposta às limitações de recursos acima e abaixo da superfície do solo. Por exemplo, o conflito de requisitos para tolerância à sombra (aumento da alocação de biomassa em folhas) e tolerância à seca (investimento de biomassa em raízes) não pode ser conciliado simultaneamente em plantas que apresentam um pequeno saldo positivo de carbono (Smith e Huston, 1989; Kubiske e Pregitzer, 1996; Niinemets e Valladares, 2006). Assim, a capacidade de crescer sob baixa luminosidade e de resistir à seca seriam incompatíveis (Valladares e Pearcy, 2002). Em uma meta-análise avaliando-se 806 espécies lenhosas, Niinemets e Valladares (2006) observaram, com

efeito, relação negativa entre seca e tolerância à sombra, embora somente 8% da variação pudessem ser explicados. Em todo o caso, em condições controladas, mudas de *Quercus suber* cultivadas à sombra foram menos eficientes em desenvolver mecanismos fisiológicos de tolerância ao déficit hídrico, em particular, ajuste osmótico e controle efetivo da transpiração (Aranda et al., 2005). Essa resposta tem sido encontrada em estudos de campo com outras espécies lenhosas (Valladares e Pearcy, 2002). Assim, tolerância à sombra seria inversamente associada com tolerância a outros fatores limitantes, como, por exemplo, com tolerância à seca (Sánchez-Gómez et al., 2006; Niinemets e Valladares, 2006; Valladares e Niinemets, 2008).

Na terceira hipótese, postula-se que os efeitos de sombra e escassez de água são independentes, isto é, os seus impactos são ortogonais (Sack e Grubb, 2002; Sack, 2004; Markesteijn e Poorter, 2009).

No cafeeiro, uma vez que se atinja a irradiância de saturação ($\sim 600 \mu\text{mol (fótons)} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ em folhas expostas), a fotossíntese pode prosseguir sem decréscimos substanciais até cerca $1400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Ramalho et al., 2000). Isso pressupõe que o café tenha mecanismos eficientes para dissipar o excesso da energia incidente. Todavia, se a fotossíntese e a fotorrespiração não utilizarem a maior fração do poder redutor gerada na fase fotoquímica, pode ocorrer uma sobre-redução da cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto. Nessa condição, elétrons podem daí escapar e serem usados para reduzir o oxigênio molecular, levando à formação de espécies reativas de oxigênio potencialmente capazes de resultar em danos fotooxidativos (Lima et al., 2002; Pinheiro et al., 2004). A ocorrência de tais danos é exacerbada sob certas condições, como déficit hídrico, quando a utilização fotoquímica da energia radiante diminui e os mecanismos de defesa da planta podem não ser suficientes para dissipar a energia excedente. O sombreamento, nesse contexto, poderia minimizar a ocorrência desses danos (DaMatta, 2004).

Experimentos fatoriais constituem-se numa ferramenta importante para explorarem-se as respostas a diferentes condições hídricas, lumínicas e aos efeitos combinados desses fatores, como forma de dissociarem-se os efeitos de cada um deles. No caso particular do cafeeiro, que, em condições de campo, é frequentemente submetido aos efeitos concomitantes dos estresses hídrico e luminoso, a compreensão de suas respostas ecofisiológicas a esses estresses reveste-se de alta complexidade. Embora muitos estudos tenham lidado com os impactos dos efeitos isolados de luz e seca no café, muito pouco se sabe sobre a os efeitos de estresses combinados nessa cultura. O objetivos deste estudo

foi determinar os efeitos da interação luz x água sobre o crescimento, desempenho ecofisiológico e utilização de recursos em plantas de *C. arabica*, para avaliar se o sombreamento diminui os impactos negativos causados pelo estresse hídrico no crescimento e fisiologia dessa espécie.

4.2 Material & Métodos

4.2.1 Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°54'W, 650 m altitude), Minas Gerais. Estudou-se um único genótipo, visando-se analisar somente as variações ambientes, na ausência de potenciais fontes de confundimento (variações genéticas e variações associadas com as interações do genótipo com o ambiente). Utilizou-se de plantas de *Coffea arabica* L. cv 'Catuaí Vermelho IAC 44', propagadas por semente, cultivadas em vasos com 30 litros de substrato, constituído de uma mistura de solo, esterco de curral curado e areia (4:1:1, v/v/v). A mistura foi adubada e teve o pH corrigido, de acordo com análise de solo e recomendações técnicas usuais para a cultura. Quarenta (40) mudas foram plantadas em fevereiro de 2009. Metade dessas mudas (20) foi cultivada a pleno sol (fenótipos de sol) e a outra metade (20) foi cultivada sob sombreamento, i.e. 15% da radiação solar, empregando-se, para tal, telas de poliolefinas (fenótipos de sombra). As plantas foram mantidas nessas condições por oito meses. Após a emissão do oitavo par de ramos plagiotrópicos, 10 plantas de cada fenótipo foram colhidas e caracterizadas morfológicamente. Os fenótipos de sol e de sombra apresentavam diferenças típicas de plantas de sol e de sombra, e.g. plantas do fenótipo de sombra com folhas maiores (25%) e maior razão parte aérea / sistema radicular (53%) que as plantas do fenótipo de sol (dados não mostrados). Os 10 indivíduos remanescentes do cultivo a pleno sol e à sombra, foram, então, combinados com dois níveis de água disponível no solo (déficit hídrico, DH, e capacidade de campo, CC, aqui definidos como sendo 30 e 100% de água disponível no solo, respectivamente, conforme descrito abaixo). Portanto, 20 plantas foram distribuídas em quatro tratamentos (cinco plantas por tratamento), em esquema fatorial 2x2 (dois níveis de irradiância x dois níveis de água disponível), impostos durante 120 dias, quando, então, as plantas foram colhidas. O experimento foi montado e analisado sob delineamento inteiramente casualizado. A unidade experimental foi composta por uma planta por vaso.

A água disponível (AD) foi calculada observando-se os valores de umidade volumétrica na curva de retenção de água no solo para CC (determinada na tensão de -0,010 MPa) e para o ponto de murcha permanente (PMP) (determinado na tensão de -1,5 MPa), utilizando-se da seguinte expressão: $AD = CC - PMP$. Previamente, o peso de todos os vasos foi padronizado. Posteriormente, procedeu-se à elevação do teor de umidade do substrato até atingir-se a CC, determinada pela curva de retenção, com posterior pesagem dos vasos. Uma vez estabelecido o peso dos vasos na CC e, considerando-se a quantidade de AD, foi estabelecido o peso dos vasos com 30% de AD. O estabelecimento e o controle dos níveis de umidade do substrato em cada tratamento foram realizados pelo acompanhamento do peso dos vasos. O ajuste do peso dos vasos foi feito quinzenalmente, devido ao incremento propiciado pelo crescimento das plantas. Durante o período de cultivo das plantas, a temperatura média do ar foi de 25,7°C (média das máximas de 27,2°C e a média das mínimas de 16,8°C) e a umidade relativa média de 77,4%, medidas com sensores instalados em abrigo meteorológico no local do experimento. A radiação fotossinteticamente ativa foi de $19,02 \pm 1,58 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ para as plantas cultivadas a pleno sol e $2,91 \pm 0,25 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ para as plantas cultivadas sob sombreamento. Todos os sensores (LICOR) foram conectados a um sistema de aquisição de dados (LI-1400, LICOR, EUA), coletando-se os dados a cada minuto e armazenando-se o valor médio a cada 5 min.

4.2.2 Análise de crescimento

Em cada amostragem, as plantas foram separadas em caule, folhas, ramos (ortotrópico e plagiotrópicos) e raízes. A área foliar total foi estimada a partir do comprimento e largura de cada folha, conforme Antunes et al. (2008). As raízes foram completamente lavadas com água de torneira sobre uma peneira de 0,5 mm. Os tecidos das plantas foram secos em estufa, a 70°C, até atingirem peso constante; posteriormente, o peso seco de folhas, de caules e de raízes foi obtido, para determinação das seguintes características de crescimento: biomassa total (g); fração de massa foliar, FMF (g de massa seca foliar g^{-1} de biomassa seca total), fração de massa radicular, FMR (g de massa seca radicular g^{-1} de biomassa seca total), fração de massa da parte aérea, FMFA (g de massa seca da parte aérea g^{-1} de biomassa seca total) e razão de área foliar, RAF (m^2 de área foliar kg^{-1} de biomassa seca total). Após a última avaliação destrutiva, calcularam-se TCR, TAL e AFE, conforme o suplemento disponível em Hunt et al.

(2002). Para avaliar-se a importância relativa de cada um dos parâmetros de crescimento, os coeficientes de resposta de crescimento (CRC) foram calculados, considerando-se dois níveis de disponibilidade de recursos: alta (*H*; CC e pleno sol) e baixa (*L*; DH e sombra), conforme a equação: $CRC_X = (\ln X_H - \ln X_L) / (\ln TCR_H / TCR_L)$. CRC_X é definido como o aumento relativo do parâmetro de crescimento *X* dividido pelo aumento relativo de TCR (Hunt, 1982; Poorter e Nagel, 2000).

4.2.3 Análises bioquímicas

Oito folhas foram coletadas em nitrogênio líquido, liofilizadas, trituradas em um disruptor celular com auxílio de esferas de metal de 3,2 mm (Mini-BeadBeater-96, BioSpec Products, Bartlesville, OK, USA), passadas em peneira de 0,80 mm e, posteriormente, secas novamente em estufa a 60°C, por 48 h. Uma fração da amostra (250 mg) foi utilizada para a determinação de lipídios (LIP), fenóis solúveis totais (FEN), açúcares solúveis totais (AST), amido (AMD), aminoácidos solúveis totais (AMN), prolina (PLN), proteínas totais (PRO), lignina (LIG), celulose (CEL) e hemicelulose (HCE). Todas as medições foram realizadas em duplicatas da amostra fracionada. Para isso, a cada amostra foram adicionados 4 mL de uma mistura de metanol/clorofórmio (1:1) (Bligh e Dyer, 1959), mantidas sob agitação durante 30 min, seguida de centrifugação a 4000 g por 5 min. O sobrenadante foi coletado e, após a adição de 2 mL de água, sob agitação, a mistura foi centrifugada (4000 g, 5 min), separando-se a fase clorofórmio da fase metanol/água. A concentração de LIP foi determinada na fase clorofórmica por gravimetria. A concentração de FEN foi determinada colorimetricamente (725 nm) no extrato da fase metanol/água, utilizando-se do reagente de Folin-Ciocalteu (1:1) e ácido tânico como padrão (Poorter e Villar, 1997). A concentração de AMN foi determinada conforme DaMatta et al. (1999), e PLN, conforme Bates et al. (1973), foram obtidas na fase metanol/água. No *pellet* resultante da extração metanol/clorofórmio determinou-se a concentração de AMD, conforme Poorter e Villar (1997). A concentração de AST presente no sobrenadante da fase metanol/água foi determinada colorimetricamente (620 nm), usando-se o reagente de antrona (Fales, 1951). A concentração de proteínas foi determinada multiplicando-se a concentração de N orgânico (*cf.* DaMatta et al. (1999) presente no resíduo resultante após a hidrólise ácida por 6,25 (Merino et al., 1984).

O resíduo resultante após a hidrólise do amido e secagem a 60°C foi acondicionado em frascos de polietileno. Em seqüência, foi determinado o conteúdo de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) (van Soest e Robertson, 1985). Os teores de HCE foram obtidos a partir da diferença entre os conteúdos de FDN e FDA. Cadinhos contendo a FDA foram acondicionados em frascos de polietileno, adicionando-se-lhes aproximadamente 5 mL de H₂SO₄ (12 M). O material foi homogeneizado, adicionando-se a seguir H₂SO₄ de forma a cobrir cerca da metade da altura útil dos cadinhos. O material permaneceu à temperatura ambiente por 3 h. Após este período, procedeu-se à filtração sob vácuo, lavagem com água destilada quente e secagem (105°C/16 h). O teor de CEL foi obtido a partir da diferença entre os conteúdos de FDA e do resíduo obtido após o tratamento com H₂SO₄. O resíduo insolúvel em H₂SO₄ dos cadinhos foi posteriormente incinerado (500°C/3 h), quantificando-se o resíduo mineral. A LIG foi quantificada como a perda de material orgânico durante a incineração.

Clorofilas e carotenóides totais foram extraídos em acetona (80%, v/v) e estimados espectrofotometricamente, como descrito em Lichtenthaler (1987). O nitrogênio orgânico foi determinado conforme DaMatta et al. (1999), e o nitrogênio nítrico, de acordo com Cataldo et al. (1975). A soma das duas frações representa o nitrogênio total.

4.2.4 Parâmetros de fluorescência e trocas gasosas

Os parâmetros de fluorescência e as trocas gasosas [taxa de assimilação líquida do carbono (A), condutância estomática (g_s), concentração subestomática de CO₂ (C_i) e a taxa transpiratória (E)] foram medidos entre 9:00-11:00 h, em sistema aberto, sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) equivalente à do ambiente (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para as plantas cultivadas a pleno de sol e sob sombreamento, respectivamente) e pressão parcial de CO₂ de 40 Pa, com um analisador de gases a infravermelho (Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, EUA). Após serem adaptados ao escuro, por 30 min, tecidos foliares foram inicialmente expostos a um fraco pulso de luz vermelho-distante (0,03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para a determinação da fluorescência inicial (F_0). Em seguida, um pulso de luz saturante, com irradiância de 6000 $\mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e duração de 0,8 s, foi aplicado para estimar-se a fluorescência máxima emitida (F_m). Procedeu-se, ainda, à estimação da eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II

(FSII) (F_v/F_m) e dos coeficientes de extinção fotoquímica (q_L) e não-fotoquímica (NPQ) e da taxa de transporte de elétrons (TTE), conforme descrito em DaMatta et al. (2002) e em Lima et al. (2002). O rendimento das três vias concorrentes de desexcitação de clorofilas no FSII, i.e. rendimento fotoquímico do FSII (Φ_{FSII}), rendimento não-fotoquímico associado à dissipação de energia pelo ciclo das xantofilas (Φ_{NPQ}) e outros mecanismos de dissipação energética (Φ_{NO}), foram também calculados (Kramer et al., 2004). A eficiência de uso da luz (E_L) foi estimada por meio de regressão linear da porção inicial da curva de resposta de A à radiação fotossinteticamente ativa.

4.2.5 Relações hídricas

O potencial hídrico foliar foi determinado em folhas individuais com uma bomba de pressão tipo Scholander, na antemanhã (Ψ_{am}) e ao meio-dia (Ψ_{md}). A transpiração diária (E_d) foi estimada por gravimetria, mediante a diferença do peso dos vasos (ΔPV), determinada na antemanhã, após um período de aproximadamente 24 h, conforme Nagakura et al. (2004). Este valor foi dividido pela área foliar total de cada planta (AF), pelo peso molecular da água (PM) e pelo intervalo de tempo (Δt) entre a pesagem dos vasos. Vasos contendo a mesma quantidade de substrato, cobertos com a mesma quantidade de cobertura morta, porém sem plantas, foram utilizados para estimar-se a quantidade de água perdida por evaporação (EV).

$$E_d = [(\Delta PV - EV) / (AF * PM * \Delta t)] * 1000$$

A condutância hidráulica entre o solo e a folha (K_L) foi calculada a partir da transpiração das plantas no período da antemanhã ao meio-dia (E), e a diferença de potencial hídrico ($\Delta \Psi_w$) [variação do potencial hídrico entre a antemanhã e o meio dia ($\Psi_{md} - \Psi_{am}$)], observada nesse intervalo.

$$K_L = E / \Delta \Psi_w$$

Para a obtenção de curvas pressão-volume, as folhas foram hidratadas pela imersão do pecíolo em água destilada durante 12 h. Posteriormente, no laboratório, as folhas foram colocadas sob uma bancada para desidratarem livremente; durante o processo de desidratação das folhas, o peso fresco (PF) e o Ψ_w correspondente foram tomados a curtos intervalos de tempo, até que o Ψ_w atingisse aproximadamente -3,5 MPa. Em seguida, as folhas foram secas em estufa, a 70°C, até atingirem peso constante,

para obtenção do peso seco (PS). O peso da folha completamente túrgida (PT) ($\Psi_w = 0$) foi estimado a partir da relação linear entre a massa fresca e potencial hídrico nos primeiros pontos da curva. O teor relativo de água (TRA) foi determinado conforme a equação:

$$\text{TRA} = \frac{PF - PS}{PT - PS}$$

A partir da relação entre o TRA e o inverso do potencial hídrico ($-1/\Psi_w$) foram obtidos vários parâmetros fisiológicos. O potencial osmótico em turgescência plena ($\Psi\pi_{100}$) e o potencial osmótico em turgescência nula incipiente ($\Psi\pi_0$) foram estimados por meio de regressão linear quando as células entram em estado de plasmólise ($\Psi_w = \Psi\pi$), conforme a equação linear:

$$\frac{-1}{\Psi\pi} = a \times \text{TRA} + b$$

No ponto de turgescência plena, TRA = 100%, logo:

$$\Psi\pi_{100} = \frac{-1}{(a \times 100) + b}$$

Para a estimativa de $\Psi\pi_0$, considera-se o TRA no ponto de perda de turgescência (R_p):

$$\Psi\pi_0 = \frac{-1}{(a \times R_p) + b}$$

O módulo global de elasticidade (ε) foi estimado nos pontos de maior turgescência, conforme Robichaux et al. (1984):

$$\varepsilon = \frac{\Delta\Psi_p}{\Delta\text{TRA}} \times (\overline{\text{TRA}} - \text{TRA}_A)$$

O ε depende do coeficiente angular da equação de regressão linear obtida entre TRA e o potencial de pressão ($\Delta\Psi_p/\Delta\text{TRA}$), e a diferença entre a média do teor relativo de água nos pontos correspondentes e o teor relativo de água apoplástico (TRA_A), que, por sua vez, resulta da extrapolação de relação entre TRA e $-1/\Psi_w$, quando $-1/\Psi_w = 0$ ($\text{TRA}_A = b/a$).

Quatro formas de estimação da eficiência do uso da água (E_A) foram utilizadas nas análises e interpretação dos dados: eficiência instantânea de uso da água (A/E), calculada pela razão entre a taxa fotossintética líquida (A) e a taxa transpiratória (E); eficiência intrínseca de uso da água (A/g_s), calculada pela razão entre A e g_s ; eficiência de uso da água da planta inteira (B_p/E_c), calculada pela razão entre a biomassa produzida (B_p) e a água consumida (E_c) durante a imposição dos tratamentos hídricos; composição isotópica do carbono ($\delta^{13}C$), calculada pela determinação da abundância relativa dos isótopos ^{13}C e ^{12}C , via espectrometria de massa, conforme DaMatta *et al.* (2002). Maior valor de $\delta^{13}C$ (menos negativo) indica menor discriminação contra o ^{13}C devido a menores valores de C_i , em função de maior A e/ou menor g_s , resultando em maior E_A (Farquhar *et al.*, 1982).

4.2.6 Atividades enzimáticas

Foram determinadas as atividades de várias enzimas do sistema antioxidante: dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e redutase da glutatona (GR). Detalhes adicionais estão descritos em Pinheiro *et al.* (2004). A atividade dessas enzimas foi expressa em unidades (U) por quantidade de clorofilas. Cada U corresponde à oxidação de 1 μmol ascorbato min^{-1} para a APX, de 1 μmol H_2O_2 min^{-1} para a CAT, e de 1 μmol de NADPH min^{-1} , para a GR. Para a SOD, cada U corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotoredução do corante azul de nitro-tetrazólio.

4.2.7 Análises estatísticas

Os dados foram analisados via análise de variância (ANOVA), e as comparações entre as médias dos tratamentos foram feitas por meio do teste F , a 5% de probabilidade. O índice de plasticidade fenotípica (IP) foi calculado conforme Valladares *et al.* (2000). Para o estudo das relações entre as variáveis, utilizou-se da técnica de correlação linear de Pearson (r). As análises foram realizadas utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas da UFV (SAEG, versão 9.1).

4.3 Resultados

De todas as variáveis estudadas (49), somente algumas poucas (N, Chl/Car, Chl a/b, PRO e AMN) não foram afetadas significativamente pelos tratamentos aplicados (Tabela 1). No geral, as variáveis (com exceção de Φ_{NO}) apresentaram resposta fraca ou insignificante à interação A x L, explicando somente uma pequena proporção da variação total dos dados (no geral, menos de 10%) (Tabela 1). A média do IP em relação ao fator luz (IP_{Luz}), para as 51 variáveis, foi 84% superior à média do IP em relação ao fator água ($IP_{Água}$) ($IP_{Luz} = 0,35$ e $IP_{Água} = 0,19$). Contudo, variáveis fotossintéticas apresentaram IP_{Luz} muito superior ao da média ($IP_{Luz} = 0,51$), observando-se o oposto para as variáveis relacionadas com as relações hídricas ($IP_{Luz} = 0,21$). Considerando-se $IP_{Água}$, valores superiores aos da média foram apresentados pelas variáveis relacionadas com as relações hídricas ($IP_{Água} = 0,35$), e inferiores, pelas variáveis relacionadas com os pigmentos fotossintéticos e atividade de enzimas antioxidantes ($IP_{Água} = 0,09$) (Tabela 1).

Do conjunto de variáveis, algumas responderam fortemente ao fator luz, e pouco ao fator água (e.g. Φ_{NPQ} , $IP_{Luz} = 0,88$ e $IP_{Água} = 0,21$). Em contraste, algumas variáveis apresentaram maior resposta ao fator água, sendo pouco respondentes ao fator luz, sendo Ψ_{am} o exemplo mais notável ($IP_{Água} = 0,93$ e $IP_{Luz} = 0,34$). Contudo, no geral, as plantas apresentaram maior resposta ao fator luz (Figura 1).

Analisando-se as variáveis relacionadas com o crescimento, plantas cultivadas à sombra, independentemente do nível de AD, apresentaram menor TCR, TAL e FMR, contudo, maior AFE, FMF, FMFA e RAF em relação às plantas cultivadas a pleno sol (Tabela 2). Nestas, DH causou redução em TCR (34%) e em TAL (51%). Nas plantas cultivadas à sombra, alterações não significativas da FMR (acrécimo) e FMF (redução) causadas pelo DH foram acompanhadas por alteração significativa na AFE, i.e. aumento de 5% (Tabela 2).

Reduções em TCR, em todas as condições experimentais, foram majoritariamente associadas a reduções em TAL, conforme sugerem seus valores elevados e positivos dos CRC e maiores valores de AFE, i.e. valores negativos de CRCs. A AFE teve efeito mais acentuado para as plantas cultivadas em diferentes níveis de luz, principalmente quando submetidas ao DH (Figura 2).

Tabela 1: Proporção da variância explicada pelos fatores luz, água e pela interação entre esses fatores (análise de variância de dois fatores) e índice de plasticidade fenotípica de variáveis morfológicas, fisiológicas e bioquímicas em plantas de *Coffea arabica*.

Variáveis	Fatores		Interação A x L	R ²	CV (%)	Índice de plasticidade		
	Água (A)	Luz (L)				Água	Luz	
Crescimento	TCR	23,1***	50,2***	6,1*	79,5	17,9	0,27	0,39
	TAL	10,5***	75,5***	9,1***	95,1	25,6	0,44	0,95
	AFE	1,2***	97,8***	0,2*	99,3	1,7	0,04	0,30
	FMF	0,6 ^{ns}	65***	7,2 ^{ns}	72,8	12,6	0,29	0,11
	FMR	18,9*	8,2 ^{ns}	6,9 ^{ns}	33,9	11,9	0,11	0,07
	FMFA	< 0,1 ^{ns}	77,0***	10***	87,0	6,6	0,10	0,25
	RAF	< 0,1 ^{ns}	86,3***	1,8 ^{ns}	88,1	14,1	0,10	0,50
Fotossíntese	A	21,5***	69,8***	6,3***	97,6	11,0	0,45	0,70
	g _s	41,3***	37,2***	8,9**	87,3	24,9	0,56	0,54
	C _i	11,0*	47,3***	9,8*	68,2	13,4	0,14	0,26
	E	28,1***	50,7***	6,8*	85,6	25,3	0,47	0,59
	F _v /F _m	0,4 ^{ns}	64,3***	0,8 ^{ns}	65,5	1,4	0,00	0,03
	TTE	7,1*	71,8***	6,6*	85,5	20,8	0,16	0,57
	Φ _{FSII}	0,2 ^{ns}	97,7***	< 0,1 ^{ns}	97,9	8,8	0,06	0,70
	Φ _{NPO}	2,5***	93,5***	1,7**	97,9	13,2	0,21	0,88
	Φ _{NO}	19,4*	0,1 ^{ns}	29,1**	48,5	12,2	0,14	0,15
Relações hídricas	Ψ _{am}	97,6***	0,1 ^{ns}	0,8**	98,6	11,5	0,93	0,34
	Ψ _{md}	57,9***	39,8***	1,6***	99,2	4,5	0,55	0,49
	E _d	61,8***	26,0***	0,7 ^{ns}	88,5	14,5	0,47	0,34
	K _L	70,7***	8,6*	4,1 ^{ns}	88,3	13,4	0,39	0,14
	Ψπ ₁₀₀	37,0***	42,3***	3,4 ^{ns}	82,6	6,2	0,15	0,16
	Ψπ ₀	15,8***	68,4***	3,3 ^{ns}	87,5	4,3	0,08	0,16
	ε	10,4**	71,8***	5,6*	87,8	4,6	0,07	0,18
	R _p	5,9 ^{ns}	70,4***	1,0 ^{ns}	77,3	0,8	0,01	0,02
Pigmentos e enzimas	N	< 0,1 ^{ns}	3,5 ^{ns}	20,3 ^{ns}	23,8	8,9	0,08	0,08
	Chl	2,1 ^{ns}	63,0***	0,2 ^{ns}	65,3	12,6	0,05	0,26
	Car	0,8 ^{ns}	47,5**	0,9 ^{ns}	49,2	13,2	0,03	0,21
	Chl/N	1,7 ^{ns}	59,3***	7,6 ^{ns}	68,6	12,8	0,10	0,27
	Chl/Car	1,0 ^{ns}	13,5 ^{ns}	0,5 ^{ns}	15,0	9,0	0,02	0,06
	Chl a/b	1,9 ^{ns}	1,0 ^{ns}	3,2 ^{ns}	6,2	5,6	0,02	0,02
	SOD	0,4 ^{ns}	75,8***	0,8 ^{ns}	76,9	17,0	0,05	0,43
	CAT	18,7***	70,0***	0,2 ^{ns}	88,9	13,8	0,30	0,48
	APX	14,0*	47,8***	9,1*	70,9	12,7	0,16	0,26
	GR	18,3*	33,6**	2,1 ^{ns}	54,0	16,2	0,16	0,22
Composição química	LIP	0,5 ^{ns}	64,2***	2,2 ^{ns}	66,9	10,3	0,05	0,23
	FEN	2,5*	90,1***	0,5 ^{ns}	93,0	16,0	0,23	0,68
	PRO	17,6 ^{ns}	0,8 ^{ns}	0,2 ^{ns}	18,5	15,9	0,13	0,03
	AMD	82,1***	0,9 ^{ns}	4,3*	87,4	15,3	0,51	0,14
	AST	0,6 ^{ns}	83,5***	0,5 ^{ns}	84,5	18,5	0,05	0,55
	AMN	0,7 ^{ns}	17,3 ^{ns}	4,8 ^{ns}	22,7	13,6	0,06	0,11
	PLN	62,5***	32,0***	1,1 ^{ns}	95,6	10,1	0,53	0,43
	LIG	0,1 ^{ns}	29,2*	0,9 ^{ns}	30,3	28,3	0,06	0,28
	CEL	0,1 ^{ns}	88,5***	3,3*	91,9	9,3	0,11	0,43
	HCE	9,7*	63,7***	2,0 ^{ns}	75,4	9,1	0,09	0,23
	Uso de recursos	A/E	0,6 ^{ns}	30,8*	6,0 ^{ns}	37,4	25,4	0,13
A/g _s		11,5*	44,3***	10,5*	66,3	19,5	0,15	0,31
B _p /E _c		1,9 ^{ns}	49,8***	9,0 ^{ns}	60,7	22,6	0,17	0,36
δ ¹³ C		0,6 ^{ns}	56,9***	27,0***	84,5	3,5	0,08	0,13
E _L		44,2***	44,0***	3,5*	91,6	14,2	0,47	0,45

Nível de significância, avaliado pelo teste *F* (**P* < 0,05, ***P* < 0,01, ****P* < 0,001 e ^{ns}*P* > 0,05), para cada fator e para a interação são indicados. A variabilidade dos dados em relação à média é indicada pelo coeficiente de variação (CV). R² é a proporção da variância total explicada pelo modelo. Vide a lista de abreviaturas para maiores detalhes.

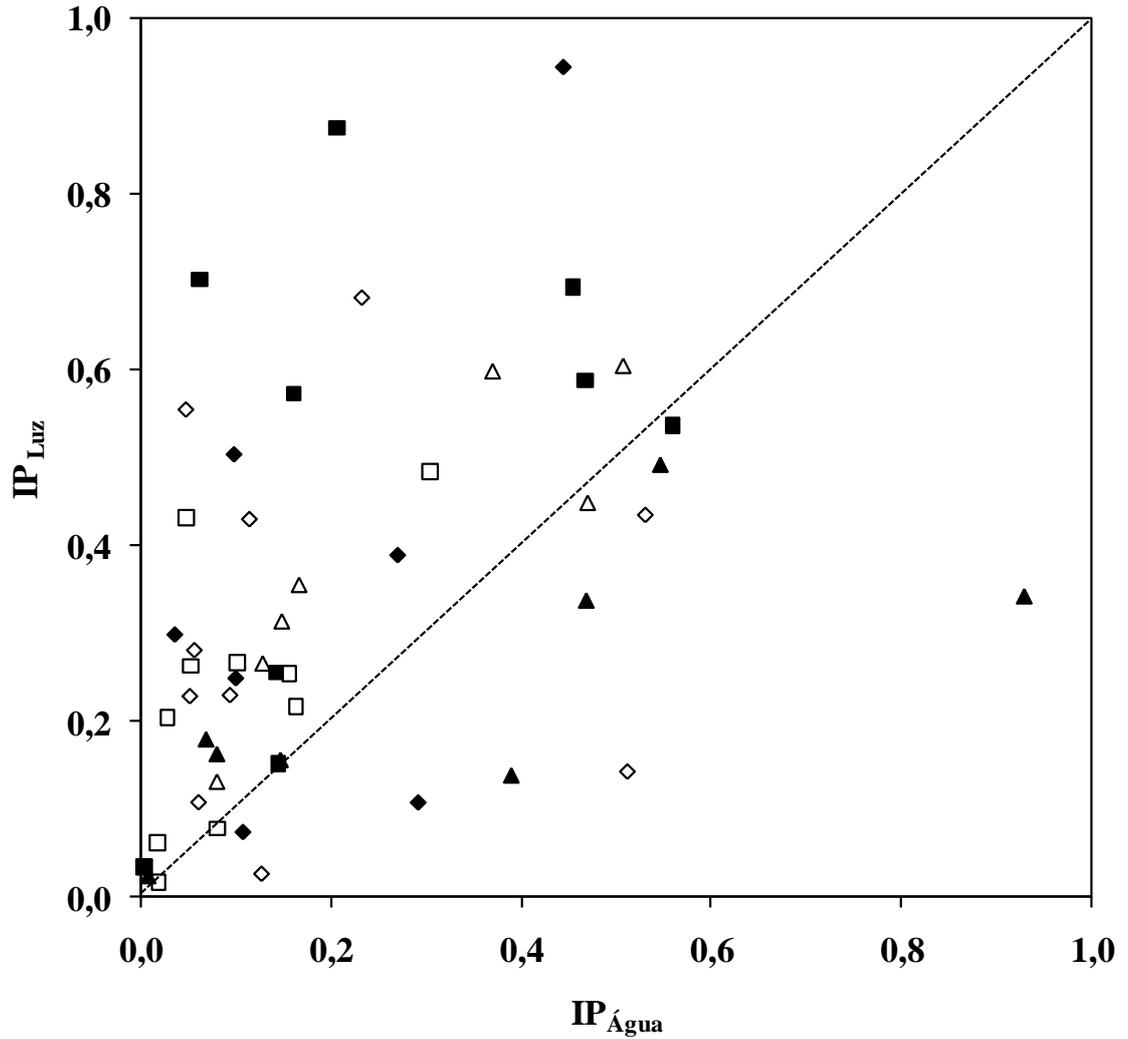


Figura 1: Resposta à disponibilidade de água e luz, calculada pelo índice de plasticidade (Valladares et al., 2000), de variáveis relacionadas com crescimento (losangos cheios), fotossíntese (quadrados cheios), relações hídricas (triângulos cheios); pigmentos e enzimas antioxidantes (quadrados vazios), composição química (losangos vazios) e uso de recursos (triângulos vazios) em plantas de *Coffea arabica* cultivadas sob condições contrastantes de luz (pleno sol e sombra) e água [capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH)].

Tabela 2: Análise de crescimento [taxa de crescimento relativo (TCR), taxa assimilatória líquida (TAL), área foliar específica (AFE), fração de massa foliar (FMF), fração de massa caulinar (FMC), fração de massa radicular (FMR), fração de massa da parte aérea (FMPA) e razão de área foliar (RAF)] em plantas de *Coffea arabica* submetidas à combinação de condições contrastantes de luz (**pleno sol** e **sombra**) e água [**capacidade de campo** (CC) e **déficit hídrico** (DH)]. Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$).

Variáveis	CC		DH	
	Pleno sol	Sombra	Pleno sol	Sombra
TCR ($\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	10,5 \pm 0,5 a*	5,8 \pm 0,9 a	6,9 \pm 0,2 b*	4,6 \pm 0,3 a
TAL ($\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	7,98 \pm 0,68 a*	0,39 \pm 0,09 a	3,92 \pm 0,21 b*	0,24 \pm 0,02 a
AFE ($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$)	12,3 \pm 0,4 a*	17,4 \pm 1,8 b	12,6 \pm 0,3 a*	18,2 \pm 1,4 a
FMF (g g^{-1})	0,39 \pm 0,01 a*	0,48 \pm 0,03 a	0,35 \pm 0,01 a*	0,42 \pm 0,01 a
FMR (g g^{-1})	0,35 \pm 0,02 a*	0,26 \pm 0,02 a	0,37 \pm 0,01 a*	0,29 \pm 0,01 a
FMPA (g g^{-1})	0,65 \pm 0,02 a*	0,73 \pm ,02 a	0,63 \pm 0,02 a*	0,72 \pm 0,03 a
RAF ($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$)	4,33 \pm 0,33 a*	7,36 \pm 0,39 a	4,81 \pm 0,07 a*	7,35 \pm 0,41 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem significativamente entre os regimes hídricos, dentro de um mesmo nível de luz. Asterisco representa diferença significativa entre os níveis de luz, dentro de um mesmo regime hídrico. As médias foram comparadas entre si pelo teste F ($P < 0,05$).

Valores superiores de A , g_s , E e TTE, e similares de F_v/F_m , foram obtidos nas plantas cultivadas a pleno sol, em relação aos das plantas sob sombreamento, independentemente do nível de AD. A pleno sol, DH causou redução em A (46%), g_s (60%), C_i (25%), E (50%) e TTE (31%), em relação a CC. Contudo, à sombra, reduções em A (43%) e g_s (52%) foram acompanhadas por aumento em C_i (15%), sem haver variação em E e TTE (Tabela 3). Nas plantas a pleno sol, do total da energia de excitação das clorofilas, somente 17-18% foram associados com Φ_{FSII} , 40-52% com Φ_{NPQ} e 31-42% com Φ_{NO} . À sombra, 57-60% da energia de excitação das clorofilas foram associados com Φ_{FSII} , somente 5-6% com Φ_{NPQ} e 35-37% com Φ_{NO} (Tabela 3).

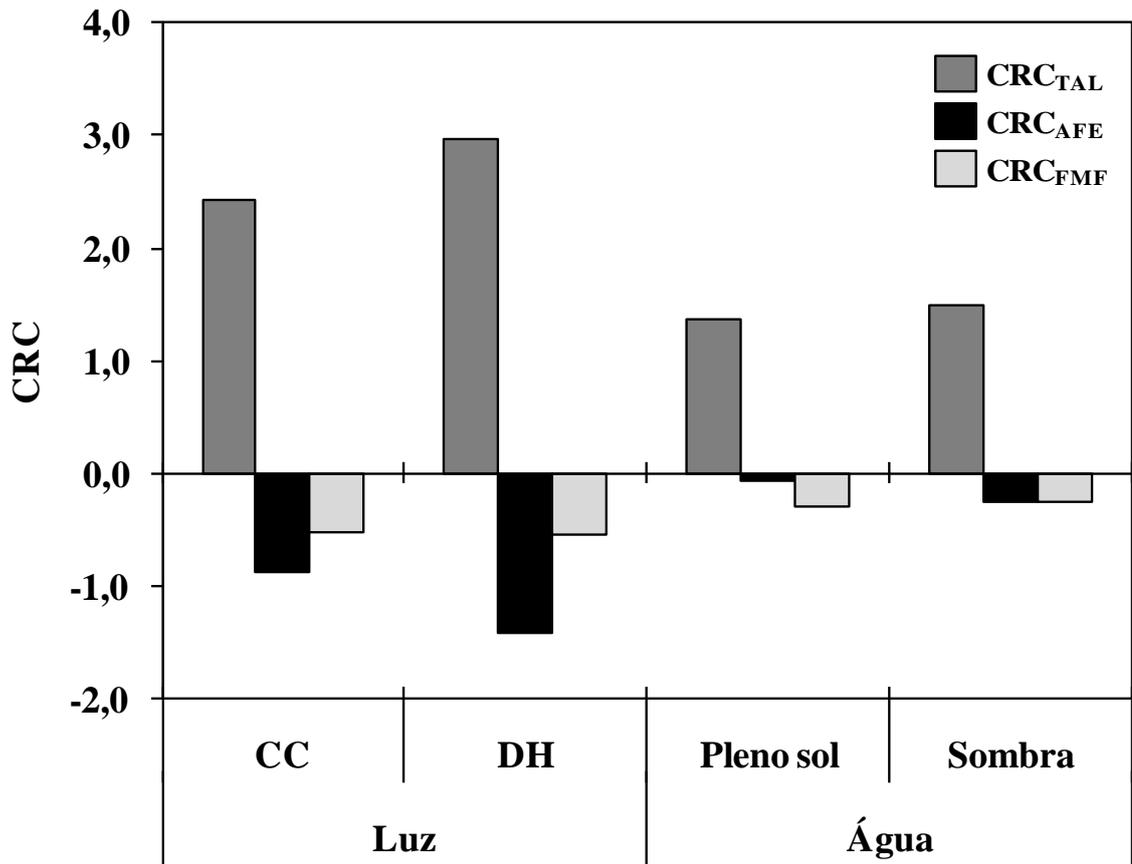


Figura 2: Coeficientes de resposta do crescimento (CRC) em plantas de *Coffea arabica* submetidas à combinação de condições contrastantes de luz (**pleno sol** e **sombra**) e água [**capacidade de campo** (CC) e **déficit hídrico** (DH)]. Taxa assimilatória líquida (TAL), área foliar específica (AFE), fração de massa foliar (FMF).

Houve reduções significativas em Ψ_{am} sob DH. Para a mesma quantidade de AD no solo (30%), plantas à sombra apresentaram maiores reduções em Ψ_{am} em relação às plantas a pleno sol (-0,65 e -0,73, para plantas ao sol e à sombra, respectivamente). Ao meio-dia maiores reduções em Ψ_w foram observadas nas plantas a pleno sol (menores valores de Ψ_{md}). O DH causou reduções significantes em E_d e K_L independentemente da disponibilidade de luz; entretanto, maiores valores de E_d foram observados nas plantas ao sol, e valores mais elevados de K_L nas plantas à sombra. Plantas a pleno sol, sob DH, apresentaram menor $\Psi\pi_{100}$ e $\Psi\pi_0$, e maior ε , em relação às plantas cultivadas sob CC, enquanto à sombra essas variáveis não se alteraram significativamente. Em relação ao fator luz, independentemente dos níveis de água, plantas a pleno sol tiveram menor $\Psi\pi_{100}$ e $\Psi\pi_0$, e maior ε e R_p , em relação às plantas à sombra (Tabela 4).

Tabela 3: Parâmetros fotossintéticos [taxa de assimilação líquida do carbono (A), condutância estomática (g_s), concentração subestomática de CO_2 (C_i), taxa transpiratória (E), eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m), taxa de transporte de elétrons (TTE), rendimento fotoquímico do FSII (Φ_{FSII}), rendimento não-fotoquímico associado à dissipação de energia pelo ciclo das xantofilas (Φ_{NPQ}) e outros mecanismos de dissipação energética (Φ_{NO})] em plantas de *Coffea arabica* submetidas à combinação de condições contrastantes de luz (**pleno sol** e **sombra**) e água [**capacidade de campo** (CC) e **déficit hídrico** (DH)]. Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$).

Variáveis	CC		DH	
	Pleno sol	Sombra	Pleno sol	Sombra
A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	9,4 \pm 0,3 a*	2,8 \pm 0,1 a	5,1 \pm 0,3 b*	1,6 \pm 0,2 b
g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	94 \pm 5 a*	40 \pm 8 a	38 \pm 5 b*	19 \pm 1 b
C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$)	215 \pm 7 a	231 \pm 17 b	162 \pm 17 b*	259 \pm 9 a
E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	1,80 \pm 0,11 a*	0,70 \pm 0,09 a	0,90 \pm 0,16 b*	0,39 \pm 0,03 a
F_v/F_m	0,78 \pm 0,01 a*	0,81 \pm 0,01 a	0,78 \pm 0,02 a*	0,80 \pm 0,02 a
TTE ($\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	80,6 \pm 4,9 a*	28,5 \pm 1,0 a	56,0 \pm 7,4 b*	28,1 \pm 1,3 a
Φ_{FSII}	0,18 \pm 0,01 a*	0,60 \pm 0,02 a	0,17 \pm 0,01 a*	0,57 \pm 0,01 a
Φ_{NPQ}	0,40 \pm 0,02 b*	0,05 \pm 0,01 a	0,52 \pm 0,02 a*	0,06 \pm 0,01 a
Φ_{NO}	0,42 \pm 0,02 a*	0,35 \pm 0,02 a	0,31 \pm 0,02 b	0,37 \pm 0,02 a

Estatísticas conforme Tabela 2.

Tabela 4: Relações hídricas [potencial hídrico na antemanhã (Ψ_{am}) e ao meio-dia (Ψ_{md}), taxa de transpiração diária (E_d), condutância hidráulica entre o solo e a folha (K_L), potencial osmótico em turgescência plena ($\Psi\pi_{100}$) e em turgescência nula incipiente ($\Psi\pi_0$), módulo global de elasticidade (ϵ) e teor relativo de água no ponto de perda de turgescência (R_p)] em plantas de *Coffea arabica* submetidas à combinação de condições contrastantes de luz (**pleno sol** e **sombra**) e água [**capacidade de campo** (CC) e **déficit hídrico** (DH)]. Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$).

Variáveis	CC		DH	
	Pleno sol	Sombra	Pleno sol	Sombra
Ψ_{am} (MPa)	-0,05 \pm 0,02 a	-0,03 \pm 0,01 a	-0,65 \pm 0,04 b*	-0,73 \pm 0,01 b
Ψ_{md} (MPa)	-1,10 \pm 0,03 a*	-0,34 \pm 0,01 a	-1,74 \pm 0,03 b*	-1,23 \pm 0,02 b
E_d ($\text{mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$)	22,5 \pm 1,1 a*	15,8 \pm 1,3 a	12,7 \pm 0,8 b*	7,9 \pm 0,3 b
K_L ($\text{mmol MPa}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	1,12 \pm 0,07 a*	1,41 \pm 0,08 a	0,72 \pm 0,03*b	0,81 \pm 0,03 b
$\Psi\pi_{100}$ (MPa)	-1,41 \pm 0,02 b*	-1,23 \pm 0,05 a	-1,71 \pm 0,07 a*	-1,29 \pm 0,05 a
$\Psi\pi_0$ (MPa)	-1,94 \pm 0,06 b*	-1,67 \pm 0,08 a	-2,27 \pm 0,13 a*	-1,74 \pm 0,09 a
ϵ (MPa)	7,48 \pm 0,12 b*	6,43 \pm 0,18 a	8,43 \pm 0,21 a*	6,58 \pm 0,12 a
R_p (%)	91,1 \pm 0,4 a*	88,6 \pm 0,3 a	91,4 \pm 0,4 a*	89,5 \pm 0,5 a

Estatísticas conforme Tabela 2.

As variáveis relacionadas com os pigmentos fotossintéticos não foram influenciadas pelos níveis do fator água. Em geral, plantas à sombra apresentaram maior concentração de Chl (25%), Car (20%) e maior relação Chl/N (26%), quando comparadas com plantas ao sol. A atividade de enzimas antioxidantes foi maior a pleno sol que à sombra, com pequenas alterações causadas pela variação dos níveis de água. A atividade da SOD, CAT, APX e GR foram, em média, 43%, 47%, 24% e 22% superior nas plantas ao sol que à sombra (Tabela 5).

Tabela 5: Nitrogênio (N), pigmentos fotossintéticos [clorofilas (Chl) e carotenóides (Car)] e atividade de enzimas do sistema antioxidante [dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e redutase da glutatona (GR)] em plantas de *Coffea arabica* submetidas à combinação de condições contrastantes de luz (pleno sol e sombra) e água [capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH)]. Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$).

Variáveis	CC		DH	
	Pleno sol	Sombra	Pleno sol	Sombra
N (g kg ⁻¹)	32,6 \pm 1,6 a	34,2 \pm 1,2 a	35,3 \pm 1,5 a	31,4 \pm 1,1 a
Chl (a+b) (g kg ⁻¹ MS)	7,8 \pm 0,3 a*	10,5 \pm 0,4 a	8,1 \pm 0,2 a*	11,1 \pm 0,9 a
Car (g kg ⁻¹ MS)	1,7 \pm 0,1 a*	2,1 \pm 0,1 a	1,7 \pm 0,1 a*	2,2 \pm 0,2 a
Chl/N (mmol mol ⁻¹)	3,8 \pm 0,4 a*	4,7 \pm 0,1 a	3,6 \pm 0,1 a*	5,4 \pm 0,3 a
Chl/Car	4,6 \pm 0,4 a	5,0 \pm 0,1 a	4,8 \pm 0,1 a	5,0 \pm 0,1 a
Chl a/b	2,9 \pm 0,1 a	2,9 \pm 0,0 a	2,9 \pm 0,1 a	2,9 \pm 0,0 a
SOD (U min ⁻¹ mg ⁻¹ Chl)	1336 \pm 69 a*	796 \pm 57 a	1439 \pm 129 a*	777 \pm 54 a
CAT (μ mol min ⁻¹ mg ⁻¹ Chl)	1,22 \pm 0,07 b*	0,54 \pm 0,04 a	1,53 \pm 0,07 a*	0,91 \pm 0,08 a
APX (μ mol min ⁻¹ mg ⁻¹ Chl)	25,3 \pm 1,4 a*	15,9 \pm 1,1 b	26,1 \pm 0,8 a	22,3 \pm 1,6 a
GR (μ mol min ⁻¹ mg ⁻¹ Chl)	0,26 \pm 0,02 b	0,21 \pm 0,02 a	0,32 \pm 0,03 a*	0,24 \pm 0,01 a

Estatísticas conforme Tabela 2.

A composição química do tecido foliar foi alterada principalmente pelos níveis do fator luz, sem alterações significativas associadas ao fator água, à exceção da concentração de (i) AMD e PLN, que apresentaram elevada proporção da variação explicada pelo fator água, e (ii) PRO e AMN, que não foram afetadas significativamente pelos tratamentos aplicados (Tabela 1 e Figura 3I e 3J). Plantas cultivadas sob CC a pleno sol apresentaram maior concentração de AMD quando comparadas com plantas sob a mesma condição hídrica à sombra. Independentemente do nível de luz, plantas cultivadas sob CC apresentaram maior concentração de AMD em relação às plantas sob DH (Figura 3E). Comparando-se a composição química do tecido foliar entre plantas cultivadas em diferentes níveis de luz, independentemente da disponibilidade hídrica,

verificou-se que as concentrações de LIP, FEN, AST e LIG foram superiores nas plantas ao sol em relação às aquelas à sombra, observando-se o inverso no que respeita a CEL e HCE (Figura 3A, 3C, 3G, 3D, 3F e 3H). Sob DH, houve aumento da concentração de PLN, independentemente do nível de AD, com maior concentração de PLN ao sol que à sombra (Tabela 3B)

Plantas cultivadas a pleno sol apresentaram maior E_A sob DH (independente do método de avaliação), porém menor E_L . Entretanto, nas plantas cultivadas à sombra, DH causou redução na eficiência do uso de recursos, a julgar-se pela redução em E_A (independente do método) e E_L . Considerando-se o cultivo de plantas sob CC nos diferentes níveis de luz, o sombreamento contribuiu para aumentar E_L , mas em paralelo a reduções em E_A (Tabela 6).

Tabela 6: Eficiência de uso da água [eficiência instantânea de uso da água (A/E), eficiência intrínseca de uso da água (A/g_s), eficiência de uso da água da planta inteira (B_p/E_c) e composição isotópica do carbono ($\delta^{13}C$)] e eficiência de uso da luz (E_L) em plantas de *Coffea arabica* submetidas à combinação de condições contrastantes de luz (**pleno sol e sombra**) e água [**capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH)**]. Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$).

Variáveis	CC		DH	
	Pleno sol	Sombra	Pleno sol	Sombra
A/E ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$)	100,3 \pm 4,3 b	79,7 \pm 11,1 a	140,2 \pm 11,4 a*	80,7 \pm 5,8 b
A/g_s ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$)	5,3 \pm 0,3 a	4,4 \pm 0,6 a	6,2 \pm 0,8 a*	3,9 \pm 0,2 b
B_p/E_c (mg g^{-1})	7,5 \pm 0,5 a*	3,9 \pm 0,8 a	5,9 \pm 0,4 a*	4,5 \pm 0,4 b
$\delta^{13}C$ (‰)	-24,6 \pm 0,6 b	-25,6 \pm 0,3 a	-22,3 \pm 0,1 a*	-27,3 \pm 0,4 b
E_L ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	7,9 \pm 0,2 a*	14,3 \pm 0,4 a	4,2 \pm 0,3 b*	7,5 \pm 0,9 b

Estatísticas conforme Tabela 2.

4.4 Discussão

A maioria das variáveis analisadas relacionadas com o crescimento mostrou interação fraca ou insignificante nas suas respostas aos níveis dos fatores luz e água. Estes resultados suportam a hipótese de efeitos independentes da interação luz \times água no crescimento do café, i.e. o sombreamento reduziu o crescimento na mesma proporção que o fez o déficit hídrico. A hipótese de efeitos independentes da interação luz \times água é implicitamente apoiada por poucos estudos anteriores (Baruch et al., 2000; Sack e Grubb, 2002; Sack, 2004; Markesteijn e Poorter, 2009).

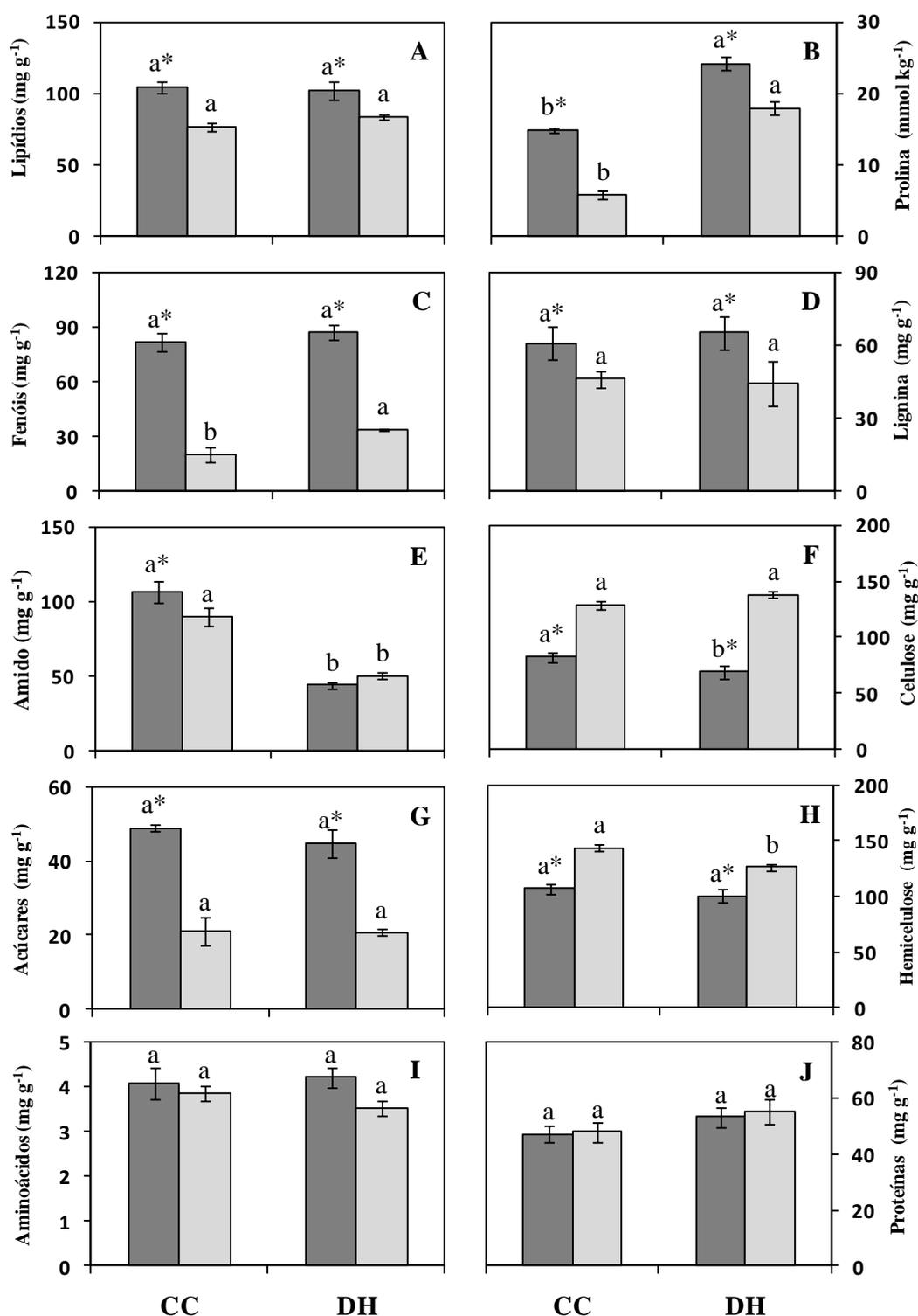


Figura 3: Composição química [lipídios (A), prolina (B), fenóis solúveis totais (C), lignina (D), amido (E), celulose (F), açúcares solúveis totais (G), hemicelulose (H), aminoácidos (I) e proteínas totais (J)] do tecido foliar em plantas de *Coffea arabica* submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [pleno sol (barras escuras) e sombra (barras claras)], e água [capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH)]. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não são significativamente diferentes entre os regimes hídricos para um mesmo nível de luz. Asterisco representa diferença significativa entre os níveis de luz dentro de um mesmo regime hídrico. As médias foram comparadas entre si pelo teste F ($P < 0,05$). Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 5$) e foram expressos em base de massa seca.

A hipótese de competição entre tolerância à seca e tolerância à sombra, com base em uma dicotomia na alocação de recursos acima e abaixo do solo, postulada por Smith e Huston (1989), foi insignificante para os resultados deste estudo, na medida em que apenas ligeiras variações foram observadas entre FMR e FMF em plantas cultivadas à sombra sob DH. Independentemente dos tratamentos, diferenças em TCR foram principalmente associadas com ajustes fisiológicos (ou seja, TAL) em vez de com alterações morfológicas. No geral, os dados não suportam a hipótese de que maior TCR esteja intimamente relacionada com diferenças na alocação de biomassa. Estes resultados estão de acordo com os de Poorter e Nagel (2000) que, revisando observações de literatura, destacaram que a redução em TCR em função da redução da disponibilidade de água e/ou luz foram causadas principalmente por mudanças em TAL e, em menor escala, por mudanças em variáveis morfológicas (FMF e AFE).

A redução dos valores de A , juntamente com redução em g_s e C_i , sem alteração de F_v/F_m , em plantas cultivadas sob déficit hídrico e a pleno sol, indica que a fotossíntese foi, fundamentalmente, limitada pelo fechamento dos estômatos. Como a fixação de CO_2 , que consome a maior fração do poder redutor e ATP produzidos durante a fotoquímica, foi limitada, uma maior quantidade da energia absorvida pelas folhas deveria ser usada na fotoquímica da fotossíntese. Consequentemente, espera-se uma maior pressão de excitação nas folhas das plantas sob déficit hídrico e a pleno sol, o que potencializaria a probabilidade de ocorrência de fotoinibição e fotodanos. Entretanto, mecanismos efetivos para proteger a maquinaria fotossintética contra irradiâncias potencialmente estressantes foram observados: (i) redução da concentração de Chl e da razão Chl/N (Krause, 1988); (ii) aumentos no sistema enzimático antioxidante (Lima et al., 2002; Matos et al., 2009); (iii) redução em Φ_{FSII} e aumento em Φ_{NPQ} (Rodríguez-Calcerrada et al., 2008) e; (iv) maior concentração de fenóis, que podem contribuir significativamente para proteção contra o excesso de energia (Close et al., 2003; Wilhelm e Selmar, 2011) e danos associados à radiação UV-B (Li et al., 1993; Gill e Tuteja, 2010). Isso pressupõe que o cafeeiro tenha habilidade de amenizar os impactos negativos do déficit hídrico, dissipando, termicamente ou por vias não-fotoquímicas, o excesso da energia incidente, o que explicaria, em parte, uma plasticidade relativamente elevada de sua maquinaria fotossintética às variações da irradiância (DaMatta, 2004; Chaves et al., 2008; Matos et al., 2009).

Plantas sob sombreamento intenso, mesmo apresentando uma menor capacidade de dissipar o excesso da energia absorvida, estariam menos sujeitas a processos de fotoinibição devido à menor quantidade de energia que necessitaria ser dissipada (Duan et al., 2005). Este fato, em parte, foi verificado para plantas cultivadas sob déficit hídrico e à sombra (aumento de Chl e da razão Chl/N, aumento em Φ_{FSII} e redução acentuada em Φ_{NPQ}). Contudo, nessas condições, a redução da A ocorreu juntamente com redução em g_s , sem alteração de F_v/F_m e TTE, porém associada com aumento significativo de C_i , sugerindo que a fotossíntese foi limitada por fatores não-estomáticos. Como não houve aumento em Φ_{NPQ} e a atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidativo não foi alterada, outras rotas alternativas de dissipação energética poderiam estar atuando de forma a manter TTE, como a fotorrespiração (Ort e Baker, 2002).

A variação na disponibilidade de umidade do solo durante o experimento foi a mesma em ambos os tratamentos de luz. Entretanto, quando houve redução em AD, plantas a pleno sol tiveram a habilidade de se manter mais bem hidratadas (maior Ψ_{am}). A associação de ajuste osmótico (maior $\Psi\pi_{100}$ e $\Psi\pi_0$) com baixa elasticidade da parede celular (maior ε) contribuiu para uma maior conservação do volume de água do simplasto, fato ilustrado pelos maiores valores de R_p . Conquanto, em café, a manutenção de g_s (e de A) parece depender mais diretamente da conservação do volume do simplasto, em vez da turgescência (Meinzer et al., 1990), sugere-se que a alteração das relações hídricas explicaria, em parte, o maior ganho de carbono (maiores valores de g_s , A , $\delta^{13}C$, TCR e TAL) nas plantas a pleno sol que naquelas à sombra, sob DH.

À sombra, menores teores de carboidratos totais não-estruturais (amido e açúcares solúveis totais) e lignina foram acompanhados por um aumento carboidratos totais (celulose e hemicelulose), como também observado por Niinemets e Kull (1998). Maiores concentrações de lignina e menores teores de carboidratos estruturais pode explicar, em grande parte, as variações em ε encontradas entre os tratamentos. Folhas expandidas à sombra apresentaram maiores dimensões e, portanto, exigem mais apoio estrutural (Niinemets e Kull, 1998), de modo que precisam alocar mais recursos para compostos estruturais como celulose e hemicelulose. Folhas expandidas a pleno sol apresentaram menor área foliar unitária, menor AFE e maior concentração de lipídios e lignina, em relação às folhas expandidas à sombra. Folhas menores são mais adequadas para dissipar o excesso de energia, como acontece a pleno sol, principalmente em condições de limitação hídrica, pois permitem maiores taxas de troca de calor sensível,

podendo refrigerar-se mais eficientemente, sem que isso ocorra às expensas de taxas elevadas de transpiração. Além disso, maior concentração de lipídios poderia estar associada a cutículas mais espessas, contribuindo para a redução da perda de água e aumento da eficiência de seu uso (Larcher, 1995).

As características morfológicas, fisiológicas e estruturais, apresentadas pelas plantas cultivadas à sombra, explicam suas menores E_A e maiores E_L , sendo o efeito exarcebado sob DH. Folhas de café que se expandem em condições de alta irradiância são menores e mais espessas (maior AFE) do que as expandidas à sombra, sendo a espessura da folha fundamentalmente determinada pela espessura das células da paliçada (Matos et al., 2009). Folhas espessas apresentam maior E_A em relação a folhas mais finas (Aranda et al., 2005). A relação negativa entre AFE e $\delta^{13}C$ demonstra, pois, que E_A responde a variações na radiação via alterações na morfologia foliar. A diminuição de AFE é associada a redução da superfície transpirante e aumento do potencial fotossintético (Nobel 1991), trazendo-se, em última instância, em maior E_A . Em contraste, aumento em AFE refletiu-se em aumento de E_L sob sombreamento, particularmente porque tal aumento foi acompanhado por aumentos concomitantes em RAF e Chl, como forma de otimização de captura de luz (Poorter e Nagel, 2000; Sack e Grubb, 2001). A habilidade de alteração de características morfológicas, fisiológicas e estruturais, em função da variação da disponibilidade de água e luz, permite ao cafeeiro uma alta plasticidade fenotípica, confirmando a hipótese deste estudo de que os efeitos da interação luz \times água no crescimento do café são independentes.

4.5 Referências

Antunes WC, Pompelli MF, Carretero DM, DaMatta FM (2008) Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *Annals of Applied Biology* **153**: 33-40.

Aranda I, Castro L, Pardos M, Gil L, Pardos JA (2005) Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak *Quercus suber* L. seedlings. *Forest Ecology and Management* **210**: 117-129.

Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 601-639.

Baruch Z, Pattison RR, Goldstein G (2000) Responses to light and water availability of four invasive Melastomataceae in the Hawaiian Islands. *International Journal of Plant Sciences* **161**: 107-118.

Bates L, Waldren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* **39**:205-207.

- Bligh EG, Dyer WJ** (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37**: 911-917.
- Canham CD, Berkowitz AR, Kelly VR, Lovett GM, Ollinger SV, Schnurr J** (1996) Biomass allocation and multiple resource limitation in tree seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* **26**: 1521-1530.
- Castro J, Zamora R, Hódar JA, Gómez JM** (2004) Seedling establishment of a boreal tree species *Pinus sylvestris* at its southernmost distribution limit: consequences of being in a marginal, Mediterranean habitat. *Journal of Ecology* **92**: 266-277.
- Cataldo DA, Aaron M, Schrader LE, Youngs V** (1975) Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **6**: 71-80.
- Chaves ARM, Ten-Caten A, Pinheiro HA, Ribeiro A, DaMatta FM** (2008) Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. *Trees* **22**: 351-361.
- Chaves MM** (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* **42**: 1-16.
- Close D, McArthur C, Paterson S, Fitzgerald H, Walsh A, Kincade T** (2003) Photoinhibition: a link between effects of the environment on eucalypt leaf chemistry and herbivory. *Ecology* **84**: 2952-2966.
- DaMatta FM** (2004) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research* **86**: 99-114.
- DaMatta FM, Amaral JAT, Rena AB** (1999) Growth periodicity in trees of *Coffea arabica* L. in relation to nitrogen supply and nitrate reductase activity. *Field Crops Research* **60**: 223-229.
- DaMatta FM, Loos RA, Silva EA, Loureiro ME** (2002) Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. *Journal of Plant Physiology* **159**: 975-981.
- Duan B, Lu Y, Yin C, Junttila O, Li C** (2005) Physiological responses to drought and shade in two contrasting *Picea asperata* populations. *Physiologia Plantarum* **124**: 476-484.
- Engelbrecht BMJ, Kursar TA** (2003) Comparative drought-resistance of seedlings of 28 species of co-occurring tropical woody plants. *Oecologia* **136**: 383-393.
- Farquhar GD, O'Leary MH, Berry JA** (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **9**: 121-137.
- Fales FW** (1951) The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. *Journal of Biological Chemistry* **193**: 113-124.
- Gill SS, Tuteja N** (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* **48**: 909-930
- Gómez-Aparicio L, Zamora R, Gómez JM, Hódar JA, Castro J, Baraza E** (2004) Applying plant facilitation to forest restoration in Mediterranean ecosystems: a meta-analysis of the use of shrubs as nurse plants. *Ecological Applications* **14**: 1128-1138.

- Holmgren M** (2000) Combined effects of shade and drought on tulip poplar seedlings: trade-off in tolerance or facilitation? *Oikos* **90**: 67-78.
- Hunt R** (1982) *Plant growth curves. The functional approach to growth analysis*. London, Edward Arnold.
- Hunt R, Causton DR, Shipley B, Askew AP** (2002) A modern tool for classical plant growth analysis. *Annals of Botany* **90**: 485-488.
- Lichthenthaler HK** (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology* **148**: 350-382.
- Karpinski S, Reynolds H, Karpinska B, Wingsle G, Creissen G, Mullineaux P** (1999) The role of hydrogen peroxide and antioxidants in systemic acclimation to photo-oxidative stress in *Arabidopsis*. In: Smallwood MF, Calvert CM, Bowles DJ, eds. *Plant responses to environmental stress*. Oxford, BIOS Scientific Publishers, pp 25-32.
- Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE** (2004) New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research* **79**: 209-218.
- Krause GH** (1988) Photoinhibition of photosynthesis - an evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum*. **74**: 566-574.
- Kubiske ME, Pregitzer KS** (1996) Effects of elevated CO₂ and light availability on the photosynthetic response of trees of contrasting shade tolerance. *Tree Physiology* **16**: 351-358.
- Larcher W** (1995) *Physiological plant ecology*. Berlin, Springer-Verlag.
- Li J, Ou-Lee YM, Raba R, Amundson RG, Last RL** (1993) Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *The Plant Cell* **5**:171-179.
- Lima ALS, DaMatta FM, Pinheiro HA, Totola MR, Loureiro ME** (2002) Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany* **47**: 239-247.
- Markesteyn L, Pooter L** (2009) Seedling root morphology and biomass allocation of 62 tropical tree species in relation to drought- and shade-tolerance. *Journal of Ecology* **97**: 311-325.
- Matos FS, Wolfgramm R, Gonçalves FV, Cavatte PC, Ventrella MC, DaMatta FM** (2009) Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environmental and Experimental Botany* **67**: 421-427.
- Meinzer FC, Grantz DA, Goldstein G, Saliendra NZ** (1990). Leaf water relations and maintenance of gas exchange in coffee cultivars grown in drying soil. *Plant Physiology* **94**: 1781-1787.
- Merino JA, Field CB, Mooney HA** (1984) Construction and maintenance costs of mediterranean-climate evergreen and deciduous leaves. II. Biochemical pathway analysis. *Acta Oecologica* **5**: 211-229.
- Nagakura J, Shigenaga H, Akama A, Takahashi M** (2004) Growth and transpiration of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) and Hinoki cypress (*Chamaecyparis obtuse*) seedlings in response to soil water content. *Tree Physiology* **24**: 1203-1208.

- Niinemets Ü, Kull O** (1998) Stoichiometry of foliar carbon constituents varies along light gradients in temperate woody canopies: implications for foliage morphological plasticity. *Tree Physiology* **18**: 467-479.
- Niinemets Ü, Valladares F** (2004) Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light gradients: optimality and constraints. *Plant Biology* **6**: 254-68.
- Niinemets Ü, Valladares F** (2006) Tolerance to shade, drought and waterlogging of temperate, northern hemisphere trees and shrubs. *Ecological Monographs* **76**: 521-547.
- Nobel PS** (1999) *Physicochemical and environmental plant physiology*. San Diego, Academic Press.
- Ort DR, Baker NR** (2002) A photo protective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis? *Current Opinion in plant Biology* **5**: 193-198.
- Paz H** (2003) Root/shoot allocation and root architecture in seedlings: variation among forest sites, microhabitats, and ecological groups. *Biotropica* **35**:318-332.
- Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves ARM, Fontes EPB, Loureiro ME** (2004) Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science* **167**: 1307-1314.
- Poorter H, Nagel O** (2000) The role of biomass allocation in the growth responses of plants to different levels of light, CO₂ and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 595-607.
- Poorter H, Villar R** (1997) The fate of acquired carbon in plants: Chemical composition and construction costs. In: Bazzaz FA, Grace J, eds. *Resource allocation in plants*. San Diego, Academic Press, pp. 39-72.
- Prider JN, Facelli JM** (2004) Interactive effects of drought and shade on three arid zone chenopod shrubs with contrasting distributions in relation to tree canopies. *Functional Ecology* **18**: 67-76.
- Quero JL, Villar R, Marañón T, Zamora R** (2006) Interactions of drought and shade effects on seedlings of four *Quercus* species: physiological and structural leaf responses. *New Phytologist* **170**: 819-834.
- Ramalho JC, Pons TL, Groenewald HW, Azinheira HG, Nunes MA** (2000) Photosynthetic acclimation to high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 43-51.
- Robichaux BS** (1984) Variation in the tissue water relations of two sympatric Hawaiian *Dubautia* species and their natural hybrid. *Oecologia* **65**: 75-81.
- Rodríguez-Calcerrada J, Reich PB, Rosenqvist E, J. A. Pardos JA, Cano FJ, Aranda I** (2008) Leaf physiological versus morphological acclimation to high-light exposure at different stages of foliar development in oak. *Tree Physiology* **28**: 761-771.
- SAEG** (2007) *Sistema de análises estatísticas e genéticas*: versão 9.1. Viçosa, Fundação Arthur Bernardes.
- Sánchez-Gómez D, Valladares F, Zavala MA** (2006) Performance of seedlings of Mediterranean woody species under experimental gradients of irradiance and water

- availability: trade-offs and evidence for niche differentiation. *New Phytologist* **170**: 795-806.
- Sack L** (2004) Responses of temperate woody seedlings to shade and drought: do trade-offs limit potential niche differentiation? *Oikos* **107**: 110-127.
- Sack L, Grubb PJ** (2002) The combined impacts of deep shade and drought on the growth and biomass allocation of shade-tolerant woody seedlings. *Oecologia* **131**: 175-185.
- van Soest PJ, Robertson JB** (1985). *Analysis of forages and fibrous foods*. Ithaca, Cornell University.
- Slot M, Poorter L** (2007) Diversity of tropical tree seedling responses to drought. *Biotropica* **39**: 683-690.
- Smirnoff N** (1995). Antioxidant systems and plant response to the environment. In: Smirnoff N. ed. *Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation*. Oxford, BIOS Scientific Publishers, pp 217-243.
- Smith TM, Huston ML** (1989) A theory of the spatial and temporal dynamics of plant communities. *Vegetatio* **83**: 49-69.
- Tyree MT, Engelbrecht BMJ, Vargas G, Kursar TA** (2003) Desiccation tolerance of five tropical seedlings in Panama. Relationship to a field assessment of drought performance. *Plant Physiology* **132**: 1439-1447.
- Valladares F, Niinemets Ü** (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **39**: 237-257.
- Valladares F, Pearcy RW** (2002) Drought can be more critical in the shade than in the sun: a field study of carbon gain and photoinhibition in a Californian shrub during a dry el Niño year. *Plant, Cell and Environment* **25**: 749-759.
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Pearcy RW** (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* **81**: 1925-1936.
- Wilhelm C, Selmar D** (2011) Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. *Journal of Plant Physiology* **168**: 79-87.

V. CONCLUSÕES GERAIS

Evidenciou-se, neste trabalho, que a magnitude de PF de uma determinada variável depende da importância que essa variável tem na determinação do desempenho da planta. Foi também demonstrado que o padrão de IF altera a expressão de PF. Portanto, sugere-se que PF e IF sejam processos complementares, e não mutuamente exclusivos. A expressão da plasticidade em resposta à disponibilidade de luz e água é, pois, dependente do padrão de covariação entre características funcionais e difere entre ambientes, como forma de responder às alterações na disponibilidade de recursos de forma integrada. Com efeito, conclui-se que IF sob sombreamento e DH, condições em que o ganho de C é reduzido, é limitada como forma de limitar a plasticidade da planta como um todo, evitando grandes alterações do fenótipo e, portanto, o desenvolvimento de plasticidade mal-adaptativa.

Os resultados também suportam que, concomitantemente às baixas taxas fotossintéticas *in situ*, altas concentrações de N e de compostos secundários devem afetar sobretudo a economia do C, CCO e CMT em folhas de café. A maior proporção do N (>70%) foi alocada em compostos não associados à fotossíntese e, portanto, uma baixa eficiência fotossintética do uso do N se torna implícita, independentemente da disponibilidade de luz e de água. Os resultados sugerem que a partição de N para rotas metabólicas outras que a fotossíntese possa ter precedência em café. Coletivamente, essas informações suportam os altos requerimentos em N pelo café e a sua baixa eficiência do uso desse elemento. As relações entre os compostos químicos e TCR encontradas neste estudo não comprovam a existência de respostas dicotômicas entre o investimento energético para compostos associados diretamente com o crescimento e com a defesa. Aqui, maior TCR foi positivamente associada com maior concentração de FEN, que, por seu turno, foi correlacionada negativamente com AFE. Maior concentração de FEN, além de contribuir para as defesas da planta contra estresses bióticos, pode também contribuir significativamente para proteção contra o excesso de energia. Coletivamente, essas informações sugerem que a capacidade da planta de

aumentar o seu potencial de defesa sem comprometer o crescimento pode ser uma estratégia para que a espécie, originalmente de sombra, possa crescer e produzir mais a pleno sol que à sombra. Nesse contexto, o aumento da capacidade de defesa contra estresses levaria ao aumento da capacidade de crescimento em ambientes potencialmente estressantes.

Adicionalmente, os resultados deste trabalho ajudam entender aos impactos combinados da disponibilidade de luz e de água sobre o crescimento e desenvolvimento do cafeeiro. A capacidade de modificar suas características morfológicas, fisiológicas e estruturais, em resposta a variações no fornecimento de recursos, confere ao cafeeiro uma alta plasticidade fenotípica, principalmente em resposta à luz, suportando a hipótese de que os efeitos da interação luz \times água são independentes. Portanto, ao contrário do que foi sugerido anteriormente, o sombreamento não deve ser recomendado como uma prática cultural para aliviar os impactos da seca na cultura do café, a menos que as plantas estejam crescendo em áreas sujeitas a uma combinação de seca e elevadas temperaturas.