

MARIELA MATTOS DA SILVA

**PLASTICIDADE DO CAFEIEIRO À LUZ: RESPOSTAS
MORFOFISIOLÓGICAS EM GENÓTIPOS DE *Coffea*
arabica L.**

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
2013**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

Silva, Mariela Mattos da, 1983-

S586p
2013

Plasticidade do cafeeiro à luz : respostas morfofisiológicas
em genótipos de *Coffea arabica* L. / Mariela Mattos da Silva. –
Viçosa, MG, 2013.

ix, 60 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Fábio Murilo da Matta.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Adaptação (Fisiologia). 2. Plantas - Efeito da luz.
3. *Coffea arabica*. 4. Fotossíntese. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de
Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. II. Título.

CDD 22 ed. 571.2

MARIELA MATTOS DA SILVA

**PLASTICIDADE DO CAFEIEIRO À LUZ: RESPOSTAS
MORFOFISIOLÓGICAS EM GENÓTIPOS DE *Coffea*
arabica L.**

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: 28 de maio de 2013.

Raimundo Santos Barros

Wagner Luiz Araújo

Paulo Cezar Cavatte

Kelly da Silva Coutinho Detmann

Fábio Murilo DaMatta
(Orientador)

Àqueles que amo e que sempre me apoiaram nesta jornada.

*Aos meus pais, Nildo e Lourdes, por todo carinho, dedicação, suporte e incentivo na
realização dos meus sonhos.*

*Ao meu amor, Charles, pela compreensão e companheirismo. Por sempre me apoiar,
onde quer que eu fosse.*

Ofereço e dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

A Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Departamento de Biologia Vegetal e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade, suporte e auxílio na realização deste trabalho.

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

Ao professor Fábio Murilo DaMatta, pela orientação, comprometimento, empenho e amizade durante toda minha caminhada.

Aos professores Raimundo Barros, Wagner Araújo, Paulo C. Cavatte e Kelly da Silva C. Detmann, pela colaboração, orientação e sugestões para melhoria deste trabalho.

A todos os professores do curso de Fisiologia Vegetal, pelos ensinamentos, incentivos e paciência durante o curso.

Aos meus pais, Nildo e Lourdes, pelo apoio incondicional. Por mostrar o amor por mim nas coisas pequenas e nas grandes. À minha família, irmãs, sobrinhos, tios, primos e aos meus amigos que, apesar dos momentos de ausência, sempre me apoiavam e estimulavam a continuar pela estrada.

A Charles, pelo amor e apoio. Pela compreensão nas horas de desânimo e pela paciência nas horas de estresse. Por estar ao meu lado e me fazer sorrir... sempre!

A todos os integrantes, ex-integrantes e amigos do Grupo Café: Alice, Alyne, Daniele, Gustavo, Josimar, Kelly, Leandro, Lílian, Lucas, Marco Antônio, Medina, Nelson, Paulo Cezar, Paulo Eduardo, Ricardo, Rodrigo, Samuel e Yesid, pela ajuda em todos os momentos durante a realização deste trabalho e por serem minha família em Viçosa. Alguns já encontraram seus caminhos ou irão daqui pra frente, mas espero que a amizade forjada perdure por toda vida. Pelos dias, noites e madrugadas de risos sempre dispostos a ajudar onde ou quando quer que fosse. Sempre me lembrarei de vocês com carinho, com saudade de uma época que fica pra trás, mas que sempre vai ficar no coração.

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

Aos amigos e colegas da Fisiologia, em especial a Alice Pita, Marcel, Flávio e Danilo, por toda amizade e companherismo sempre que precisei.

A todos aqueles que possibilitaram minha chegada até aqui e adicionaram mais vida a minha caminhada, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| RESUMO | vi |
| ABSTRACT | viii |
| I. Introdução Geral..... | 1 |
| 1.1 Referências..... | 6 |
| II. Capítulo 1: Variações intra-específicas na aclimação da maquinaria fotossintética do cafeeiro a condições contrastantes de luz..... | 09 |
| 2.1 Introdução..... | 09 |
| 2.2 Material e Métodos | 12 |
| 2.2.1 Material Vegetal e condições de cultivo | 12 |
| 2.2.2 Avaliações fotossintéticas | 13 |
| 2.2.3 Análises bioquímicas | 14 |
| 2.2.3.1 Quantificação de pigmentos fotossintéticos | 14 |
| 2.2.3.2 Enzimas e metabólitos envolvidos no metabolismo antioxidativo e danos celulares..... | 14 |
| 2.2.3.3 Análises químicas do tecido foliar e custos de manutenção | 15 |
| 2.2.4 Plasticidade fenotípica | 16 |
| 2.2.5 Análises estatísticas | 17 |
| 2.3 Resultados | 17 |
| 2.3.1 Parâmetros fotossintéticos..... | 17 |
| 2.3.2 Decomposição da extinção não-fotoquímica | 18 |
| 2.3.3 Pigmentos fotossintéticos..... | 21 |
| 2.3.4 Relações entre q_N , q_E e ciclo das xantofilas | 22 |
| 2.3.5 Sistema antioxidante e estresse oxidativo | 23 |
| 2.3.6 Uso de recursos | 24 |
| 2.3.7 Plasticidade fenotípica | 25 |
| 2.4 Discussão..... | 27 |
| 2.5 Referências..... | 32 |

| | |
|--|-----------|
| III. Capítulo 2: Limitações da fotossíntese do cafeeiro: fatores estomáticos e hidráulicos governam as variações diurnas em <i>Coffea arabica</i> L. | 39 |
| 3.1 Introdução | 39 |
| 3.2 Material e Métodos | 41 |
| 3.2.1 Material Vegetal e condições de cultivo | 41 |
| 3.2.2 Avaliações fotossintéticas | 42 |
| 3.2.3 Condutividade hidráulica foliar | 44 |
| 3.2.4 Análises estatísticas | 44 |
| 3.3 Resultados | 45 |
| 3.4 Discussão | 48 |
| 3.4.1 Variações diurnas da condutância estomática e mesofílica influenciam a eficiência do uso da água em cafeeiro..... | 48 |
| 3.4.2 Aspectos estomáticos da limitação fotossintética | 49 |
| 3.4.3 Condutância estomática do cafeeiro é determinada pelo K_F e DPV . | 51 |
| 3.5 Referências..... | 53 |
| IV. Conclusões gerais | 59 |

RESUMO

SILVA, Mariela Mattos da. D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, maio de 2013. **Plasticidade do cafeeiro à luz: respostas morfofisiológicas em genótipos de *Coffea arabica* L.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

No presente trabalho, três genótipos de *Coffea arabica* L., submetidos a condições contrastantes de luz (pleno sol e sombra), foram avaliados a fim de determinarem-se os possíveis efeitos do sombreamento sobre: (i) as características do sistema fotoprotetor e antioxidativo, (ii) os custos de construção e manutenção do tecido vegetal, (iii) a plasticidade fenotípica e suas relações com a tolerância à sombra, bem como (iv) determinar os possíveis fatores determinantes das limitações impostas à fotossíntese. Para tal, plantas foram cultivadas por um ano sob sombreamento (10% da radiação solar) e a pleno sol, e avaliadas após a emissão do oitavo par de ramos plagiotrópicos. Na primeira seção, testou-se a hipótese de que cultivares mais modernas (Catuaí) apresentariam maior plasticidade de características associadas ao sistema antioxidativo e fotoprotetor que aquelas mais antigas (Typica), presumivelmente com menor tolerância a alta luminosidade. Os resultados mostraram que, de modo geral, as variáveis fotossintéticas avaliadas pouco responderam aos tratamentos impostos, apesar de as plantas a pleno sol tenderem a apresentar valores superiores aos das plantas à sombra (exceto a eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do fotossistema II, F_v'/F_m' , e o coeficiente de extinção fotoinibitório (q_I)). Os aumentos da atividade antioxidante foram associados a aumentos das defesas enzimáticas e não enzimáticas (carotenoides e fenóis). Entretanto, esses mecanismos não evitaram a ocorrência de danos oxidativos em Bourbon e Typica ao sol, visto que aumentos do conteúdo de aldeído malônico foram observados. Em particular, Typica apresentou as menores concentrações de zeaxantina (Zea) a pleno sol, associados a aumentos em q_I em resposta ao aumento da disponibilidade de luz nas plantas ao sol. Uma vez que Zea parece possuir um importante papel em processos que contribuem para formação de q_I , os aumentos observados em Typica podem ser um resultado das reduções das concentrações de Zea a pleno sol, podendo explicar a suscetibilidade dessa cultivar à fotoinibição. Por outro lado, os maiores teores de Zea em Catuaí e Bourbon podem

ter contribuído para a redução de q_1 e aumento da proteção contra fotodanos. Os custos de construção e manutenção (CM) foram superiores nas plantas a pleno sol, embora nessas plantas CM tenha sido maior nas plantas de Typica a pleno sol. Assim, a adaptação da cultivar Catuaí à altas irradiâncias parece estar relacionada a mecanismos fotoprotetores e antioxidativos mais eficientes, bem como uma maior plasticidade fotossintética. Por outro lado, embora tenha apresentado uma maior plasticidade fenotípica associada ao sistema antioxidante, a cultivar Typica mostrou maiores riscos de ocorrência de fotodanos e fotoinibição sob altas irradiâncias. Na segunda seção, foram analisadas as contribuições dos principais fatores que governam as modificações da fotossíntese ao longo do dia em *C. arabica*, bem como a contribuição das variações intraespecíficas na capacidade hidráulica foliar e sua influência sobre as potenciais diferenças de produção observadas entre genótipos modernos em relação àqueles que retiveram características associadas à tolerância a sombra. Os resultados mostraram que, embora as taxas fotossintéticas líquida (A) ao longo do dia tenham seguido o mesmo padrão de comportamento observado na condutância estomática (g_s) e condutância mesofílica (g_m), a pleno sol, o ajustamento da abertura estomática ao longo do dia foi o principal fator determinante da fotossíntese em cafeeiro (mais que 40% da limitação total), dentre as variáveis analisadas. As limitações estomáticas mostraram maior importância na explicação das baixas taxas fotossintéticas, seguida das limitações mesofílicas e bioquímicas, que tenderam a apresentar magnitudes de importância semelhante. Observaram-se fortes correlações entre g_s , déficit de pressão de vapor (DPV) e, especialmente condutância hidráulica (K_F), indicando que K_F atuaria como o fator primário na redução de g_s . Destaca-se, ainda, que, embora Typica possua uma capacidade fotossintética semelhante à das demais cultivares, sua maior limitação fotossintética pode ser resultado de uma arquitetura hidráulica menos robusta, podendo constituir-se em um fator de destaque na redução da produtividade dessa cultivar quando cultivada a pleno sol.

ABSTRACT

SILVA, Mariela Mattos da. D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, May, 2013. **Plasticity of coffee to light: morphological and physiological responses in genotypes of *Coffea arabica* L.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta.

In this study, three genotypes of *Coffea arabica* L., subjected to contrasting light conditions (full sun and shade), were assessed to investigate the possible effects of shading on: (i) the characteristics of the photoprotective and antioxidative system, (ii) the costs of construction and maintenance of the plant tissues, (iii) the phenotypic plasticity and its relationship with shade tolerance, and (iv) to evaluate the key limiting processes to photosynthesis. To this goal, plants were grown either under shade for a year (10 % of solar radiation) or full sun light, and evaluated after the appearance of the eighth pair of plagiotropic branches. In the first section, we tested the hypothesis that modern cultivars (Catuaí) display higher plasticity associated with antioxidative and photoprotective system than older cultivars (Typica), presumably with less tolerance to high irradiances. The results showed that, overall, the photosynthetic variables evaluated responded little, if any, to the treatments, although full sun plants tend to have higher values than those in the shade (except the efficiency of excitation energy capture by open photosystem II reaction centers, F_v'/F_m' , and the photoinhibitory quenching coefficient, q_I). Increases in antioxidant activity were associated with increases in enzymatic and non-enzymatic defenses (carotenoids and phenols). However, these mechanisms did not prevent the occurrence of oxidative damage in Typica and Bourbon plants grown under full sun, as judged from the increases in malondialdehyde content. Particularly, Typica presented the lowest concentrations of zeaxanthin (Zea) in full sun plants, with increases in q_I in response to high light availability in sun plants. Given that Zea seems to have an important role in processes involved in q_I formation, the observed increases in Typica may be a result of reductions in concentrations of Zea in full sun plants, and could explain the susceptibility of this cultivar to photoinhibition. Furthermore, the highest levels of Zea in Catuaí and Bourbon may have contributed to the reduction of q_I and increased protection against photodamages. Higher costs of construction and maintenance (CM) were found in sun-expanded leaves, mainly in Typica plants. It is suggested that the adjustment of the Catuaí plants to high irradiances may be related to more efficient antioxidative and photoprotective

mechanisms, and greater photosynthetic plasticity. Moreover, although having a higher phenotypic plasticity associated with antioxidant system, Typica plants showed higher risks of suffering from photodamage and photoinhibition at high light intensities. In the second section, it was analyzed the contributions of the main factors that govern the changes of photosynthesis throughout the day in *C. arabica*, and the contribution of intraspecific variation in leaf hydraulic capacity and its potential influence on the differences observed between modern genotypes compared to those that retained characteristics associated with tolerance to shade in the field. The results showed that, although the photosynthetic rates (A) throughout the day have followed the same pattern as that of stomatal conductance (g_s) and mesophyll conductance (g_m), the diurnal adjustment of stomatal aperture was the main limiting factor to photosynthesis in coffee in full sun plants (more than 40 % of the total limitation). Stomatal limitations were, thus, of great importance to explain the low photosynthetic rates in coffee, followed by mesophilic and biochemical limitations, which tended to have similar magnitudes (and similar importance). Strong correlations were observed between g_s , vapor pressure deficit and particularly, leaf hydraulic conductance (K_L), indicating that K_L might act as the primary factor in the reduction of g_s . Notably, although Typica plants display a photosynthetic capacity similar to that of other cultivars, a major constraint on the maximization of photosynthetic rates may be the result of a less robust hydraulic architecture, which might at least partially explain the low productivity of this cultivar when grown in full sun.

I. INTRODUÇÃO GERAL

O café é a *commodity* tropical mais comercializada no mundo. Sua cadeia produtiva sustenta 120 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo a vasta maioria pequenos cafeicultores em países em desenvolvimento, representando um valor agregado bruto anual de mais de 458 bilhões de dólares (IOC, 2013). Sua produção perfaz a base econômica de mais de 50 países em desenvolvimento, com influxo de capital estrangeiro que alcança 80% em alguns países africanos. Dentre outras culturas, como chá, cacau e especiarias, o café foi responsável por um terço das expansões observadas nas exportações globais, que triplicaram entre 2000 e 2010, de 29 bilhões para 79 bilhões de dólares (FAO, 2013). Apenas *Coffea arabia* e *C. canephora*, dentre cerca de 100 espécies do gênero *Coffea*, possuem importância econômica, respondendo por 99% da produção mundial de café. O café arábica teve sua origem nas florestas tropicais da Etiópia, podendo ser encontrado como vegetação de sub-bosque e tendo, dessa forma, desenvolvido mecanismos morfológicos e fisiológicos de adaptação, visando primariamente à sobrevivência e à perpetuação da espécie em tais condições.

O primeiro café introduzido no Brasil, em 1727, foi o café ‘Nacional’ ou ‘Crioulo’, descrito botanicamente como ‘Typica’, em 1913, por Cramer. A cultivar Typica foi a responsável pelo grande desenvolvimento inicial da cultura no país. A cv. ‘Bourbon Vermelho’ foi, mais tarde, uma introdução da ilha de Reunião, oficialmente realizada pelo governo para ser plantada no Rio de Janeiro (Medina Filho et al., 2008). Atualmente, as cultivares mais difundidas foram geneticamente selecionadas para apresentarem alta produção em condições de pleno sol e, quando associada ao uso intensivo de insumos, a produtividade tende a ser superior em relação à dos cultivos sombreados (DaMatta, 2004), como a cultivar ‘Catuaí Vermelho’, oriunda de seleções do cruzamentos artificial entre ‘Caturra Amarelo’ e ‘Mundo Novo’ (Medina Filho et al., 2008). Entretanto, a atual preocupação com o cenário de mudanças climáticas e a busca em dotar um determinado produto de características que o torne diferenciado – como a produção de variedades especiais, plantio orgânico ou selos de sustentabilidade ecoambiental – têm renovado o interesse dos produtores de café para implantação de plantios sombreados (DaMatta e Rena, 2002).

Devido à heterogeneidade da luz em ambientes naturais, plantas da mesma espécie, diferentes folhas da mesma planta, bem como a mesma folha em diferentes fases ontogenéticas, podem estar expostas a diferentes regimes de luz (Valladares et al., 2000). A disponibilidade de luz é um dos fatores ambientais que podem afetar as características estruturais e funcionais das folhas, acarretando alterações no padrão de crescimento e produção das plantas (Björkman, 1981). Plantas que apresentam plasticidade, ou seja, capacidade de ajustar o seu desempenho via modificações em sua morfologia e/ou fisiologia, em resposta a alterações das condições ambientes (Valladares e Niinemets, 2008), são capazes de responder diferencialmente à disponibilidade de irradiância por meio de alterações, desde o nível subcelular até níveis macroscópicos (Evans e Poorter, 2001).

A aclimação da folha a mudanças ambientais ocorre principalmente por meio de modificações em sua (i) morfologia (e.g., forma e posição da folha), (ii) anatomia (e.g., densidade, número e espessura de camada de células), e (iii) fisiologia (e.g., síntese de proteínas e atividade associadas a captura de luz, transporte de elétrons e fixação de carbono) (Delagrangue, 2011). Tais modificações apresentam importante papel em plantas, uma vez que levam em conta, numa escala espacial e temporal, a habilidade das plantas em perceberem e responderem à diferentes ecossistemas. Em uma escala temporal, a plasticidade facilita a sobrevivência e o potencial de especialização da espécie, enquanto em nível individual, a expressão da plasticidade fenotípica é acompanhada pelo potencial de discriminação entre condições ambientais mais favoráveis ao crescimento (Ackerly, 2003).

Resultados contraditórios têm sido encontrados quanto à plasticidade do cafeeiro à luz. Embora trabalhos tenham mostrado que, sob irradiâncias relativamente baixas, o cafeeiro pode apresentar respostas comuns a plantas adaptadas a ambientes sombreados – como baixas irradiâncias de compensação e de saturação (Rena et al., 1994), aumento da área foliar específica, além de redução na quantidade e na atividade da rubisco (Kanechi et al., 1996) – adaptações típicas à plena irradiância também têm sido observadas em cafeeiros submetidos a alta disponibilidade lumínica – como o aumento da espessura da cutícula, cloroplastos com menos *grana* e menos tilacóide por *granum* (Fahl et al., 1994), sugerindo uma elevada plasticidade fotossintética às variações de luz (DaMatta, 2004).

Por outro lado, Araújo et al. (2008) demonstraram que as variáveis fisiológicas diretamente envolvidas com o ganho de carbono via fotossíntese, tampouco aquelas relacionadas com a captura de luz, não se alteraram em paralelo com a capacidade potencial da maquinaria fotossintética do cafeeiro, em resposta às variações de luz. Da mesma forma, Chaves et al. (2008) não observaram indícios de fotoinibição, ou variações significativas na capacidade de dissipação térmica ou não-fotoquímica do excesso de energia de excitação para um dado nível de irradiância. Além disso, não foram observadas diferenças na extensão de fotodanos entre as folhas de plantas cultivadas a pleno sol ou sob 50% de sombreamento. Contudo, a baixa plasticidade fisiológica observada por tais autores poderia estar relacionada ao fato de que, nesses estudos, a magnitude do sombreamento imposto às folhas do cafeeiro não seria suficientemente baixa para ativar mecanismos relacionados à aclimação das folhas da espécie. No sentido de elucidar tais questões, Matos et al. (2009) avaliaram a plasticidade fenotípica do cafeeiro em condições de campo, sob sombreamento intenso. Esses autores mostraram que folhas de café apresentaram alta plasticidade fenotípica de caracteres fisiológicos/bioquímicos, como dissipação térmica do excesso de energia absorvida, enquanto características morfoanatômicas apresentariam um papel secundário na aclimação à variação da irradiação.

De um ponto de vista evolutivo e ecológico, plantas cultivadas sob condições adversas apresentariam menor plasticidade fenotípica, uma estratégia relacionada ao uso conservativo de recursos em espécies originárias de ambientes limitantes com recursos restritos para aclimação (Valladares et al., 2000). Acredita-se que, por fisiologicamente otimizarem a captura de luz sob sombreamento intenso, tais plantas tendem a comprometer sua capacidade de responder ao aumento da disponibilidade de luz (Givnish, 2002). Por meio de uma combinação de características morfoanatômicas e fisiológicas/bioquímicas, pode-se inferir a existência de um conflito entre plasticidade fisiológica e plasticidade morfológica. Embora alguns autores sugiram que espécies tolerantes/demandantes de sombra tendam a apresentar uma maior plasticidade para caracteres morfológicos que para variáveis fisiológicas, o café, embora tenha evoluído em ambientes sombreados, parece exibir um baixo grau de plasticidade em sua morfologia foliar, em resposta à irradiância (Valladares et al., 2006; Matos et al., 2009).

Sob condições atmosféricas de CO₂ e luz saturante, o cafeeiro apresenta baixas taxas fotossintéticas (A), quando comparadas com as de outras espécies

tropicais, variando normalmente de 4-11 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Silva et al., 2004; Franck et al., 2006; DaMatta et al., 2010). Mesmo sob condições bem irrigadas, a condutância estomática (g_s) de folhas do cafeeiro é extremamente sensível ao déficit de pressão de vapor (DPV), e drásticas reduções ocorrerem com o aumento do DPV (Ronquim et al. 2006; Araújo et al., 2008; Chaves et al. 2008; Franck e Vaast, 2009; Batista et al., 2012), acarretando em reduções progressivas da fotossíntese ao longo do dia, que podem alcançar valores muito baixos ao final da tarde (Batista et al., 2012), indicando que a baixa taxa de fotossíntese poderia ser um resultado de limitações difusivas impostas ao processo fotossintético. Uma vez que a capacidade hidráulica do sistema vascular é o principal determinante de g_s (Brodribb e Holbrook, 2003), e que espécies como o cafeeiro tendem a apresentar menores valores de condutância hidráulica foliar (K_F) (Gascó et al., 2004), uma forte resposta estomática ao DPV poderia estar relacionada a um sistema hidráulico menos robusto, podendo ser o principal responsável pelo declínio diário na fotossíntese nas folhas de café. Embora trabalhos anteriores tenham mostrado a influência do DPV sobre o padrão diário da fotossíntese no cafeeiro (Araújo et al., 2008; Chaves et al. 2008; Batista et al., 2012), pouco se sabe sobre as contribuições dos diferentes fatores difusivos (estomáticos e mesofilicos), e sua associação às limitações impostas pela hidráulica foliar em café.

Considerando-se que, em muitas situações, cafezais a pleno sol podem produzir mais que aqueles sombreados (DaMatta e Rena, 2002), sugere-se, pois, que uma considerável variação genética dentro de *C. arabica* possa ocorrer quanto à plasticidade da espécie à intensidade da irradiância. Uma eficiente exploração dessa plasticidade em programas de melhoramento poderia explicar o sucesso do cultivo do cafeeiro tanto à sombra como a pleno sol, uma vez que cultivares atualmente selecionadas devem apresentar, potencialmente, adaptações a altas irradiâncias em extensão superior às de populações selvagens ou pouco produtivas quando cultivadas a pleno sol (DaMatta, 2004). Essa hipótese, se confirmada, poderá explicar, pelo menos parcialmente, os resultados contraditórios encontrados com relação à plasticidade do cafeeiro em resposta à irradiância. Com efeito, a maioria dos trabalhos que investigaram a resposta do cafeeiro à luz foi limitada à avaliação de apenas um genótipo sob diferentes intensidades luminosas. Por isso, estudos em que se avaliem as respostas de genótipos contrastantes quanto aos requerimentos de luz poderiam explicar a possível plasticidade à luz dentro da espécie, bem como,

proporcionar ampliação do conhecimento dos mecanismos que conferem variabilidade de respostas da espécie às distintas intensidades de luz.

Nesse sentido, este trabalho buscou responder às seguintes questões:

- (i) *Genótipos atualmente selecionados para condições de pleno sol apresentariam maior plasticidade em seus caracteres fisiológicos?*
- (ii) *Quais são as principais características limitantes à fotossíntese do cafeeiro?*
- (iii) *O cultivo do cafeeiro a pleno sol estaria relacionado ao maior investimento em mecanismos fotoprotetores das cultivares modernas?*

Para responder às questões acima, este trabalho teve por objetivo avaliar a contribuição de características fisiológicas e bioquímicas na plasticidade intraespecífica do café arábica a ambientes lumínicos distintos.

Referências

Ackerly, DD (2003) Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *Int J Plant Sci* **164**: 165-184

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 Physiol Biochem* **46**: 894-890

Batista D, Araújo WL, Antunes WC, Cavatte PC, Moraes GABK, Martins SCV, DaMatta FM (2012) Photosynthetic limitations in coffee plants are chiefly governed by diffusive factors. *Trees* **26**: 459-468

Björkman O (1981) Responses to different quantum flux densities. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Zeigler H (eds). *Encyclopedia of Plant Physiology*. Springer, Berlin, v 12A, 57-107

Brodribb TJ, Holbrook MN (2003) Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiol* **132**: 2166-2173

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

DaMatta FM (2004) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Res* **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*. UFV, Viçosa, pp. 93-135

DaMatta FM, Ronchi CP, Maestri M, Barros RS (2010) Coffee: environment and crop physiology. In: DaMatta FM (ed). *Ecophysiology of tropical tree crops*. Nova Science Publishers, New York, 181-216

Delagrangre S (2011) Light- and seasonal-induced plasticity in leaf morphology, N partitioning and photosynthetic capacity of two temperate deciduous species. *Environ Exp Bot* **70**: 1-10

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 Environ* **24**: 755-767

Fahl JI, Carelli MLC, Vega J, Magalhães AC (1994) Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica* L.). *J Hort Sci* **69**: 161-169

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013) Feeding the world, Part 3. In: *FAO Statistical Yearbook: World Food and Agriculture*. FAO, Roma, 123-199

Franck N, Vaast P, Génard M, Dauzat J (2006) Soluble sugars mediate sink feedback down-regulation of leaf photosynthesis in field-grown *Coffea Arabica*. *Tree Physiol* **26**: 517-525

Franck N, Vaast F (2009) Limitation of coffee leaf photosynthesis by stomatal conductance and light availability under different shade levels. *Trees* **23**: 761-769

Gascó A, Nardini A, Salleo S (2004) Resistance to water flow through leaves of *Coffea arabica* is dominated by extra-vascular tissues. *Funct Plant Biol* **31**: 1161-1168

Givnish TJ (2002) Adaptive significance of evergreen vs deciduous leaves: solving the triple paradox. *Silva Fenn* **36**:703-743

ICO, International Coffee Organization (2013) Belo Horizonte Declaration: 12 setembro de 2013. Disponível em: <<http://www.ico.org/documents/cy2012-13/belo-horizonte-declaration-e.pdf>>. Acesso em 16/10/2013

Kanechi M, Uchida NU, Yasuda T, Yamaguchi T (1996) Nonstomatal inhibition associated with inactivation of rubisco in dehydrated coffee leaves under unshaded and shaded conditions. *Plant Cell Physiol* **37**: 455-460

Matos FS, Wolfgramm R, Gonçalves FV, Cavatte PC, Ventrella MC, DaMatta FM (2009) Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environ Exp Bot* **67**: 421-427

Medina Filho HP, Bordignon R, Carvalho, CHS (2008) Desenvolvimento de novas cultivares de Café arábica. In: Carvalho CHS (ed.) *Cultivares de café: origem, características e recomendações*. Embrapa Café. Brasília, DF. 79-102

Rena AB, Maestri M, Barros RS, Söndahl MR (1994) Coffee. In: Schaffer B, Andersen PC (eds). *Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops: subtropical and tropical crops*. CRC Press, Boca Raton, 101-122

Ronquim JC, Prado CHBA, Novaes P, Fahl JI, Ronquim CC (2006) Carbon gain in *Coffea arabica* during clear and cloudy days in the wet season. *Exp Agric* **42**: 147–164

Silva EA, DaMatta FM, Ducatti C, Regazzi AJ, Barros RS (2004) Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of arabica coffee trees. *Field Crops Res* **89**: 349-357

Silva EA, DaMatta FM, Ducatti C, Regazzi AJ, Barros RS (2004) Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of arabica coffee trees. *Field Crops Res* **89**: 349-357

Valladares F, Martinez-Ferri, Balaguer L, Perez-Corona E, Manrique E (2000) Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytol* **148**: 79-91

Valladares F, Niinemets Ü (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu Rev Ecol Evol Syst* **39**: 237-257

Valladares F, Sanchez-Gomez D, Zavala MA (2006). Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J Ecol* **94**: 1103-1116

II. CAPÍTULO 1

Variações intra-específicas na aclimação da maquinaria fotossintética do cafeeiro à condições contrastantes de luz

Introdução

Devido à heterogeneidade da luz em ambientes naturais, plantas da mesma espécie, diferentes folhas da mesma planta, bem como a mesma folha em diferentes fases ontogenéticas, podem estar expostas a diferentes regimes de luz (Valladares et al., 2000). A disponibilidade de luz é um dos mais importantes fatores ambientais que pode afetar as características estruturais e funcionais das folhas, acarretando alterações no padrão de crescimento e produção das plantas (Björkman, 1981). Plantas de uma mesma espécie que apresentem genótipos distintos são capazes de se desenvolver em habitats de alta heterogeneidade ambiental (Sultan, 2000; Lehmann e Rebele, 2005). A plasticidade de tais plantas, ou seja, a capacidade em ajustar o seu desempenho via modificações morfológicas e/ou fisiológicas, em resposta a alterações das condições ambientes (Valladares e Niinemets, 2008), pode responder diferencialmente à disponibilidade de irradiância por meio de alterações, desde o nível subcelular até níveis macroscópicos (Evans e Poorter, 2001). Em todo o caso, devido 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). Dependendo da magnitude das condições ambientais, esses custos podem variar, sendo particularmente importantes em ambientes estressantes (Steinger et al., 2003).

O café é a *commodity* tropical mais comercializada no mundo. Sua cadeia produtiva sustenta 120 milhões de pessoas em todo o mundo, representando um valor agregado bruto de mais de 458 bilhões de dólares anualmente (IOC, 2013). Sua produção perfaz a base econômica de mais de 50 países em desenvolvimento, com influxo de capital estrangeiro que alcança 80% em alguns países africanos. Apenas *Coffea arabica* e *C. canephora*, dentre cerca de 100 espécies do gênero *Coffea*, possuem importância econômica, respondendo por 99% da produção mundial de café. O café arábica originou-se nas florestas tropicais da Etiópia, podendo ser

encontrado como vegetação de sub-bosque e é considerada uma espécie tolerante à sombra. Várias evidências sugerem que *C. arabica* tem adaptado-se a uma amplitude de condições maior que a encontrada em seu ambiente natural (Sylvain, 1955; DaMatta, 2004). Ao longo do processo de domesticação e de sua introdução no Yemen e, a partir daí, na Ásia e América do Sul, plantios foram estabelecidos sob condições ambientais diversas, de forma que as cultivares modernas e mais produtivas foram selecionadas em ensaios conduzidos a pleno sol e com grande aplicação de insumos (van der Vossen, 2005; DaMatta e Rena, 2002), dando origem a cultivares com uma série de características diferenciadas dentro da mesma espécie. *Typica*, por exemplo, foi a primeira cultivar de café a ser introduzida no Brasil, em 1727. Foi detalhadamente descrita por Cramer em 1913, que propôs o nome “*typica*” por representar o tipo da espécie *C. arabica* descrita por Lineu em 1753 (Mendes et al., 2008). Essa cultivar não se desenvolve bem a pleno sol, apresentando facilmente sintomas visuais de fotodanos (van der Vossen, 2005; DaMatta et al, 2007), enquanto a cultivar Catuaí Vermelho, lançada para fins comerciais em 1972, é vigorosa e muito produtiva a pleno sol.

Resultados contraditórios têm sido encontrados quanto à plasticidade do cafeeiro à luz. Embora alguns trabalhos tenham mostrado que, sob irradiâncias relativamente baixas, o cafeeiro pode apresentar respostas comuns a plantas adaptadas a ambientes sombreados – como baixas irradiâncias de compensação e de saturação (Rena et al., 1994), aumento da área foliar específica, além de redução na quantidade e na atividade da rubisco (Kanechi et al., 1996) – adaptações típicas à plena irradiância também têm sido observadas em cafeeiros submetidos a alta disponibilidade lumínica – como o aumento da espessura da cutícula, cloroplastos com menos *grana* e menos tilacóide por *granum* (Fahl et al., 1994), sugerindo uma elevada plasticidade fotossintética/fisiológica às variações de luz (DaMatta, 2004).

Por outro lado, Araújo et al. (2008) não obtiveram diferenças significativas nas variáveis fisiológicas diretamente envolvidas com o ganho de carbono via fotossíntese, e tampouco aquelas relacionadas com a captura de luz alteraram-se em paralelo com a capacidade potencial da maquinaria fotossintética do cafeeiro, em resposta às variações de luz. Da mesma forma, Chaves et al. (2008) não observaram indícios de fotoinibição, ou variações significativas na capacidade de dissipação térmica ou não-fotoquímica do excesso de energia de excitação em função de diferentes intensidade de irradiância. Além disso, não foram observadas diferenças

na extensão de fotodanos entre as folhas de plantas cultivadas a pleno sol ou sob 50% de sombreamento. Contudo, a baixa plasticidade fisiológica encontrada por Chaves et al. (2008) poderia estar relacionada às irradiâncias interceptadas pelas folhas de cafeeiro sob sombra que, nesses estudos, não seriam suficientemente baixas para ativar mecanismos relacionados à aclimação das folhas da espécie. No sentido de elucidar tais questões, Matos et al. (2009) avaliaram a plasticidade fenotípica do cafeeiro em condições de campo sob sombreamento intenso. Esses autores mostraram que folhas de café apresentaram alta plasticidade fenotípica de caracteres fisiológicos/bioquímicos, como dissipação térmica do excesso de energia absorvida, enquanto características morfoanatômicas apresentariam um papel secundário na aclimação à variação da irradiação.

Considerando-se que, em muitas situações, cafezais a pleno sol podem produzir mais que aqueles sombreados (DaMatta e Rena, 2002), sugere-se, pois, que uma considerável variação dentro de *C. arabica* possa ocorrer quanto à plasticidade acerca das respostas da espécie à intensidade da irradiação. Uma exploração eficiente dessa plasticidade em programas de melhoramento poderia explicar o sucesso do cultivo do cafeeiro tanto à sombra como a pleno sol, uma vez que cultivares atualmente selecionadas devem apresentar, potencialmente, adaptações a altas irradiâncias em extensão superior às de populações selvagens ou pouco produtivas quando cultivadas a pleno sol (DaMatta, 2004). Essa hipótese poderia explicar, pelo menos parcialmente, os resultados contraditórios encontrados com relação à plasticidade do cafeeiro, em resposta à irradiação. Com efeito, a maioria dos trabalhos que investigaram a resposta do cafeeiro à luz foi limitada a apenas um genótipo sob diferentes intensidades luminosas. Por isso, estudos em que se avaliam as respostas de genótipos contrastantes quanto aos requerimentos de luz poderiam explicar a possível plasticidade à luz dentro da espécie, bem como proporcionar ampliação do conhecimento dos mecanismos que conferem variabilidade de respostas do cafeeiro à disponibilidade de luz. No sentido de elucidar os motivos pelos quais o cafeeiro pode apresentar diferentes desempenhos em resposta à disponibilidade de luz, este trabalho comparou a resposta de três cultivares de cafeeiro com requerimentos lumínicos presumivelmente distintos, à condições contrastante de luz, bem como avaliou a relação entre o maior sucesso de cultivo das cultivares modernas e investimento em mecanismos fotoprotetores.

Material e métodos

Material Vegetal e Condições de Cultivo

O trabalho foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 650 m altitude), Minas Gerais, utilizando-se de três genótipos de café (*C. arabica* L): *Typica* (MG 0001), a população de café originalmente introduzida no Brasil no início do século XVIII, reconhecidamente de baixa produção e que somente se desenvolve adequadamente em ambientes sombreados; *Bourbon Vermelho* (MG 0011), variedade lançada há mais de 60 anos, e que produz melhor à sombra que a pleno sol, mas que, por vezes, é cultivada sem sombreamento; e *Catuai Vermelho* (IAC 44), uma linhagem moderna, altamente produtiva, produzindo melhor a pleno sol que à sombra, nas condições do sudeste do Brasil. Os tratamentos lumínicos foram constituídos de dois níveis de irradiância: *pleno sol* e *10%* de irradiância, empregando-se telas de poliolefinas de densidade neutra de diferentes malhas.

As mudas foram obtidas a partir de sementes germinadas em papel *germitest* umedecido com água destilada equivalente a 2,5 vezes seu peso e colocadas para germinar a 30°C, por cerca de 30 dias (até atingirem o estágio “palito de fósforo”). As plântulas foram então transferidas para sacolas de polietileno perfuradas com dimensões de 11 x 22 cm. O substrato para o crescimento das plantas constituiu-se de uma mistura de solo, esterco de curral curado e areia (3:1:1, 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. A irrigação foi realizada periodicamente, procurando-se manter a umidade do solo próxima à capacidade de campo. Devido à alta mortalidade apresentada por *Typica* em um experimento anterior, as mudas de todas as cultivares foram mantidas sob ambiente sombreado, utilizando-se para tal, telas de poliolefinas. Duas semanas antes do plantio, as mudas do tratamento de Pleno Sol foram aclimatadas sob ambiente com 50% da radiação solar. Em fevereiro de 2011, ao alcançarem aproximadamente quatro pares de folhas, as mudas das três variedades foram transplantadas e cultivadas em vasos com capacidade para 12 L de substrato e mantidas nos três regimes lumínicos, constituindo-se dessa forma seis tratamentos, em esquema fatorial 3x2 (três genótipos x 2 níveis de irradiância). As plantas foram mantidas nessas condições por aproximadamente um ano. Após emissão do oitavo par de ramos plagiotrópicos, seis plantas por tratamentos foram selecionadas com base na sua uniformidade e analisadas durante todo o experimento.

Avaliações fotossintéticas

Os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a foram medidos simultaneamente, utilizando-se de um analisador portátil de gás a infravermelho equipado com uma câmara de fluorescência (Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, EUA). As medições foram realizadas entre 8:00-9:30 h, em folhas jovens, completamente expandidas, do terceiro ao quarto par de ramos plagiotrópicos, sob irradiância de $1000 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$. A temperatura do bloco do equipamento foi mantida a 25°C durante todas as medições e as temperaturas foliares registradas variaram entre 26°C e 29°C .

Folhas adaptadas à luz foram expostas a um pulso de luz saturante de irradiância de $6000 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e duração de 0,8 s, a fim de determinar-se a fluorescência em *steady-state* (F_s) e a fluorescência máxima (F_m'). A partir desses dados, foram estimados o rendimento quântico do transporte de elétrons (Φ_{FSII}) e a taxa de transporte de elétrons (TTE), conforme Genty et al. (1989). As constantes de absorvância foliar (α) e fator de particionamento de elétrons entre os fotossistemas (β), utilizados no cálculo da TTE, foram determinadas para cada tratamento a partir da relação entre taxa assimilatória líquida (A) e $\text{RAF}\Phi_{\text{FSII}}/4$, em que RFA corresponde à radiação fotossinteticamente ativa, obtidas mediante curvas de luz e curvas de CO_2 sob condições não-fotorrespiratórias, em uma atmosfera contendo menos de 1% de O_2 (Yin et al 2009).

Curvas de resposta de A à radiação fotossinteticamente ativa (curva A/RFA) foram obtidas, variando-se RFA de 1600 a $0 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a 25°C e concentração de CO_2 ambiente (Iio et al., 2005). O rendimento quântico aparente e as irradiâncias de compensação e de saturação foram estimados segundo as equações propostas por Li e Chen (2009).

Procedeu-se à decomposição da extinção não-fotoquímica da fluorescência variável (q_N) das plantas de sol e de sombra, sob dois níveis de irradiância actínica: 1000 e $100 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, utilizando-se a metodologia de Rohacek (2010), que se baseia na análise de regressão não-linear de uma função multi-exponencial da cinética de indução da fluorescência lenta da clorofila. Essa metodologia permite a quantificação dos principais componentes de q_N : o coeficiente de extinção dependente de energia (q_E), o coeficiente de transição de estado (q_T) e o coeficiente

de extinção fotoinibitório (q_I). As avaliações foram realizadas entre 12:00 h e 15:00 h.

Análises bioquímicas

Amostras foliares foram coletadas entre 12:00-14:00 h e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenadas a -80°C , até o uso.

Quantificação de pigmentos fotossintéticos

Os teores foliares de clorofilas *a* e *b* e de xantofilas foram determinados em extratos obtidos após a maceração de discos foliares utilizando-se de acetona 85%, a 4°C , e quantificados por cromatografia líquida de alto desempenho (DIONEX Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific Inc., Vantaa, Finlândia), conforme descrito em Matos et al. (2009).

Enzimas e metabólitos envolvidos no metabolismo antioxidativo e danos celulares

Foram determinadas as atividades de enzimas do sistema antioxidante: dismutase do superóxido (SOD; EC 1.15.1.1), catalase (CAT; EC 1.11.1.6), peroxidase ascorbato (APX; EC 1.11.1.11) e redutase da glutatona (GR; EC 1.8.1.7), conforme descrito em Pinheiro et al. (2004). A atividade dessas enzimas foi expressa em unidades (U) por quantidade de clorofilas. Cada U corresponde à oxidação de $1\ \mu\text{mol}$ ascorbato min^{-1} para a APX, de $1\ \mu\text{mol H}_2\text{O}_2\ \text{min}^{-1}$ para a CAT, e de $1\ \mu\text{mol}$ de NADPH min^{-1} , para a GR. Para a SOD, cada U corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do corante azul de nitro-tetrazólio.

A atividade antioxidante total (AAT) foi estimada pelo método de redução do ferro (*Ferric Reducing Antioxidant Power* - FRAP) descrito por Benzie e Strain (1996). A reação ocorre pela formação de um complexo entre o substrato TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina com o Ferro (III), de coloração amarelada. Na presença de um antioxidante, o ferro é reduzido, dando origem ao complexo $(\text{Fe(II)(TPTZ)}_2)^{3+}$ de coloração azul escura, que pode ser, então, quantificado espectrofotometricamente.

A extensão de danos celulares foi determinada pela quantificação de aldeído malônico, conforme descrito em Lima et al. (2002).

Análises químicas do tecido foliar e custo de manutenção

Folhas inteiras foram coletadas em nitrogênio líquido, liofilizadas e trituradas em um disruptor celular com auxílio de esferas de metal de 3,2 mm (Mini-BeadBeater-96, BioSpec Products, Bartlesville, OK, USA). As amostras foliares foram trituradas até a obtenção de um pó fino.

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 essa mesma fração para determinação da abundância relativa de ^{13}C e ^{12}C , determinada em espectrômetro de massa MAT-251 (Finnigan MAT, Bremen, Alemanha), 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 (250 mg) foi incinerada a 550°C em mufla, por 12 h, determinando-se a concentração de cinzas $[\text{CZ}]$ 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 $[\text{AO}]$ 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 $[\text{MIN}]$ foi determinada conforme a equação: $[\text{MIN}] (\text{mg g}^{-1}) = [\text{CZ}] - (\text{AC} \times 30) + [\text{NO}_3^-]$, em que $[\text{CZ}]$ e $[\text{NO}_3^-]$ são expressos em mg g⁻¹ da massa seca, e AC, em mEq g⁻¹; 30 representa a massa de 1 Eq de carbonato.

Uma quarta fração da amostra (50 mg) foi utilizada para a determinação de lipídios (LIP), fenóis solúveis totais (FEN) e proteínas (PRO) totais. Para isso, a cada amostra foram adicionados 600 μL 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 400 μL 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. No *pellet* resultante da extração metanol/clorofórmio (composto de proteínas da parede celular, proteínas que foram precipitadas durante a extração e amido) foi quantificada a concentração de proteínas; para tal foram adicionados a cada tudo 800 µL de NaOH 0,1 M, e em seguida estes foram aquecidos a 95° C por 30 min e centrifugados a 13000 g. Após 5 min em gelo, uma alíquota do sobrenadante foi coletada e a esta foram adicionados 180 µL de reagente de Bradford.

Considerando-se a as concentrações foliares (mg g⁻¹) de C, N_{org} e MIN, foi estimado o custo de construção (CC) (g de glicose g⁻¹), segundo metodologia de Vertregt e Penning de Vries (1987) e modificada por Poorter (1994), conforme a equação:

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

Os custos de manutenção (CM) 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 CM 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).

Plasticidade fenotípica

Como forma de avaliar-se o grau de plasticidade entre os genótipos de café em resposta à luz, calculou-se, para cada variável e genótipo, um índice de plasticidade fenotípica (IP). Esse índice varia de zero (não-plástico) a 1 (plasticidade máxima) (Valladares et al., 2000), possuindo, dessa forma, a vantagem de permitir comparações entre variáveis expressas em unidades diferentes.

Análises Estatísticas

O experimento foi analisado em esquema fatorial 3x2 (três níveis de irradiância e duas linhagens de café), com seis repetições por tratamento, no qual a parcela experimental foi sempre uma planta por recipiente de cultivo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas entre si pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de probabilidade, utilizando-se do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas da UFV (SAEG software versão 9.1, 2007).

Resultados

Parâmetros fotossintéticos

De modo geral, as variáveis fotossintéticas avaliadas (Tabela 1, Figura 1) pouco responderam aos tratamentos impostos, apesar de as plantas a pleno sol tenderem a apresentar valores superiores aos das plantas à sombra. A taxa de fotossíntese líquida (A) e taxa de transporte de elétrons (TTE), em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (Figura 1), apresentaram, em geral, apenas pequenas diferenças entre os níveis de luz e cultivares.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila tenderam a ser maiores em folhas a pleno sol (com exceção de ϕ_{PSII} , que não apresentou diferenças significativas entre os regimes de luz); entretanto, as cultivares parecem ter sido igualmente afetadas pelos níveis de irradiâncias (Tabela 1). A pleno sol, valores inferiores de eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m) (menores que 0,80) indicaram a possibilidade de fotoinibição em Bourbon e Typica, apresentando menores valores que aqueles observados à sombra. Além disso, foram notados aumentos no coeficiente de extinção fotoquímico (q_P), comportamento contrário ao esperado em respostas ao aumento de da disponibilidade de luz, com aumento de 32% nas plantas de sol. Nessas plantas, também foram observadas reduções na eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII (F_v'/F_m'), em média 16%, que foram acompanhados por aumentos no coeficiente de extinção não-fotoquímica (NPQ), em média 28%.

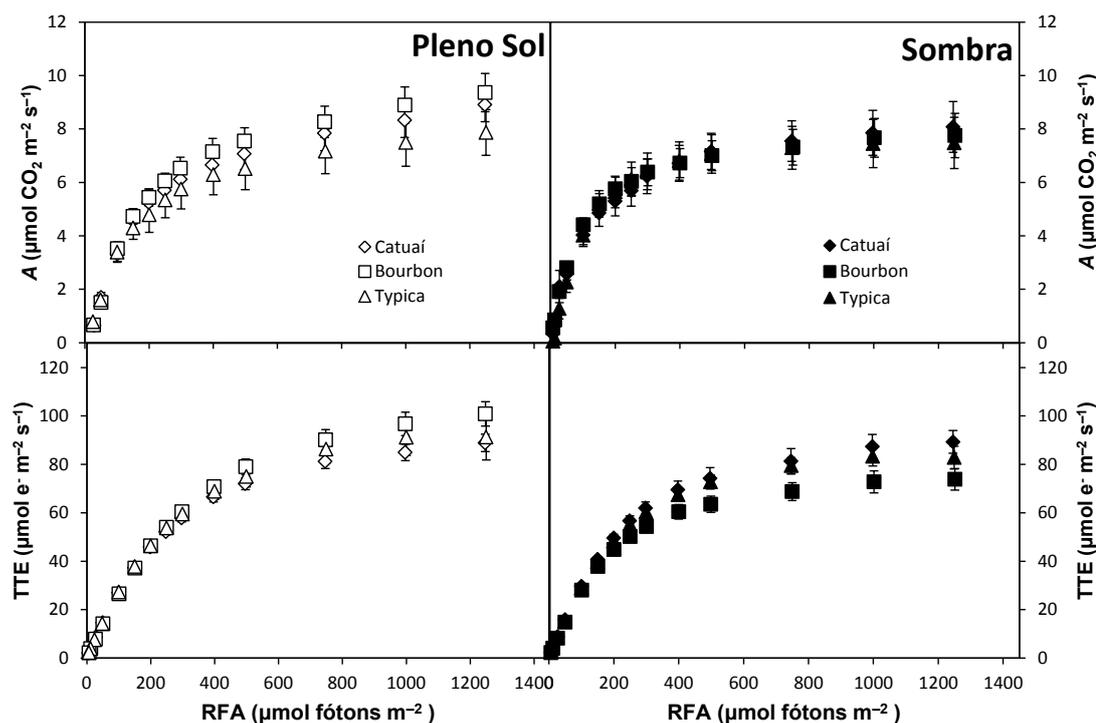


Figura 1 - Taxa de fotossíntese líquida (A) e taxa de transporte de elétrons (TTE) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RAF), em três cultivares de *Coffea arabica* cultivadas a pleno sol ou sob 10% de luz (sombra). Cada ponto representa a média \pm erro padrão ($n = 6$).

Apenas Bourbon parece ter TTE afetada pelo sombreamento, que, em intensidades superiores a $500 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ apresentou reduções de até 27% em relação às plantas a pleno sol. Da mesma forma, a capacidade fotossintética máxima (A_{max}) e o rendimento quântico aparente (Φ) não diferiram significativamente ($P > 0,05$) entre os tratamentos, embora Typica tenha apresentado A_{max} 15% menor que Catuaí e Bourbon. Como esperado, o ponto de compensação luminoso (PCL) e o ponto de saturação luminoso (PSL) foram maiores nas plantas a pleno sol (Tabela 1). Entretanto, PCL em Typica a pleno sol foi 19% menor quando comparado ao de Catuaí e Bourbon.

Decomposição da extinção não-fotoquímica

O coeficiente de extinção não fotoquímico da fluorescência variável (q_N) e seus componentes são apresentados na Tabela 2. O coeficiente de extinção dependente de energia (q_E) foi, conforme esperado, maior a 1000 que a $100 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, independentemente da cultivar e da irradiância de crescimento. Nas plantas cultivadas a pleno sol, as maiores irradiâncias de análise promoveram aumento em q_E de 31% e 19% em Catuaí e Bourbon, respectivamente, quando comparadas com as plantas à sombra. Por outro lado, esses aumentos foram

acompanhados de reduções do coeficiente de extinção fotoinibitório (q_I), de 51% e 29% nessas cultivares. O coeficiente do estado de transição (q_T), por outro lado, apresentou os menores valores dentre os componentes de q_N , sendo bastante reduzido ou nulo a $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Apenas a cultivar Typica apresentou aumentos dos valores de q_I (28%) em plantas a pleno sol, sugerindo que, nessa cultivar, o coeficiente fotoinibit\u00f3rio possa ter papel prim\u00e1rio na extin\u00e7\u00e3o n\u00e3o fotoqu\u00edmica nos processos fotossint\u00e9ticos, bem como poderia indicar a ocorr\u00eancia de fotoinibi\u00e7\u00e3o como resultado das altas irradi\u00e2ncias de crescimento.

Tabela 1 – Efeito do sombreamento sobre par\u00e2metros fotossint\u00e9ticos em gen\u00f3tipos de *Coffea arabica*. A_{max} , capacidade fotossint\u00e9tica ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Φ , rendimento qu\u00e2ntico aparente ($\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{f\u00f3tons}$); PCL, ponto de compensa\u00e7\u00e3o luminoso ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$); PSL, ponto de satura\u00e7\u00e3o luminoso ($\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$); F_v/F_m , efici\u00eancia fotoqu\u00edmica m\u00e1xima do FSII; Φ_{FSII} , rendimento fotoqu\u00edmico do FSII; F_v'/F_m' , efici\u00eancia de captura de energia de excita\u00e7\u00e3o pelos centros de rea\u00e7\u00e3o abertos do FSII; q_p , coeficiente de extin\u00e7\u00e3o fotoqu\u00edmica e NPQ, coeficiente de extin\u00e7\u00e3o n\u00e3o-fotoqu\u00edmica.

| Vari\u00e1veis | Pleno Sol | | |
|-----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Catuai | Bourbon | Typica |
| $A_{\text{max_PAR}}$ | $8,8 \pm 0,3 \text{ Aa}$ | $8,6 \pm 0,5 \text{ Aa}$ | $7,4 \pm 0,4 \text{ Aa}$ |
| Φ | $0,06 \pm 0,01 \text{ Aa}$ | $0,07 \pm 0,01 \text{ Aa}$ | $0,06 \pm 0,01 \text{ Aa}$ |
| LCP | $18,9 \pm 0,03 \text{ Aa}$ | $18,1 \pm 1,23 \text{ Aa}$ | $15,5 \pm 0,15 \text{ Ab}$ |
| LSP | $568,1 \pm 10 \text{ Aa}$ | $617,8 \pm 26 \text{ Aa}$ | $572,1 \pm 19 \text{ Aa}$ |
| F_v/F_m | $0,79 \pm 0,0 \text{ Aa}$ | $0,76 \pm 0,01 \text{ Ba}$ | $0,77 \pm 0,01 \text{ Ba}$ |
| F_v'/F_m' | $0,44 \pm 0,01 \text{ Ba}$ | $0,45 \pm 0,02 \text{ Ba}$ | $0,45 \pm 0,02 \text{ Ba}$ |
| q_p | $0,43 \pm 0,02 \text{ Aa}$ | $0,40 \pm 0,02 \text{ Aa}$ | $0,40 \pm 0,02 \text{ Aa}$ |
| q_N | $0,85 \pm 0,02 \text{ Aa}$ | $0,82 \pm 0,01 \text{ Aa}$ | $0,82 \pm 0,02 \text{ Aa}$ |
| NPQ | $2,63 \pm 0,18 \text{ Aa}$ | $2,21 \pm 0,15 \text{ Aa}$ | $2,32 \pm 0,16 \text{ Aa}$ |
| Sombra | | | |
| $A_{\text{max_PAR}}$ | $8,3 \pm 0,6 \text{ Aa}$ | $7,8 \pm 0,3 \text{ Aa}$ | $7,5 \pm 1,0 \text{ Aa}$ |
| Φ | $0,06 \pm 0,00 \text{ Aa}$ | $0,06 \pm 0,00 \text{ Aa}$ | $0,08 \pm 0,01 \text{ Aa}$ |
| LCP | $4,6 \pm 0,34 \text{ Ba}$ | $3,6 \pm 0,43 \text{ Ba}$ | $3,5 \pm 0,19 \text{ Ba}$ |
| LSP | $419,2 \pm 16 \text{ Bb}$ | $483,2 \pm 17 \text{ Ba}$ | $408,1 \pm 15 \text{ Bb}$ |
| F_v/F_m | $0,80 \pm 0,0 \text{ Aa}$ | $0,80 \pm 0,0 \text{ Aa}$ | $0,80 \pm 0,0 \text{ Aa}$ |
| F_v'/F_m' | $0,53 \pm 0,01 \text{ Aa}$ | $0,53 \pm 0,01 \text{ Aa}$ | $0,54 \pm 0,01 \text{ Aa}$ |
| q_p | $0,33 \pm 0,02 \text{ Ba}$ | $0,29 \pm 0,01 \text{ Ba}$ | $0,30 \pm 0,02 \text{ Ba}$ |
| q_N | $0,76 \pm 0,01 \text{ Aa}$ | $0,77 \pm 0,01 \text{ Ba}$ | $0,75 \pm 0,01 \text{ Ba}$ |
| NPQ | $1,74 \pm 0,10 \text{ Ba}$ | $1,73 \pm 0,04 \text{ Ba}$ | $1,68 \pm 0,08 \text{ Ba}$ |

M\u00e9dias seguidas de mesma letra mai\u00fascula n\u00e3o diferem significativamente entre os n\u00edveis de irradi\u00e2ncia dentro do mesmo gen\u00f3tipo; m\u00e9dias seguidas de mesma letra min\u00fascula n\u00e3o diferem significativamente entre gen\u00f3tipos dentro do mesmo tratamento de luz. As m\u00e9dias foram comparadas entre si pelo teste de Newman-Keuls ($P \leq 0,05$). Todos os valores representam a m\u00e9dia \pm erro padr\u00e3o ($n = 6$).

Tabela 2 – Decomposição do coeficiente de extinção não-fotoquímica da fluorescência variável (q_N) em três cultivares de *Coffea arabica* cultivadas a pleno sol ou sob 10% de luz (sombra), sob dois níveis de irradiância actínica: 1000 e 100 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Abreviaturas: q_E , coeficiente de extinção dependente de energia; q_T , coeficiente de transição de estado; q_I , coeficiente de extinção fotoinibitório.

| Variáveis | Pleno sol | | | | | |
|-----------|---------------------|-----------------------------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------|----------------------------------|
| | Catuaí | | Bourbon | | Typica | |
| | 1000 | 100 | 1000 | 100 | 1000 | 100 |
| q_E | 0,63 \pm 0,05 Aa | 0,17 \pm 0,05 Ab** | 0,63 \pm 0,02 Aa | 0,35 \pm 0,05 Aa** | 0,49 \pm 0,01 Ab | 0,16 \pm 0,07 Ab** |
| q_T | 0,081 \pm 0,02 Aa | 0,105 \pm 0,01 Aa ^{ns} | 0,00 \pm 0,00 Ab | 0,057 \pm 0,01 Ab ^{ns} | 0,005 \pm 0,0 Ab | 0,005 \pm 0,0 Ac ^{ns} |
| q_I | 0,15 \pm 0,06 Bb | 0,09 \pm 0,03 Bc ^{ns} | 0,20 \pm 0,02 Bb | 0,22 \pm 0,03 Ab ^{ns} | 0,36 \pm 0,01 Aa | 0,33 \pm 0,06 Aa ^{ns} |
| q_N | 0,85 \pm 0,01 Aa | 0,36 \pm 0,06 Ac** | 0,83 \pm 0,02 Aa | 0,63 \pm 0,06 Aa** | 0,85 \pm 0,02 Aa | 0,50 \pm 0,07 Ab** |
| Sombra | | | | | | |
| q_E | 0,48 \pm 0,01 Ba | 0,11 \pm 0,02 Ab** | 0,53 \pm 0,02 Ba | 0,09 \pm 0,03 Bb** | 0,51 \pm 0,03 Aa | 0,25 \pm 0,08 Aa* |
| q_T | 0,00 \pm 0,00 Ba | 0,00 \pm 0,0 Ba ^{ns} | 0,00 \pm 0,00 Aa | 0,00 \pm 0,0 Ba ^{ns} | 0,00 \pm 0,00 Aa | 0,00 \pm 0,00 Aa ^{ns} |
| q_I | 0,31 \pm 0,02 Aa | 0,32 \pm 0,02 Aa ^{ns} | 0,28 \pm 0,01 Aa | 0,24 \pm 0,01 Aa ^{ns} | 0,28 \pm 0,01 Ba | 0,28 \pm 0,01 Aa ^{ns} |
| q_N | 0,78 \pm 0,02 Ba | 0,43 \pm 0,04 Aa ^{ns} | 0,81 \pm 0,02 Aa | 0,33 \pm 0,02 Ba** | 0,82 \pm 0,02 Aa | 0,53 \pm 0,10 Aa ^{ns} |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem significativamente entre os níveis de irradiância dentro do mesmo genótipo; médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente entre genótipos dentro do mesmo tratamento de luz. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Newman-Keuls ($P \leq 0,05$). Médias seguidas por ** ou * denotam diferenças significativas entre os tratamentos ($P \leq 0,01$ ou $\leq 0,05$, respectivamente), entre as irradiâncias analisadas (1000 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 100 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Todos os valores representam a média \pm erro padrão ($n = 4$).

Pigmentos fotossintéticos

As variáveis relacionadas aos pigmentos fotossintéticos não diferiram marcadamente entre as cultivares no que concerne à concentração de clorofilas totais (Chl), em base de massa, na razão Chl *a/b* e relação Chl/N, entre as cultivares (Tabela 3). Plantas ao sol apresentaram reduções de 30% nas concentrações de Chl, em base de massa e 17% na relação Chl/N, quando comparadas a plantas de sombra.

Tabela 3 – Pigmentos fotossintéticos, características associadas ao sistema antioxidante e concentração de fenóis em cultivares de *Coffea arabica* cultivadas a pleno sol ou sob 10% de luz (sombra). Abreviaturas: Chl_{MS} e Chl_A (a+b), clorofila total por unidade de massa (mmol kg⁻¹ MS) e por unidade de área (μmol m⁻²); Chl/N, razão entre clorofila e nitrogênio (mmol mol⁻¹); Car, carotenóides (mmol mol⁻¹ Chl): Neo, neoxantina; Lut, luteína; Viol, violaxantina; Ante, anteraxantina; Zea, zeaxantina, α-Car, α-caroteno; β-Car, β-caroteno; V+A+Z, soma dos teores de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina; DEPS, estado de desepoxidação do ciclo das xantofilas; SOD, dismutase do superóxido (U min⁻¹ mg⁻¹ Chl); CAT, catalase (μmol min⁻¹ g⁻¹ Chl); APX, peroxidase do ascorbato (μmol min⁻¹ g⁻¹ Chl); GR, redutase da glutaciona (μmol min⁻¹ g⁻¹ Chl); AAT, atividade antioxidante total (mmol Fe⁺² g⁻¹ MF); MDA, aldeído malônico (nmol g⁻¹ MF) e fenóis (mg g⁻¹ MS).

| Variáveis | Pleno Sol | | | Sombra | | |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | Catuaí | Bourbon | Typica | Catuaí | Bourbon | Typica |
| Chl (a+b) | 8,5 ± 0,4 Ba | 8,5 ± 0,5 Ba | 9,4 ± 0,3 Ba | 12,2 ± 0,7 Aa | 12,7 ± 0,5 Aa | 13,1 ± 0,5 Aa |
| Chl (a+b) | 936,2 ± 41 Ab | 951,1 ± 61 Ab | 1112,0 ± 35 Aa | 716,5 ± 33 Ba | 689,5 ± 32 Ba | 773,9 ± 36 Ba |
| Chl/N | 4,4 ± 0,1 Ba | 4,5 ± 0,2 Ba | 4,8 ± 0,1 Ba | 5,2 ± 0,4 Aa | 5,4 ± 0,2 Aa | 5,9 ± 0,2 Aa |
| Chl a/b | 3,1 ± 0,09 Aa | 3,1 ± 0,06 Aa | 3,3 ± 0,07 Aa | 3,2 ± 0,03 Aa | 3,3 ± 0,12 Ba | 3,3 ± 0,05 Aa |
| Neo | 66,9 ± 3,7 Aa | 63,2 ± 4,8 Aa | 60,7 ± 0,7 Aa | 61,4 ± 5,0 Aa | 59,2 ± 4,5 Aa | 59,6 ± 2,8 Aa |
| Lut | 223 ± 8,1 Aa | 213 ± 14,9 Aa | 218 ± 5,4 Aa | 188 ± 16,1 Aa | 200 ± 15,8 Aa | 187 ± 7,1 Aa |
| Viol | 23,7 ± 5,5 Ba | 22,2 ± 6,2 Ba | 23,4 ± 3,1 Ba | 48,9 ± 3,4 Aa | 49,9 ± 2,5 Aa | 49,2 ± 3,1 Aa |
| Ante | 14,7 ± 1,5 Ab | 21,7 ± 3,1 Aa | 20,9 ± 1,6 Aa | 7,2 ± 0,8 Ba | 4,8 ± 0,7 Bb | 2,4 ± 0,3 Bb |
| Zea | 62,7 ± 5,6 Aa | 53,6 ± 4,7 Aa | 34,6 ± 3,0 Ab | 3,8 ± 0,9 Ba | 2,5 ± 0,5 Ba | 2,3 ± 0,2 Ba |
| α-Car | 70,3 ± 3,2 Aa | 74,7 ± 5,5 Aa | 67,8 ± 3,0 Aa | 41,2 ± 3,0 Ba | 42,8 ± 1,9 Ba | 40,5 ± 2,2 Ba |
| β-Car | 71,5 ± 3,3 Aa | 75,9 ± 5,6 Aa | 69,0 ± 3,0 Aa | 41,9 ± 3,1 Ba | 43,5 ± 2,0 Ba | 41,2 ± 2,2 Ba |
| V+A+Z | 101,1 ± 4,0 Aa | 97,5 ± 12,1 Aa | 79,0 ± 4,8 Ab | 59,9 ± 4,5 Ba | 57,3 ± 2,9 Ba | 53,9 ± 3,0 Ba |
| DEPS | 0,69 ± 0,05 Aa | 0,68 ± 0,04 Aa | 0,57 ± 0,02 Ab | 0,12 ± 0,02 Ba | 0,09 ± 0,01 Ba | 0,07 ± 0,01 Ba |
| SOD | 903,2 ± 9 Ab | 673,6 ± 50 Ac | 1168,5 ± 41 Aa | 803,2 ± 42 Aa | 601,7 ± 42 Ab | 369,6 ± 34 Bc |
| CAT | 0,83 ± 0,07 Ab | 0,77 ± 0,03 Ab | 1,21 ± 0,09 Aa | 0,60 ± 0,05 Ba | 0,56 ± 0,04 Ba | 0,28 ± 0,02 Bb |
| APX | 21,5 ± 0,8 Aa | 15,8 ± 1,0 Ab | 20,1 ± 0,9 Aa | 18,1 ± 0,9 Ba | 16,0 ± 0,6 Aa | 11,4 ± 0,7 Bb |
| GR | 0,26 ± 0,02 Aa | 0,19 ± 0,01 Ab | 0,28 ± 0,02 Aa | 0,21 ± 0,01 Ba | 0,17 ± 0,01 Aab | 0,14 ± 0,01 Bb |
| ATT | 689,5 ± 40 Ac | 811,2 ± 50 Ab | 988,8 ± 57 Aa | 105,9 ± 9 Ba | 141,3 ± 28 Ba | 151,5 ± 39 Ba |
| MDA | 74,2 ± 2,0 Ab | 85,6 ± 2,9 Aa | 89,5 ± 2,3 Aa | 71,3 ± 3,6 Aa | 58,0 ± 2,8 Bb | 60,0 ± 3,4 Bb |
| Fenóis | 117,8 ± 2,0 Ab | 127,9 ± 3,3 Aa | 135,4 ± 2,7 Aa | 65,1 ± 3,9 Ba | 54,8 ± 2,1 Bb | 53,8 ± 1,8 Bb |

Estatística conforme Tabela 1

Independentemente dos tratamentos, a luteína foi o principal carotenóide acumulado; juntamente com a neoxantina (Neo), e dentre esses pigmentos, as concentrações não diferiram significativamente em resposta aos níveis de luz (Tabela 3). Nas plantas ao sol, os teores de α e β -caroteno aumentaram em média 70% em relação aos das plantas sombreadas. Dentre os pigmentos associados ao ciclo das xantofilas, a concentração de violaxantina (Vio) reduziu-se nas plantas a pleno sol. Nessas plantas, comparadas com aquelas à sombra, as concentrações de anteraxantina (Ant) foram, em média, 500% superiores em Bourbon e Typica, enquanto Catuaí apresentou aumentos de apenas 104%. A pleno sol, Catuaí apresentou os menores teores de Ant, cujos valores foram inferiores (30%) aos observados em Bourbon e Typica. Menores teores de zeaxantina (Zea) foram observados em Typica a pleno sol, sendo estes 40% inferiores que os observados em Catuaí e Bourbon. Conseqüentemente, o pool do ciclo das xantofilas (ou seja, a soma de Vio, Ant e Zea, V+A+Z) e o estado de desepoxidação (DEPS) também foram menores em Typica ao sol (cerca de 20%), indicando uma redução da capacidade fotooxidante e fotoproteora.

Relação entre q_N , q_E e ciclo das xantofilas

Independentemente do parâmetro utilizado, aumentos na extinção não fotoquímica ocorreram concomitantemente a aumentos nas concentrações dos componentes do ciclo das xantofilas e no seu estado de desepoxidação (Figura 2). Foram observadas correlações positivas entre q_N , analisadas sob intensidades de $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e as concentrações de Zea ($r= 0,58, P < 0,001$), V+A+Z ($0,59, P < 0,001$) e DEPS ($0,49, P < 0,01$). Destaca-se, ainda, que q_E apresentou maiores correlações com essas variáveis (Zea: $r= 0,77, P < 0,001$; V+A+Z: $r= 0,79, P < 0,001$ e DEPS: $r= 0,67, P < 0,01$), mostrando a estreita relação entre o ciclo das xantofilas na contribuição para q_E . Destaca-se que, embora as correlações encontradas entre q_N (e seus componentes) e DEPS, essas correlações parecem espúrias, uma vez que claramente é possível distinguir-se a formação de duas classes de dados devido a diferenças de valores absolutos entre plantas de sol e de sombra (Figura 2).

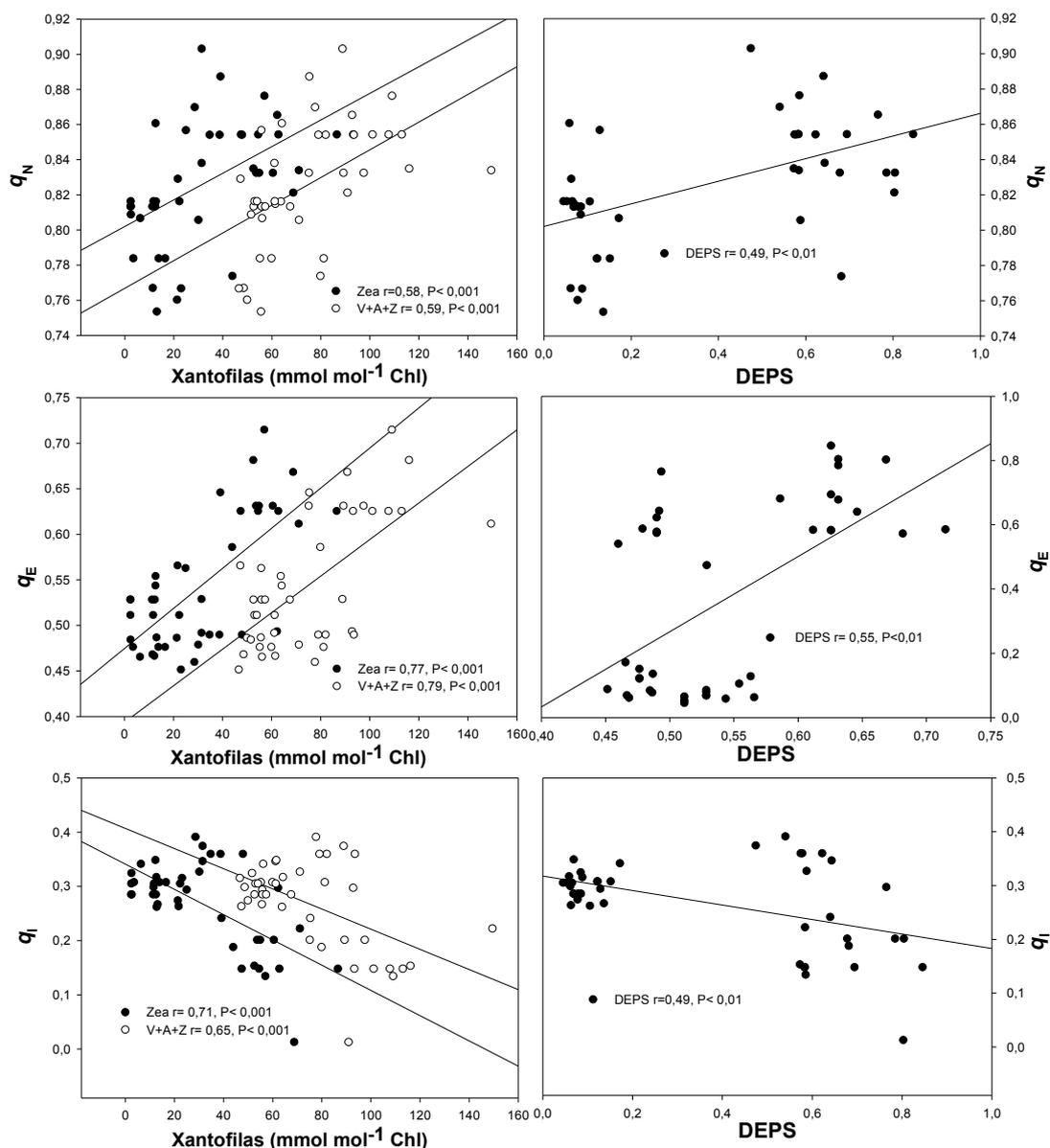


Figura 2 - Relações zeaxantina (Zea); soma dos teores de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina (V+A+Z), estado de desepoxidação do ciclo das xantofilas (DEPS), coeficiente de extinção não-fotoquímica da fluorescência variável (q_N) e coeficiente de extinção dependente de energia (q_E) e coeficiente de extinção fotoinibitório (q_I) em plantas de *C. arabica* analisadas a $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Sistema antioxidante e estresse oxidativo

Comparadas com as plantas à sombra, suas contrapartes ao sol exibiram um notável aumento (c. 500%) da atividade antioxidante total (AAT), em todas as cultivares testadas. Ressalte-se, não obstante, que, a pleno sol, Typica exibiu os maior AAT entre as cultivares, com valores 43% superiores aos de Catuaí, que apresentou os menores valores de AAT (Tabela 3). À sombra, observaram-se, novamente, maiores valores de AAT em Typica, embora não se tenham observado diferenças significativas entre as cultivares. A concentração de aldeído malônico

(MDA), um marcador de dano oxidativo, foi significativamente menor em Catuaí que a observada em Bourbon e Typica a pleno sol, que não diferiram significativamente entre si. Em outras palavras, Bourbon e Typica, apesar de apresentarem maior AAT, também tiveram maior extensão de danos oxidativos a pleno sol (Tabela 3). Um padrão oposto foi observado à sombra.

A atividade das enzimas atuantes na remoção das espécies reativas de oxigênio foi, em geral, maior a pleno sol que à sombra (Tabela 3). Typica tendeu a apresentar os maiores incrementos em resposta ao sombreamento, com aumentos na atividade de SOD (216%), CAT (332%), APX (76%) e GR (100%) nas plantas ao sol em relação àquelas à sombra. Em Catuaí e Bourbon, as atividades da SOD e CAT foram, em média, 12% e 38% superior nas plantas ao sol que à sombra, respectivamente. As atividades da GR e APX foram maiores em Catuaí, mas Bourbon não respondeu aos tratamentos lumínicos. A pleno sol, Typica tendeu a apresentar maior atividade das enzimas antioxidantes, seguida de Catuaí e Bourbon. Por outro lado, nas plantas sombreadas, o padrão de resposta à redução da disponibilidade de luz foi inverso.

Independentemente das cultivares, as concentrações de fenóis foram superiores em plantas a pleno sol em relação às das plantas sombreadas (Tabela 3), observando-se menores teores em Catuaí (11%) a pleno sol. Sob sombreamento, o inverso pôde ser observado, com maiores concentrações de fenóis em Catuaí (19%), em relação às demais cultivares.

Uso de recursos

Os custos de construção foliar foram muito similares entre as cultivares, situando-se em torno de 1,5 g glicose g⁻¹ MS, valores significativamente maiores (10% em média) que nas plantas à sombra (Tabela 4). Por outro lado, os custos de manutenção, nas plantas a pleno sol, foram maiores em Typica, sem diferença intra-específica nas plantas à sombra (Tabela 4). A composição isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) aumentou em resposta à disponibilidade de luz, observando-se acréscimos em Bourbon e Typica (5‰) e em Catuaí (3‰) a pleno sol. Por outro lado, nas plantas ao sol, observaram-se uma redução em $\delta^{13}\text{C}$ (3‰) em Catuaí em relação a Bourbon e Typica, que não apresentam diferenças significativas entre si (Tabela 4).

Tabela 4 - Composição isotópica do carbono ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) e custos de construção (CC, g glicose g^{-1}) e de manutenção total (CM, mg glicose $\text{g}^{-1} \text{dia}^{-1}$) em genótipos de *Coffea arabica* submetidas a condições contrastantes de luz.

| Variáveis | Pleno Sol | | | Sombra | | |
|-----------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | Catuaí | Bourbon | Typica | Catuaí | Bourbon | Typica |
| $\delta^{13}\text{C}$ | 26,1 ± 0,3Ab | 24,9 ± 0,3Aa | 25,5 ± 0,4Aa | 27,0 ± 0,2Ba | 27,0 ± 0,3Ba | 27,0 ± 0,2Ba |
| CC | 1,5 ± 0,01Aa | 1,5 ± 0,01Aa | 1,5 ± 0,01Aa | 1,4 ± 0,01Ba | 1,4 ± 0,01Ba | 1,3 ± 0,01Bb |
| CM | 13,0 ± 0,2Ab | 13,0 ± 0, Bb | 14,0 ± 0,2 Aa | 13,6 ± 0,3Aa | 13,9 ± 0,2Aa | 14,2 ± 0,1Aa |

Estatística conforme Tabela 1

Plasticidade Fenotípica

Dentre as variáveis analisadas, o padrão do índice de plasticidade (IP) tendeu a variar em relação às cultivares e às variáveis (Tabela 5). Typica apresentou, em média, maior IP total, com valores 17% superiores aos de Catuaí e Bourbon. A plasticidade fenotípica à luz relacionada aos pigmentos fotossintéticos e às características relacionadas ao sistema antioxidativo ($\text{IP}_{\text{P\&A}}$) foi, em média, maior em Typica (26% superior à media total), enquanto Catuaí apresentou maiores IP para as características fotossintéticas (IP_{FS}) (28% maior que a média total). Dentre os pigmentos fotossintéticos, maiores IP foram observados para Vio, Zea e DEPS, e menores valores foram observados para Neo ($\text{IP}_{\text{P}}=0,08$). CAT apresentou os maiores IP entre as enzimas do sistema oxidativo, sendo que, para essa variável, Typica apresentou as maiores respostas à luz ($\text{IP}_{\text{A}}=0,77$), apresentando aumentos de 28% em relação à IP_{A} . AAT foi a variável que mais contribuiu para IP_{A} (42% maiores). Em Catuaí, foram observados menores IP para fenóis ($\text{IP}_{\text{A}}= 0,45$) e MDA ($\text{IP}_{\text{A}}=0,04$), comparada com as outras cultivares. A média do IP relacionado ao uso de recursos (IP_{UR}) foi muito inferior que a total (em média 82%), em que Bourbon apresentou os maiores valores ($\text{IP}_{\text{UR}}=0,07$), com IP para $\delta^{13}\text{C}$ 14% superior a IP_{UR} . Por outro lado, Typica apresentou maiores IP para os CC, com aumento de 50% em relação a IP_{UR} , enquanto o IP para CM foi o menor observado, 66% inferior ao IP_{UR} médio (Tabela 5).

Tabela 5– Índice de plasticidade fenotípica (IP) de variáveis fisiológicas e bioquímicas em plantas de *Coffea arábica* submetidas a condições contrastantes de luminosidade (pleno sol e sombra).

| Categoria | Variáveis | Índice de Plasticidade | | |
|--|----------------------------|------------------------|-------------|-------------|
| | | Catuai | Bourbon | Typica |
| <i>Pigmentos (P)</i> <i>e Antioxidantes (A)</i> | Chl (a+b) _{massa} | 0,31 | 0,33 | 0,28 |
| | Chl (a+b) _{área} | 0,23 | 0,28 | 0,30 |
| | Neo | 0,08 | 0,02 | 0,06 |
| | Lut | 0,52 | 0,52 | 0,56 |
| | Viol | 0,51 | 0,89 | 0,78 |
| | Ante | 0,15 | 0,14 | 0,06 |
| | Zea | 0,94 | 0,93 | 0,95 |
| | α -Car | 0,41 | 0,40 | 0,43 |
| | β -Car | 0,41 | 0,40 | 0,43 |
| | V+A+Z | 0,41 | 0,32 | 0,41 |
| | DEPS | 0,83 | 0,89 | 0,87 |
| | Média P | 0,44 | 0,46 | 0,47 |
| | SOD | 0,11 | 0,11 | 0,68 |
| | CAT | 0,28 | 0,27 | 0,77 |
| | APX | 0,16 | 0,01 | 0,43 |
| GR | 0,21 | 0,11 | 0,52 | |
| ATT | 0,85 | 0,83 | 0,85 | |
| MDA | 0,04 | 0,32 | 0,33 | |
| Fenóis | 0,45 | 0,57 | 0,60 | |
| Média A | 0,30 | 0,32 | 0,60 | |
| Média P&A | 0,38 | 0,41 | 0,52 | |
| <i>Fotossíntese (FS)</i> | A _{max} | 0,02 | 0,18 | 0,21 |
| | Φ | 0,07 | 0,15 | 0,22 |
| | LCP | 0,76 | 0,80 | 0,77 |
| | LSP | 0,26 | 0,22 | 0,29 |
| | Fv/Fm | 0,02 | 0,05 | 0,03 |
| | Fv'/Fm' | 0,16 | 0,14 | 0,18 |
| | NPQ | 0,34 | 0,22 | 0,28 |
| | q _{E_1000} | 0,24 | 0,16 | 0,04 |
| | q _{T_1000} | 1,00 | 0,56 | 1,00 |
| | q _{I_1000} | 0,52 | 0,29 | 0,15 |
| | q _{N_1000} | 0,08 | 0,02 | 0,04 |
| | q _{E_100} | 0,36 | 0,76 | 0,35 |
| | q _{T_100} | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| | q _{I_100} | 0,73 | 0,08 | 0,15 |
| | q _{N_100} | 0,17 | 0,48 | 0,06 |
| | Média FS | 0,39 | 0,34 | 0,32 |
| | <i>Uso Recursos (UR)</i> | $\delta^{13}C$ | 0,04 | 0,08 |
| CC | | 0,06 | 0,06 | 0,09 |
| CM | | 0,05 | 0,07 | 0,02 |
| Média UR | | 0,05 | 0,07 | 0,06 |
| Média total | 0,35 | 0,35 | 0,41 | |

Discussão

Devido a sua evolução como vegetação de sub-bosque, o cafeeiro tem sido considerado com uma espécie tolerante à sombra (DaMatta 2004; DaMatta et al., 2010). Dessa forma, uma vez que, por tenderem a otimizar fisiologicamente a captura de luz sob condições de alto sombreamento, plantas tolerantes à sombra tenderiam a comprometer sua capacidade em responder a aumentos na disponibilidade de luz (Givnish, 2002). No presente trabalho, as cultivares testadas sofreram diferentes pressões seletivas do melhoramento genético, como um resultado de seleção genética sob condições de plantio a pleno sol. Nesse contexto, a cultivar *Typica*, menos selecionada, tende a apresentar fraco desempenho produtivo quando cultivada a pleno sol quando comparada a cultivares modernas, como *Catuai*. Ainda que uma alta plasticidade da maquinaria fotossintética do cafeeiro em resposta a condições contrastantes de luz fosse esperada (Cavatte et al., 2012), neste trabalho, uma baixa plasticidade fotossintética foi observada para o cafeeiro, resultado contrário aos encontrados por Matos et al. (2009), que mostraram que *Catuai* cultivada em campo apresenta uma plasticidade aparentemente alta da maquinaria fotossintética. Intra-especificamente, *Catuai* apresentou maior plasticidade fenotípica relacionada às características fotossintéticas em resposta à luz, enquanto a cultivar *Typica*, apresentou maior plasticidade média quando comparada às outras cultivares, resultado de uma maior plasticidade dos componentes associados a captura de luz e fotoproteção, sugerindo que a maior plasticidade do sistema antioxidante encontrada em *Typica* representaria uma resposta ao aumento da disponibilidade de luz, embora tal resposta pareça ser ineficiente na aclimação a altas irradiâncias. Em todo o caso, tal mecanismo parece traduzir-se numa estratégia de alocação ineficiente de recursos em plantas de cafeeiro (Valladares e Niinemets, 2008), principalmente devido aos elevados custos metabólicos/energéticos para manutenção de uma maquinaria bioquímica robusta em folhas submetidas a altos níveis de irradiância. Adicionalmente, deve-se registrar que a taxa de sobrevivência das plantas de *Typica*, a pleno sol, foi substancialmente inferior àquela verificada para as demais cultivares (dados não mostrados), o que poderia explicar, em alguma medida, o alegado desempenho inferior de *Typica*, a pleno sol, em relação ao de *Bourbon* ou *Catuai*.

Em uma base diária, assim como sazonalmente, a maioria das plantas está sujeita a condições de disponibilidade de energia luminosa acima daquela capaz de ser utilizada na fotossíntese. Sob tais circunstâncias, a regulação da captura de luz é

necessária no balanço entre a energia luminosa absorvida e utilizada, minimizando, dessa forma, potenciais danos fotooxidativos (Müller et al., 2001). A invariabilidade de A observada neste trabalho poderia estar relacionada à redução da captura e utilização da energia luminosa nas plantas a pleno sol. De fato, uma vez que tanto as concentrações de Chl, F_v/F_m e F_v'/F_m' foram menores sob altas irradiâncias (associados a aumentos em NPQ), pode-se sugerir que ocorrência de modificações/inativação dos centros de reação do FSII associadas à dissipação de energia térmica. Os aumentos da capacidade antioxidante no cafeeiro, representado pela AAT, ocorreram em paralelo a aumentos das defesas enzimáticas (e.g. SOD, CAT APX e GR) e não-enzimáticas (carotenoides e fenóis). Entretanto, esses mecanismos não evitaram a ocorrência de danos oxidativos em Bourbon e Typica ao sol, visto que aumentos da peroxidação de lipídios (aqui representados por MDA) foram observados nessas cultivares. Em particular, Typica apresentou as menores concentrações de Zea a pleno sol, e associada à redução de V+A+Z e DEPS, parece ter contribuído para um aumento do coeficiente de extinção não fotoquímica associada à fotoinibição. Por outro lado, na cultivar Catuaí, as reduções dos teores de Chl e aumento em DEPS, associados a outros mecanismos antioxidantes, parecem ter auxiliado na redução de possíveis danos ocasionados pelo excesso de energia a pleno sol (Morosinotto et al., 2003; Horton et al., 2008), visto que tanto MDA quanto F_v/F_m não diferiram significativamente nas plantas ao sol quando comparadas às plantas a sombra, como observado em trabalhos anteriores no cafeeiro (Araújo et al., 2008; Chaves et al., 2008; Matos et al., 2009). Independentemente da cultivar, as plantas a pleno sol apresentaram uma elevação dos valores de NPQ como consequência da maior da disponibilidade de luz, indicando um aumento a dissipação da energia via processos não fotoquímicos (i.e., dissipação não radiativa da energia de excitação). Entretanto, salienta-se que a cinética de relaxamento de NPQ é totalmente diferente daquela de q_N : enquanto NPQ reflete variações tanto na fluorescência variável como na inicial, q_N reflete variações na fluorescência variável (Bilger e Björkman, 1990), permitindo avaliar os efeitos de estresses (e.g., fotoinibição associada a altas irradiâncias, seca) sobre a queda na fluorescência variável (Rohacek, 2010).

No sentido de elucidar a capacidade do cafeeiro em responder a variações de curto prazo da intensidade luminosa, avaliou-se a resposta de q_N e seus componentes funcionais sob duas intensidades de luz actínica. Entre os componentes de q_N , q_E foi o único a apresentar diferenças em resposta a variações nas intensidades luminosas,

independentemente das cultivares e níveis de sombreamento. A redução de q_E nas plantas analisadas possui uma importante contribuição na composição de q_N em *C. arabica*. Em geral, q_E pode ser responsável por c. 80% de q_N (Li et al., 2000; Nilkens et al., 2010), e sua ativação e desativação, em resposta a rápidas mudanças na intensidade luminosa, ocorre em intervalo de segundos (García-Plazaola et al., 2012; Jahns e Holzwarth, 2012). Vários trabalhos têm mostrado que q_E é induzido pela redução do pH no lúmen dos tilacóides. A formação do gradiente de prótons (ΔpH) acarreta protonação do complexos coletores de luz (LHCs) e subunidade S da proteína do fotossistema II (PsbS), ativando a desepoxidação enzimática de Vio em Zea via Ant (Peguero-Pina et al., 2013). Em *Typica*, q_E parece ter um menor papel nas resposta de q_N às variações de luz a curto prazo, e poderia indicar a menor eficiência dessa cultivar na dissipação da energia absorvida. Demmig-Adams (1990) e Demmig-Adams e Adams (1992) mostraram as primeiras evidências de uma conexão entre Zea e q_N , sugerindo que esse pigmento tem um importante papel para a formação de q_E . Atualmente, duas principais funções têm sido propostas para Zea: (i) um papel indireto, como um modulador alostérico de q_E , e (ii) um papel nos processos de extinção devido a transferência de energia, de Chl para Zea (García-Plazaola et al., 2012). Outros autores observaram aumentos da extinção não fotoquímica em paralelo a aumentos no pool de Zea e maior estado de desepoxidação do ciclo das xantofilas no cafeeiro (Matos et al., 2009; Pompelli et al., 2010). Entretanto, o presente trabalho mostra altas correlações entre q_E e Zea e V+A+Z e menores correlações a DEPS nas plantas de cafeeiro, indicando que apenas uma pequena fração do *pool* total de V+A+Z é convertido a Zea no limite de tempo para total ativação de q_E (≤ 3 min), e que apenas o *pool* de Vio rapidamente conversível seria responsável pelo efeito de Zea em q_E (Jahns e Holzwarth, 2012).

Aumentos em q_E foram acompanhados de reduções em q_I em *Catuá* e *Bourbon*, enquanto em *Typica* o aumento da disponibilidade de luz nas plantas ao sol promoveu aumentos dos valores de q_I . Esse parâmetro reflete todos os processos que contribuem nas reduções a longo prazo, inativação ou danos do FSII. Devido a complexidade da inativação a longo prazo do FSII induzida sob altas irradiâncias, vários processos podem contribuir para q_I , dentre eles a inativação da proteína D1, que deve ser substituída após degradação (Jahns e Holzwarth, 2012). Aumentos em q_I podem estar relacionados a regulação do FSII pela manutenção do ΔpH no escuro devido a hidrólise do ATP ou a manutenção de prótons sequestrados na membrana

do tilacóides. Uma vez que *Zea* parece possuir um importante papel em todos esses processos, os aumentos observados em *Typica* poderiam ser um resultado das reduções das concentrações de *Zea* a pleno sol, podendo explicar a suscetibilidade dessa cultivar à fotoinibição. Por outro lado, os maiores teores de *Zea* em *Catuaí* e *Bourbon* podem ter contribuído para a redução de q_I e aumento da proteção contra fotodanos, uma vez que a função fotoprotetora de *Zea* em q_I poderia estar também relacionada ao papel antioxidativo desse pigmento na fase lipídica da membrana (Havaux et al., 2007; Dall'Osto et al., 2010).

Adicionalmente, a maior concentração de fenóis, além de contribuir para as defesas da planta contra estresses bióticos, pode 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), por representar um dreno de elétrons em função do alto custo energético para sua síntese. Desse modo, a síntese de fenóis pode desviar excesso de poder redutor do metabolismo primário para o secundário, contribuindo, em última análise, para a fotoproteção do cafeeiro (Cavatte et al., 2012). O cafeeiro é uma espécie que acumula uma gama de fenóis, como ácidos clorogênicos e flavonóis, que apresentam uma grande capacidade antioxidante (Agati et al., 2012). Entretanto, embora somados, os mecanismos fotoprotetores e antioxidante da cultivar *Typica* tenham sido superiores àqueles observados nas outras cultivares, nota-se que a capacidade antioxidante em *Typica* se mostrou ineficiente na proteção da maquinaria fotossintética sob altas irradiâncias.

Os custos de construção (CC), tecnicamente definido pela quantidade de glicose utilizada para a construção de um grama de biomassa (Williams et al., 1987), foram maiores em folhas a pleno sol. Apenas sob sombreamento foram observadas diferenças significativas entre as cultivares, das quais *Typica* apresentou menores CC, provavelmente relacionadas a diferenças em proteínas, ligninas e minerais (Gary et al., 1998; Barthod e Epron, 2005). Os custos de manutenção (CM), que representam 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 (Merino et al., 1984), também foram superiores nas plantas a pleno sol, embora nessas plantas CM tenha sido maior nas plantas a pleno sol de *Typica*. Segundo Cavatte et al. (2012), o cafeeiro é capaz de aumentar o seu potencial de defesa sem comprometer o crescimento, possivelmente uma estratégia

para que a espécie possa desenvolver-se e produzir mais quando submetidas a aumentos da disponibilidade de luz (como a ocorrência de feixes de luz esporádicos de alta intensidade, *sunflecks*). Entretanto, embora essa hipótese possa ser válida para a cultivar Catuaí, o aumento dos mecanismos de defesa observados em *Typica* parecem ser responsáveis por seu menor desempenho a pleno sol; possivelmente, parte dos maiores CM nessa cultivar esteja associada à maior pressão oxidativa, e adicionados às outras limitações encontradas em *Typica* (maior q_1 , AAT, MDA e fenóis e menor Zea), explicariam seu menor desempenho a condições de alta irradiância.

Vários estudos demonstram que o cafeeiro é bem protegido contra danos fotoinibitórios e fotooxidativos (Chaves et al., 2008; Moraes et al., 2010; Pompelli et al., 2010, Cavatte et al., 2012). Porém, esses autores avaliaram apenas a respostas da cultivar Catuaí à variação de luz. Neste trabalho, mostrou-se que a melhor adaptação da cultivar Catuaí às altas irradiâncias parece estar relacionada a mecanismos fotoprotetores e antioxidativos mais eficientes, bem como uma maior plasticidade fotossintética, embora a menor plasticidade observada para caracteres fotoprotetores e antioxidantes possa indicar uma especialização da cultivar, como resultado da seleção genética sob condições de cultivo a pleno sol. Por outro lado, embora tenha apresentado uma maior plasticidade fenotípica associada ao sistema antioxidante, a cultivar *Typica* mostrou maiores riscos de ocorrência de fotodanos e fotoinibição sob altas irradiâncias, indicando que, nessa cultivar, os processos fotoprotetores apresentariam menor eficiência, e poderiam ser uma resposta ao bem estabelecido conflito entre tolerância a sombra e crescimento sob altas disponibilidades de luz (Valladares et al., 2002; Valladares et al., 2008). Ressalta-se, ainda, que a taxa de sobrevivência das mudas de *Typica*, após a transferência de viveiros sombreados para condições de pleno sol, é relativamente baixa, comparada com a das outras cultivares. Concomitantemente, esses dados podem explicar, pelo menos parcialmente, o porquê de *Typica* não se desenvolver bem a pleno sol.

Referências

Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Sci* **196**: 67-76

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 Physiol Biochem* **46**: 894-890

Barthod S, Epron D (2005) Variations of construction cost associated to leaf area renewal in saplings of two co-occurring temperate tree species (*Acer platanoides* L. and *Fraxinus excelsior* L.) along a light gradient. *Ann For Sci* **62**: 545-551

Benzie IFF, Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay. *Anal Biochem* **239**: 70-76

Bilger W, Björkman O (1990) Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynth Res* **25**: 173-185

Björkman O (1981) Responses to different quantum flux densities. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Zeigler H (eds). *Encyclopedia of Plant Physiology*. Springer, Berlin, v 12A, 57-107

Bligh EG, Dyer WJ (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* **37**: 911-917

Cataldo DA, Aaron M, Schrader LE, Youngs V (1975) Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun Soil Sci Plant Anal* **6**: 71-80

Cavatte PC, Oliveira AAG, Morais LE, Martins SCV, Sanglard LMVP, DaMatta FM (2012) Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. *Physiol Plant* **144**: 111-122

- 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
- Dall'Osto L, Cazzaniga S, Havaux M, Bassi R** (2010) Enhanced photoprotection by protein-bound vs free xanthophyll pools: a comparative analysis of chlorophyll b and xanthophyll biosynthesis mutants. *Mol Plant* **3**: 576-593
- DaMatta FM** (2004) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Res* **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*. UFV, Viçosa, 93-135
- DaMatta FM, Rodríguez N** (2007) Producción sostenible de cafetales en sistemas agroforestales del Neotrópico: una visión agronómica y ecofisiológica. *Agron Colomb* **25**: 113-123
- DaMatta FM, Ronchi CP, Maestri M, Barros RS** (2010) Coffee: environment and crop physiology. In: DaMatta FM (ed). *Ecophysiology of tropical tree crops*. Nova Science Publishers, New York, 181-216
- Demmig-Adams B** (1990) Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim Biophys Acta* **1020**: 1-24
- Demmig-Adams B, Adams III WW** (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **43**: 599-626
- DeWitt TJ, Sih A, Wilson DS** (1998) Costs and limits of phenotypic plasticity. *Tree* **13**: 77-81

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 Environ* **24**: 755-767

Fahl JI, Carelli MLC, Vega J, Magalhães AC (1994) Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica* L.). *J Hort Sci* **69**: 161-169

García-Plazaola JI, Esteban R, Fernández-Marián B, Kranner I, Porcar-Castell A (2012) Thermal energy dissipation and xanthophyll cycles beyond the *Arabidopsis* model. *Photosynth Res* **113**: 89-103

Gary C, Bertin N, Frossard JS, Le Bot J (1998) High mineral contents explain the low construction cost of leaves, stems and fruits of tomato plants. *J Exp Bot* **49**: 49-57

Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem Biophys Acta* **990**: 87-92

Givnish TJ (2002) Adaptive significance of evergreen vs deciduous leaves: solving the triple paradox. *Silva Fenn* **36**:703-743

Havaux M, Dall'Osto L, Bassi R (2007) Zeaxanthin has enhanced antioxidant capacity with respect to all other xanthophylls in *Arabidopsis* leaves and functions independent of binding to PSII antennae. *Plant Physiol* **145**: 1506-1520

Horton P, Johnson MP, Perez-Bueno ML, Kiss AZ, Ruban AV (2008) Photosynthetic acclimation: does the dynamic structure and macro-organisation of photosystem II in higher plant grana membranes regulate light harvesting states? *FEBS J* **275**: 1069-1079

ICO, International Coffee Organization (2013) Belo Horizonte Declaration: 12 setembro de 2013. Disponível em: <<http://www.ico.org/documents/cy2012-13/belo-horizonte-declaration-e.pdf>>. Acesso em 16/10/2013

Iio A, Fukasawa H, Nose Y, Kato S, Kakubari Y (2005) Vertical, horizontal and azimuthal variations in leaf photosynthetic characteristics within a *Fagus crenata* crown in relation to light acclimation. *Tree Physiol* **25**: 533-544

Jahns P, Holzwarth AR (2012) The role of the xanthophylls cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochim Biophys Acta* **1817**: 182-193

Kanechi M, Uchida NU, Yasuda T, Yamaguchi T (1996) Nonstomatal inhibition associated with inactivation of rubisco in dehydrated coffee leaves under unshaded and shaded conditions. *Plant Cell Physiol* **37**: 455-460

Lehmann C, Rebele F (2005) Phenotypic plasticity in *Calamagrostis epigejos* (Poaceae): response capacities of genotypes from different populations of contrasting habitats to a range of soil fertility. *Acta Oecol* **28**: 127-140

Li J, Ou-Lee YM, Raba R, Amundson RG, Last RL (1993) Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *Plant Cell* **5**: 171-179

Li X, Chen S (2009) Diurnal changes in gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters of *Fritillaria cirrhosa* and *F. delavayi* under field conditions. *Photosynthetica* **47**: 191-198

Li XP, Björkman O, Shih C, Grossman AR, Rosenquist M, Jansson S, Niyogi KK (2000) A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. *Nature* **403**: 391–395

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. *Environ Exp Bot* **47**: 239-247

Matos FS, Wolfgramm R, Gonçalves FV, Cavatte PC, Ventrella MC, DaMatta FM (2009) Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environ Exp Bot* **67**: 421-427

Mendes ANG, Carvalho GR, Botelho CE, Fazuoli LC, Silvarolla MB (2008) Mutantes de *Coffea arabica* L. e Cultivares de Importância Histórica. In: Carvalho

CHS (ed). Cultivares de café: origem, características e recomendações. Embrapa Café. Brasília, DF, 281-298

Merino JA, Field CB, Mooney HA (1984) Construction and maintenance costs of mediterranean-climate evergreen and deciduous leaves. II. Biochemical pathway analysis. *Acta Oecol* **5**: 211-229

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

Morosinotto T, Caffarri S, Dall'Osto L, Bassi R (2003) Mechanistic aspects of the xanthophyll dynamics in higher plant thylakoids. *Physiol Plant* **119**: 347-354

Müller P, Li X, Niyogi KK (2001) Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol* **125**: 1558-1566

Nilkens M, Kress E, Lambrev P, Miloslavina Y, Müller M, Holzwarth AR, Jahns P (2010) Identification of a slowly inducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*. *Biochim Biophys Acta* **1797**: 466-475

Peguero-Pina JJ, Gil-Pelegrín E, Morales F (2013) Three pools of zeaxanthin in *Quercus coccifera* leaves during light transitions with different roles in rapidly reversible photoprotective energy dissipation and photoprotection. *J Exp Bot* **64**: 1649-1661

Penning de Vries FWT, Brunsting AHM, Van Laar HH (1974) Products, requirements and efficiency of biosynthetic processes: a quantitative approach. *J Theor Biol* **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*. *Ann Bot* **96**: 101-108

- 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. *J Plant Physiol* **167**: 1052–1060
- 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*. Backhuys Publishers, Leiden, 111-127
- 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*. Academic Press, San Diego, 39-72
- Rena AB, Maestri M, Barros RS, Söndahl MR** (1994) Coffee. In: Schaffer B, Andersen PC (eds). *Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops: subtropical and tropical crops*. CRC Press, Boca Raton, 101-122
- Rohacek K** (2010) Method for resolution and quantification of components of the non-photochemical quenching (q_N). *Photosynth Res* **105**: 101-113
- SAEG** (2007) *Sistema de análises estatísticas e genéticas: versão 9.1*. Viçosa, Fundação Arthur Bernardes.
- 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*. *J Evol Biol* **16**: 313-323.
- Sultan SE** (2000) Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci* **5**: 537-542
- Sylvain P** (1955). Some observations on *Coffea arabica* L. in Ethiopia. *Turrialba* **5**: 37-53
- Valladares F, Chico JM, Aranda I, BalaguerL, Dizengremel P, Esteban Manrique E, Dreyer E** (2002) The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees* **16**: 395–403

- Valladares F, Martinez-Ferri, Balaguer L, Perez-Corona E, Manrique E** (2000) Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytol* **148**: 79-91
- Valladares F, Niinemets Ü** (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu Rev Ecol Evol Syst* **39**: 237-257
- van der Vossen HAM** (2005) A critical analysis of the agronomic and economic sustainability of organic coffee production. *Exp Agric* **41**: 449-473
- Vertregt N, Penning de Vries, FWT** (1987). A rapid method for determining the efficiency of biosynthesis of plant biomass. *J Theor Biol* **128**: 109-119
- Wilhelm C, Selmar D** (2011) Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. *J Plant Physiol* **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 Environ* **10**: 725-734
- Yin X, Struik PC, Romero P, Harbinson J, Evers JB, van der Putten PEL, Vos J** (2009) Using combined measurements of gas exchange and chlorophyll fluorescence to estimate parameters of a biochemical C₃ photosynthesis model: a critical appraisal and a new integrated approach applied to leaves in a wheat (*Triticum aestivum*) canopy. *Plant Cell Environ* **32**: 448-464

III. CAPITULO 2

Limitações da fotossíntese do cafeeiro: fatores estomáticos e hidráulicos governam as variações diurnas em *Coffea arabica*

Introdução

Por várias décadas, a fotossíntese foi considerada como sendo limitada apenas pela velocidade de difusão do CO₂ através do estômato e pela capacidade da maquinaria fotossintética em converter a energia luminosa em energia bioquímica utilizada na fixação de CO₂ em açúcares (Flexas et al., 2012). Entretanto, o processo fotossintético também pode ser governado por diferentes resistências que limitam a transferência do CO₂, desde a atmosfera até os sítios de carboxilação (Araújo et al., 2008). Dentre essas, o fechamento estomático é um dos mais estudados, sendo o papel da condutância estomática (g_s) amplamente reconhecido por restringir o influxo de CO₂, e consequentemente, a assimilação de carbono (Chaves et al., 2002; Brodribb e Jordan, 2008).

Uma vez que o vapor de água e CO₂ dividem pelo menos uma parte de suas vias de difusão nas folhas, através do estômato e pela câmara sub-estomática (Flexas et al., 2012), em adição às limitações estomáticas, o mesofilo foliar também impõe uma série de barreiras físicas à difusão do CO₂, dos espaços intercelulares aos sítios de carboxilação no estroma cloroplastídico, sendo a fotossíntese reconhecidamente limitada pela condutância mesofílica (g_m) (Warren, 2008; Flexas et al., 2008; Flexas et al., 2012). Com efeito, em várias espécies, variações de g_m estão estreitamente relacionadas com aquelas observadas em g_s (Flexas et al. 2008; Flexas et al., 2012). De fato, vários autores sugerem que as limitações mesofílicas à fotossíntese podem ser de mesma magnitude que as limitações impostas pelo estômato, e geralmente maiores que as limitações associadas à capacidade bioquímica de fixação de CO₂ (Flexas et al., 2008; Flexas et al., 2012).

As propriedades hidráulicas foliares desempenham um papel fundamental na produtividade vegetal, evolução e respostas às mudanças ambientais (Brodribb et al., 2010, Nardini et al., 2012). A condutância hidráulica foliar (K_F) apresenta uma importante função na regulação das trocas gasosas e, consequentemente, no processo

fotossintético (Hubbard et al., 2001; Brodribb e Holbrook, 2003; Brodribb et al., 2010), sendo altamente dinâmica, variando entre uma ampla escala de tempo (de minutos a meses) e de acordo com o microclima (temperatura e DPV) e fase de crescimento (Sack e Holbrook, 2006). De modo geral, a dinâmica de K_F está estreitamente relacionada à das trocas gasosas, e pequenas variações de potencial hídrico podem promover a cavitação nas nervuras (Brodribb e Holbrook, 2003); dessa forma, condições que favoreçam declínios em K_F poderiam traduzir-se em reduções em g_s e nas taxas transpiratórias (Cochard et al., 2002; Sack e Holbrook, 2006).

O café é a mercadoria tropical mais negociada no mundo, com um valor agregado bruto de mais de 458 bilhões de dólares por ano anualmente (IOC, 2013). Sua produção perfaz a base econômica de mais de 50 países em desenvolvimento, com aproximadamente 500 milhões de pessoas envolvidas em seu processo produtivo, desde o cultivo até o consumo final. O cafeeiro (*Coffea arabica* L.) é uma planta perene originária das florestas tropicais da Etiópia, onde é encontrada em estado espontâneo como vegetação de sub-bosque, sendo considerada uma espécie tolerante à sombra. A maioria das cultivares de café retiveram atributos associados a seu ambiente de evolução, mas podem tolerar condições como seca moderada e alta irradiância. Entretanto, algumas cultivares, como Typica, são inadequadas para cultivo a pleno sol, mostrando sintomas excessivos de fotodano naquela condição (van der Vossen, 2005; DaMatta et al., 2007). De fato, cultivares modernas e mais produtivas de café (como Catuaí e Bourbon) foram selecionadas em ensaios conduzidos a pleno sol e sob elevada aplicação de insumos (DaMatta e Rena, 2002; DaMatta, 2004; DaMatta et al., 2010), de sorte que, sob manejo intensivo, cafezais a pleno sol podem produzir mais que aqueles sombreados (DaMatta e Rena, 2002).

Sob condições atmosféricas de CO_2 e luz saturante, o cafeeiro apresenta baixas taxas fotossintéticas (A), quando comparadas com as de outras espécies tropicais, variando normalmente de 4 a 11 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Silva et al., 2004; Franck et al., 2006; DaMatta et al., 2010). Mesmo sob condições bem irrigadas, g_s de folhas do cafeeiro é extremamente sensível ao déficit de pressão de vapor (DPV), e drásticas reduções ocorrerem com o aumento do DPV (Ronquim et al. 2006; Araújo et al., 2008; Chaves et al. 2008; Franck e Vaast, 2009; Batista et al., 2012), acarretando em reduções progressivas da fotossíntese ao longo do dia, que podem alcançar valores muito baixos ao final da tarde (Batista et al., 2012), indicando que a

baixa fotossíntese poderia ser um resultado de limitações difusivas impostas ao processo fotossintético.

Considerando-se que a capacidade hidráulica do sistema vascular é o principal determinante de g_s (Brodrribb e Holbrook, 2004), e que espécies como o cafeeiro apresentam baixos valores de K_F (Gascó et al., 2004), uma forte resposta estomática ao DPV poderia estar relacionada a um sistema hidráulico menos robusto, podendo ser o principal responsável pelo declínio, ao longo do dia na fotossíntese nas folhas de café. Embora trabalhos anteriores tenham mostrado a influência do DPV sobre o padrão diurno da fotossíntese no cafeeiro (Araújo et al., 2008; Chaves et al. 2008; Batista et al., 2012), ainda pouco se sabe sobre as contribuições dos diferentes fatores difusivos (estomáticos e mesofilicos), e sua associação às limitações impostas pela hidráulica foliar na espécie. Além disso, variações intraespecíficas na capacidade hidráulica foliar poderiam explicar, pelo menos parcialmente, potenciais diferenças de produção observadas entre genótipos modernos em relação àquelas que retiveram características associadas à tolerância à sombra. Nesse sentido, este trabalho buscou avaliar a contribuição dos possíveis fatores que governam as modificações da fotossíntese ao longo do dia em três cultivares de *C. arabica*, bem como elucidar as possíveis relações entre tais fatores e a sensibilidade estomática do cafeeiro a fim de entender as possíveis causas para a baixa capacidade fotossintética da espécie.

Material e métodos

Material vegetal e condições de cultivo

O trabalho foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 650 m altitude), Minas Gerais, utilizando-se de três genótipos de café (*C. arabica* L): *Typica* (MG 0001), a população de café originalmente introduzida no Brasil no início do século XVIII, reconhecidamente de baixa produção e que somente se desenvolve adequadamente em ambientes sombreados; *Bourbon Vermelho* (MG 0011), variedade lançada há mais de 60 anos, e que pode produzir melhor à sombra; e *Catuaí Vermelho* (IAC 44), uma linhagem moderna, altamente produtiva, produzindo melhor a pleno sol que à sombra, nas condições do sudeste do Brasil.

As mudas foram obtidas a partir de sementes germinadas em papel *germitest* umedecido com água destilada equivalente a 2,5 vezes seu peso e colocadas para

germinar a 30°C, por cerca de 30 dias (até atingirem o estágio “palito de fósforo”). As plântulas foram então transferidas para sacolas de polietileno perfuradas com dimensões de 11 x 22 cm. O substrato para o crescimento das plantas constituiu-se de uma mistura de solo, esterco de curral curado e areia (3:1:1, 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. A irrigação foi realizada periodicamente, procurando-se manter a umidade do solo próxima à capacidade de campo. Devido à alta mortalidade apresentada por *Typica* em um experimento anterior, as mudas de todas as cultivares foram mantidas sob ambiente sombreado utilizando-se para tal telas de poliolefinas de densidade neutra.

Duas semanas antes do plantio, as mudas foram aclimatadas em ambiente com 50% da radiação solar. Em fevereiro de 2011, ao alcançarem aproximadamente quatro pares de folhas, as mudas das três variedades foram transplantadas e cultivadas em vasos com capacidade para 12 L de substrato e mantidas a pleno sol por, aproximadamente, um ano. Após emissão do oitavo par de ramos plagiotrópicos, seis plantas por tratamentos foram selecionadas com base na sua uniformidade e analisadas durante todo o experimento.

Avaliações fotossintéticas

Os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* foram medidos simultaneamente utilizando-se de um analisador portátil de gás a infravermelho, equipado com uma câmara de fluorescência (Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, EUA). As medições instantâneas foram realizadas em três horários: 8:00-9:30 h; 12:00-13:30 h e 16:00-17:30 h (horário solar), em folhas jovens completamente expandidas do terceiro a quarto par de ramos plagiotrópicos, sob irradiância de 1000 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de CO_2 de 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$. A temperatura do bloco do analisador supracitado foi mantida a 25°C durante todas as medições e as temperaturas foliares registradas variaram entre 26°C e 29°C.

Folhas adaptadas à luz foram expostas a um pulso de luz saturante de irradiância de 6000 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e duração de 0,8 s, a fim de determinar-se a fluorescência em *steady-state* (F_s) e a fluorescência máxima (F_m'). Também foram registradas a taxa assimilatória líquida (A), a condutância estomática à água ($g_{s\text{H}_2\text{O}}$) e

ao CO₂ (g_{sCO_2}) e a concentração subestomática de CO₂ (C_i). A partir dos dados de fluorescência da clorofila foram estimados o rendimento quântico fotoquímico do transporte de elétrons (Φ_{FSII}) e a taxa de transporte de elétrons (TTE), conforme Genty et al. (1989). As constantes de absorvância foliar (α) e fator de particionamento de elétrons entre os fotossistema (β), utilizadas no cálculo da ETR, foram determinadas para cada tratamento a partir da relação entre A e $RFA\Phi_{FSII}/4$ obtidas mediante a construção de curvas de luz e curvas de CO₂ sob condições não-fotorrespiratórias, em uma atmosfera contendo menos de 1% de O₂ (Yin et al., 2009). Também foram determinados os coeficientes de extinção fotoquímica (q_L) e não-fotoquímica (NPQ), conforme descrito em DaMatta et al. (2002) e em Lima et al. (2002). Adicionalmente a Φ_{FSII} , o rendimento das demais vias concorrentes de desexcitação de clorofilas no FSII, i.e. 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).

As respostas de A à concentração interna de CO₂ (curva A/C_i) foram determinadas a 1000 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, um valor saturante, mas não fotoinibitório, e temperatura do bloco mantida a 25°C (com temperaturas foliares variando entre 27 e 30° C), variando-se a pressão parcial de CO₂, de 5 a 200 Pa. As curvas A/C_i também foram realizadas em folhas mortas (após fervura, com valores de TTE próximos a zero), 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 concentração de CO₂ nos sítios de carboxilação (C_c) foi estimada de acordo com Harley et al (1992):

$$C_c = (\Gamma^*(J_F + 8(A + R_L)))/(J_F - 4(A + R_L))$$

em que Γ^* representa o ponto de compensação cloroplastídica de CO₂ na ausência de fotorrespiração, calculado a partir do fator específico da Rubisco ($S_{c/o}$); A e J_F foram obtidos a partir das medições das trocas gasosas e fluorescência da clorofila, respectivamente, e R_L foi considerado como $R_{\text{dark}}/2$ (respiração mitocondrial no escuro, medida na antemanhã) (Niinemets et al., 2009).

Após estimativa de C_c , a condutância mesofílica (g_m) foi determinada conforme Harley et al (1992):

$$g_m = A/(C_i - C_c)$$

A partir das curvas A/C_i e A/C_c , foi possível calcular a taxa de carboxilação máxima (V_{cmax}) e taxa de carboxilação máxima limitada pelo transporte de elétrons (J_{max}) em base de C_i e C_c , respectivamente, utilizando-se de técnicas de regressão não-linear, baseadas nas equações de Farquhar et al. (1980), modificadas por Sharkey (1985) e Harley e Sharkey (1991). Os parâmetros de cinética da Rubisco utilizados foram os determinados *in vitro*, a 25°C, para *Coffea arabica* (Martins et al., 2013), e corrigidos para as temperaturas de medições, utilizando-se as constantes de temperatura descritas em Bernacchi et al. (2002). As limitações absolutas impostas à fotossíntese foram particionadas em seus diferentes componentes: limitações estomáticas (LS), mesofílicas (LM) e bioquímicas (LB), e calculadas segundo Grassi e Magnani (2005), com modificações propostas por Flexas et al. (2012). As limitações difusivas (LD) foram definidas como: $LD = LS + LM$, e as limitações não estomáticas (LNS) foram obtidas por $LNS = LM + LB$.

Condutância hidráulica foliar

A condutância hidráulica foliar (K_F) foi determinada segundo metodologia descrita por Brodribb e Holbrook (2003b). Essa técnica envolve a determinação de fluxo evaporativo (E) e a queda de potencial hídrico entre o xilema do caule (Ψ_x) e folha inteira (Ψ_f), permitindo, dessa forma, o cálculo de K_F *in situ* por meio da Lei de Ohm aplicada para fluxos hidráulicos.

No início da manhã, a fim de determinar-se o potencial hídrico do xilema do caule, uma folha por planta foi coberta com sacolas plásticas e vedada na base do pecíolo e, em seguida, novamente coberta com sacolas de papel. Entre 11:00 h – 13:00 h, duas folhas expostas adjacentes tiveram suas taxas transpiratórias (E) medidas com o analisador de gases anteriormente citado. Em seguida, as folhas cobertas foram removidas e Ψ_f determinado utilizando-se uma bomba de pressão tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, USA). O valor de K_F foi então calculado e expressos por $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$:

$$K_F = (\Psi_x - \Psi_f) / E$$

Análises estatísticas

O experimento foi analisado em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições por tratamento, no qual a parcela experimental foi sempre uma planta por recipiente de cultivo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância,

e as médias comparadas entre si pelo teste de Newman-Keuls, em 5% de probabilidade, utilizando-se do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas da UFV (SAEG software versão 9.1, 2007).

Resultados

O padrão de respostas dos parâmetros fotossintéticos ao longo do dia foi bastante similar entre as três cultivares de cafeeiro analisadas (Tabela 1), sendo observados menores valores nos parâmetros de trocas gasosas ao final da tarde, ao passo que as variáveis relacionadas à eficiência do uso da água tenderam a aumentar ao longo do dia. Independentemente da cultivar, os maiores valores de A foram encontrados no início da manhã, acompanhando o comportamento de g_s e g_m , que decresceram progressivamente ao longo do dia. Typica apresentou os menores valores de A ($6,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), $g_{\text{SH}_2\text{O}}$ ($39,4 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e $g_s \text{ CO}_2$ ($24,4 \text{ mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Entretanto, o padrão de resposta de g_s e g_m , ao longo do dia parece ter diferido entre as cultivares (Tabela 1). Bourbon apresentou as maiores reduções em g_s (81%), enquanto Typica apresentou maior declínio em g_m ao longo do dia (82%). Comparados aos obtidos no início da manhã, os valores de C_i e C_c reduziram-se ao meio dia (13% e 25%, respectivamente) e, em seguida, não mais se observaram diferenças significativas ($P > 0,005$). Entre os parâmetros de fluorescência da clorofila a , diferenças significativas entre as cultivares foram observadas apenas em TTE no início da manhã (Tabela 1). Ao longo do dia, foram observadas reduções em TTE, q_L e Φ_{FSII} e aumentos em Φ_{NPQ} .

Como resultado da redução de g_s , E reduziu-se gradualmente ao longo do dia em todas as cultivares, com as maiores taxas transpiratórias sendo observadas em Bourbon no início da manhã. Foram observados aumentos na eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) ao longo do dia, com maiores acréscimos encontrados em Bourbon (58%), quando comparados aos das demais cultivares (Tabela 1). Embora tenham apresentado diferentes magnitudes, aumentos em g_m/g_s foram observados em Catuaí (12%) e Bourbon (46%). Por outro lado, em Typica, reduções em g_m/g_s ao meio dia (40%) foram seguidas de aumentos ao final da tarde (42%).

Tabela 1 – Parâmetros de trocas gasosas em genótipos de *Coffea arabica* ao longo do dia. Parâmetros fotossintéticos: *A*, taxa fotossintética líquida ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); $g_{\text{sH}_2\text{O}}$, condutância estomática ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_{sCO_2} , condutância estomática ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_{m} , condutância mesofílica ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); C_{i} , concentração interna de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$); C_{c} , concentração cloroplastídica de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$); E , taxa transpiratória ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); TTE, taxa de transporte de elétrons ($\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); A/g_{s} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$); $g_{\text{m}}/g_{\text{s}}$ ($\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ CO}_2$); q_{L} , coeficiente de extinção fotoquímica; NPQ, coeficiente de extinção não-fotoquímica; Φ_{FSII} , rendimento fotoquímico do FSII, Φ_{NPQ} , rendimento não-fotoquímico associado à dissipação de energia pelo ciclo das xantofilas e Φ_{NO} , outras mecanismo

| Variáveis | Catuaí | | | Bourbon | | | Typica | | |
|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 8h | 12h | 16h | 8h | 12h | 16h | 8h | 12h | 16h |
| <i>A</i> | 7,7 ± 0,2 Aa | 4,9 ± 0,4 Ab | 2,6 ± 0,2 Ac | 8,1 ± 0,5 Aa | 4,7 ± 0,47 Ab | 2,4 ± 0,3 Ac | 6,1 ± 0,5 Ba | 4,1 ± 0,2 Ab | 1,9 ± 0,1 Ac |
| $g_{\text{sH}_2\text{O}}$ | 82,3 ± 6 Ba | 45,2 ± 5 Ab | 21,3 ± 2 Ac | 98,8 ± 9 Aa | 42,9 ± 7 Ab | 18,2 ± 2 Ac | 66,3 ± 7 Ca | 39,4 ± 3 Ab | 15,8 ± 2 Ac |
| g_{sCO_2} | 50,6 ± 4 Ba | 28,0 ± 3 Ab | 13,3 ± 1 Ac | 60,5 ± 5 Aa | 26,6 ± 4 Ab | 11,3 ± 1 Ac | 40,9 ± 4 Ba | 24,4 ± 2 Ab | 9,9 ± 1 Ac |
| g_{m} | 84,7 ± 2 Aa | 48,8 ± 8 Ab | 25,0 ± 3 Ac | 82,9 ± 12 Aa | 37,7 ± 6 Ab | 21,7 ± 4 Ac | 85,1 ± 11 Aa | 30,2 ± 5 Ab | 15,8 ± 3 Ab |
| C_{i} | 226,9 ± 7 Aa | 199,7 ± 8 Ab | 193,6 ± 13 Ab | 246,9 ± 7 Aa | 195,8 ± 10 Ab | 172,5 ± 6 Ab | 230,3 ± 10 Aa | 212,6 ± 6 Ab | 189,1 ± 10 Ab |
| C_{c} | 136,6 ± 4 Aa | 105,1 ± 6 Ab | 90,6 ± 6 Ab | 154,2 ± 7 Aa | 111,8 ± 6 Ab | 109,4 ± 8 Ab | 156,9 ± 8 Aa | 115,8 ± 8 Ab | 93,9 ± 6 Ac |
| E | 1,3 ± 0,06 Ba | 1,3 ± 0,16 Aa | 0,5 ± 0,03 Ab | 1,8 ± 0,14 Aa | 1,1 ± 0,19 Ab | 0,5 ± 0,04 Ac | 1,4 ± 0,12 Ba | 1,2 ± 0,11 Aa | 0,4 ± 0,04 Ab |
| TTE | 75,4 ± 1,9 Aa | 60,3 ± 4,0 Ab | 42,9 ± 2,1 Ac | 77,2 ± 2,1 Aa | 60,9 ± 3,0 Aa | 36,9 ± 1,6 Ab | 62,7 ± 4,2 Ba | 57,8 ± 2,0 Aa | 39,5 ± 2,5 Ab |
| A/g_{s} | 98,6 ± 5 Aa | 108,6 ± 6 Aa | 122,6 ± 8 Aa | 84,7 ± 4 Ab | 116,6 ± 10 Aa | 134,0 ± 4 Aa | 95,3 ± 7 Ab | 105,1 ± 4 Ab | 123,5 ± 6 Aa |
| $g_{\text{m}}/g_{\text{s}}$ | 1,6 ± 0,15 Ab | 1,7 ± 0,23 Ab | 1,8 ± 0,10 Aa | 1,3 ± 0,21 Bb | 1,4 ± 0,20 Bb | 1,9 ± 0,17 Aa | 2,0 ± 0,30 Aa | 1,2 ± 0,09 Bb | 1,7 ± 0,15 Aa |
| q_{L} | 0,30 ± 0,02 Aa | 0,26 ± 0,03 Aa | 0,18 ± 0,02 Ab | 0,27 ± 0,02 Aa | 0,30 ± 0,02 Aa | 0,18 ± 0,01 Ab | 0,27 ± 0,02 Aa | 0,28 ± 0,02 Aa | 0,17 ± 0,01 Ab |
| NPQ | 2,6 ± 0,18 Aa | 2,7 ± 0,21 Aa | 2,8 ± 0,14 Aa | 2,2 ± 0,15 Ab | 2,6 ± 0,15 Aa | 2,6 ± 0,13 Aa | 2,3 ± 0,16 Aa | 2,4 ± 0,15 Aa | 2,3 ± 0,09 Aa |
| Φ_{PSII} | 0,19 ± 0,00 Aa | 0,15 ± 0,01 Ab | 0,11 ± 0,01 Ac | 0,18 ± 0,01 Aa | 0,16 ± 0,01 Aa | 0,09 ± 0,00 Ab | 0,18 ± 0,01 Aa | 0,16 ± 0,01 Aa | 0,11 ± 0,01 Ab |
| Φ_{NO} | 0,26 ± 0,01 Aa | 0,26 ± 0,01 Aa | 0,27 ± 0,01 Aa | 0,29 ± 0,01 Aa | 0,26 ± 0,01 Aa | 0,27 ± 0,01 Aa | 0,28 ± 0,01 Aa | 0,28 ± 0,01 Aa | 0,29 ± 0,01 Aa |
| Φ_{NPQ} | 0,56 ± 0,01 Ab | 0,59 ± 0,01 Ab | 0,63 ± 0,01 Aa | 0,54 ± 0,01 Ac | 0,58 ± 0,02 Ab | 0,64 ± 0,01 Aa | 0,54 ± 0,02 Ab | 0,56 ± 0,01 Ab | 0,60 ± 0,01 Aa |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem significativamente entre os níveis de irradiância dentro do mesmo genótipo; médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem significativamente entre genótipos dentro do mesmo tratamento de luz. As médias foram comparadas entre si pelo Newman-Keuls ($P \leq 0,05$). Todos os valores representam a média ± erro padrão ($n = 6$).

Devido às restrições metodológicas impostas pelo acentuado fechamento estomático em plantas do cafeeiro, os parâmetros derivados das curvas de A em resposta ao CO_2 foram determinados apenas no período da manhã (Tabela 2). Entre as cultivares, Bourbon tendeu a apresentar maior J_{max} (em base de C_i e C_c), que, acompanhados de maiores $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$, estiveram associados à maior A_{max} (16%), quando comparadas às das outras cultivares, que não diferiram entre si. Por outro lado, menores valores de $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$ (em base de C_c) foram observados em plantas de Typica (12%), sugerindo um desbalanço entre a regeneração e a carboxilação da RuBP.

Tabela 2 – Parâmetros de trocas gasosas em genótipos de *Coffea arabica* em base C_i (concentração de CO_2 nos espaços intercelulares) ou C_c (concentração de CO_2 nos cloroplastos). Abreviaturas: A_{max} , capacidade fotossintética máxima ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); V_{cmax} , taxas máximas de carboxilação ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); J_{max} , taxas máximas de transporte de elétrons ($\mu\text{mol elétrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); e $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$, razão entre a taxa máxima de transporte de elétrons pela taxa máxima de carboxilação.

| Variáveis | Catuai | Bourbon | Typica |
|--|---------------|--------------|---------------|
| A_{max} | 19,9 ± 1,2 b | 23,2 ± 0,9 a | 20,0 ± 1,8 b |
| $V_{\text{cmax}}_{C_i}$ | 49,5 ± 1,3 a | 45,7 ± 1,6 a | 40,6 ± 2,2 a |
| $V_{\text{cmax}}_{C_c}$ | 63,5 ± 2,4 a | 74,5 ± 3,8 a | 71,5 ± 2,0 a |
| $J_{\text{max}}_{C_i}$ | 91,3 ± 1,6 b | 102,1 ± 3 a | 85,0 ± 5 c |
| $J_{\text{max}}_{C_c}$ | 104,8 ± 3,6 a | 117,0 ± 7 a | 105,7 ± 3 a |
| $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}_{C_i}$ | 1,9 ± 0,05 b | 2,3 ± 0,13 a | 2,1 ± 0,12 ab |
| $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}_{C_c}$ | 1,6 ± 0,07 a | 1,6 ± 0,04 a | 1,4 ± 0,04 b |

Os dados representam médias ± erro padrão (n = 6). As médias foram comparadas entre si pelo teste de Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

Com base nos dados de V_{cmax} obtidos no início da manhã, procedeu-se à análise dos diferentes componentes limitantes à fotossíntese (Tabela 3). As limitações difusivas foram as principais determinantes nas reduções da fotossíntese, principalmente em Typica ($LD = 79\%$) (Tabela 3). A contribuição dos diferentes processos responsáveis pelas limitações na fotossíntese mostrou que A é principalmente limitada pelo comportamento do estômato, com maiores limitações estomáticas observadas em Typica ($LS = 54\%$), seguidas de Catuai ($LS = 43\%$) e Bourbon ($LS = 42\%$). Por outro lado, as limitações mesofílicas e bioquímicas apresentaram um papel secundário na redução em A . A relação entre A , g_{sCO_2} e g_{m} mostrou que as variações ao longo do dia em A foram principalmente relacionadas às variações de g_{s} (Figura 1). A variável g_{sCO_2} explicou uma maior fração da variância em A ao longo do dia ($r^2 = 0,94$, $P < 0,01$), quando comparada para a relação com g_{m}

($r^2 = 0,72$, $P < 0,01$). Em conjunto, estes dados indicam que as limitações de origem estomáticas são mais restritivas à fotossíntese ao longo do dia, no cafeeiro.

Tabela 3 – Limitações impostas à fotossíntese associadas ao estômato (LS), mesófilo (LM) e fatores bioquímicos em genótipos de café. As limitações foram agregadas para determinar a influência dos fatores difusivos (LD) e não estomáticos (LNS). Os valores expressos em %.

| Variáveis | Catuaí | Bourbon | Typica |
|-----------|--------------|--------------|--------------|
| LS | 43,0 ± 2,3 b | 41,9 ± 1,0 b | 54,4 ± 1,4 a |
| LM | 27,5 ± 0,9 a | 29,6 ± 1,9 a | 24,6 ± 1,0 a |
| LB | 26,9 ± 1,0 a | 28,5 ± 2,1 a | 21,0 ± 1,7 b |
| LD | 70,4 ± 1,3 b | 71,5 ± 1,1 b | 79,0 ± 2,0 a |
| LNS | 54,4 ± 2,0 b | 58,1 ± 2,0 a | 45,6 ± 2,4 b |

Estatística conforme Tabela 2.

Entre as cultivares, maiores valores de K_F foram observados em Bourbon (7,2 mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹), seguidos de Catuaí (5,8 mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹) e Typica (2,1 mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹). Entre os possíveis fatores atuantes sobre as quedas de g_s observadas nas plantas de cafeeiro neste estudo, correlações mais expressivas foram observadas entre g_s e K_F ($r^2 = 0,91$, $P < 0,01$) e entre K_F e déficit de pressão de vapor (DPV) ($r^2 = -0,86$, $P < 0,01$), que encontradas entre g_s e DPV ($r^2 = -0,77$, $P < 0,01$) (Figura 2), reforçando a importância das limitações hidráulicas na redução da condutância estomática no cafeeiro em resposta ao DPV.

Discussão

Variações diurnas da condutância estomática e mesofílica influenciam a eficiência do uso da água em cafeeiro

Os resultados obtidos neste estudo mostram que, a pleno sol, o ajustamento da abertura estomática ao longo do dia foi o principal fator determinante das flutuações da taxa de fotossíntese em cafeeiro, corroborando estudos prévios (e.g Araújo et al. 2008; Batista et al., 2012). Embora mudanças diárias em g_s , g_m e A tenham sido observadas, C_i e C_c pouco variam, sugerindo que C_c parece ter pouca influência sobre as modificações de A , provavelmente relacionada à redução paralela observada em g_s e g_m . Por outro lado, o padrão ao longo do dia em A foi mais fortemente relacionado ao observado em g_s , reforçando o papel da condutância estomática na redução em A ao longo do dia no cafeeiro.

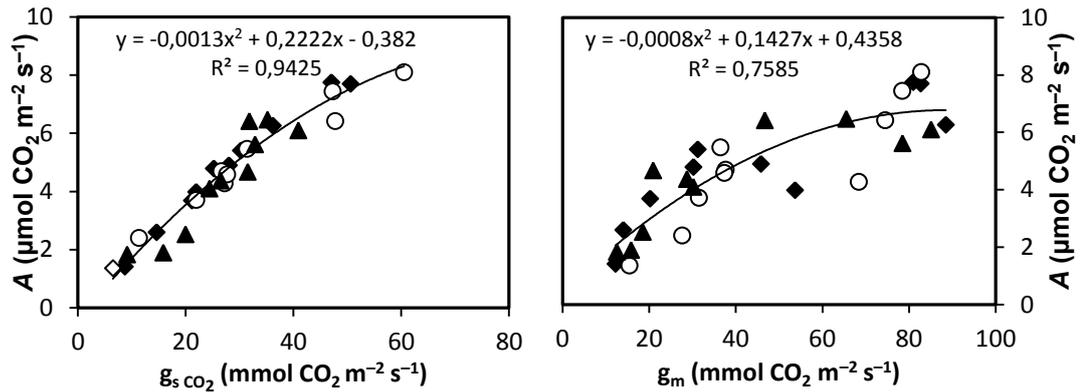


Figura 1 – Relação entre as médias ao longo do dia da taxa fotossintética líquida (A) e condutâncias estomática do CO_2 ($g_{s\text{CO}_2}$) e mesofílica (g_m) em três cultivares de cafeeiro: Catuaí (diamantes cheios), Bourbon (círculos vazios) e Typica (triângulo cheios).

Associados à redução da abertura estomática, aumentos na razão g_m/g_s tenderam a ocorrer ao longo do dia. Fotossinteticamente, uma co-regulação entre a difusão de água e do CO_2 é esperada e pode otimizar a fotossíntese. Entretanto, da perspectiva da eficiência do uso da água, as considerações teóricas sugerem que um desacoplamento entre as duas condutâncias pode ser vantajoso (Flexas et al., 2012). Embora reduções simultâneas em ambas as condutâncias tenham sido observadas ao longo do dia, aumentos em A não foram observados no cafeeiro. Acréscimos em A/g_s associados a aumentos de g_m/g_s também foram encontrados em outras espécies (Flexas et al., 2008; Flexas et al., 2012), e indicariam que, ao longo do dia, as reduções da condutância foliar ao CO_2 (determinado tanto por g_s como g_m) ocorreriam em uma menor magnitude do que as reduções da condutância foliar à água (principalmente determinada por g_s) (Galmés et al., 2011) e sugerem que o cafeeiro favoreceria a eficiência do uso da água em detrimento da fotossíntese.

Aspectos estomáticos da limitação fotossintética

Os aspectos difusivos traduziram-se em maiores limitações à fotossíntese, independentemente das cultivares analisadas. Os resultados encontrados neste trabalho mostram que, as limitações estomáticas foram os principais fatores determinantes do processo fotossintético no cafeeiro, contrário ao observado em outras espécies que sugerem que as limitações estomáticas e mesofílicas exercem um mesmo grau de limitação sobre o processo fotossintético (Grassi e Magnani, 2005; Flexas et al., 2008; Warren, 2008; Flexas et al., 2012; Peguero-Pina et al., 2012).

Em um trabalho envolvendo a análise de varias espécies, Flexas et al. (2012) avaliaram as limitações relativas impostas à fotossíntese e observaram que até uma

limitação total de 25%, as limitações difusivas à fotossíntese foram as principais encontradas. Entretanto, com aumento das limitações totais, a contribuição relativa das limitações estomáticas passa a ser maior, seguida por limitações mesofílicas e finalmente pelas bioquímicas. Embora o presente trabalho tenha determinado as limitações absolutas impostas à fotossíntese, os resultados obtidos pelos autores citados corroboram os obtidos no cafeeiro.

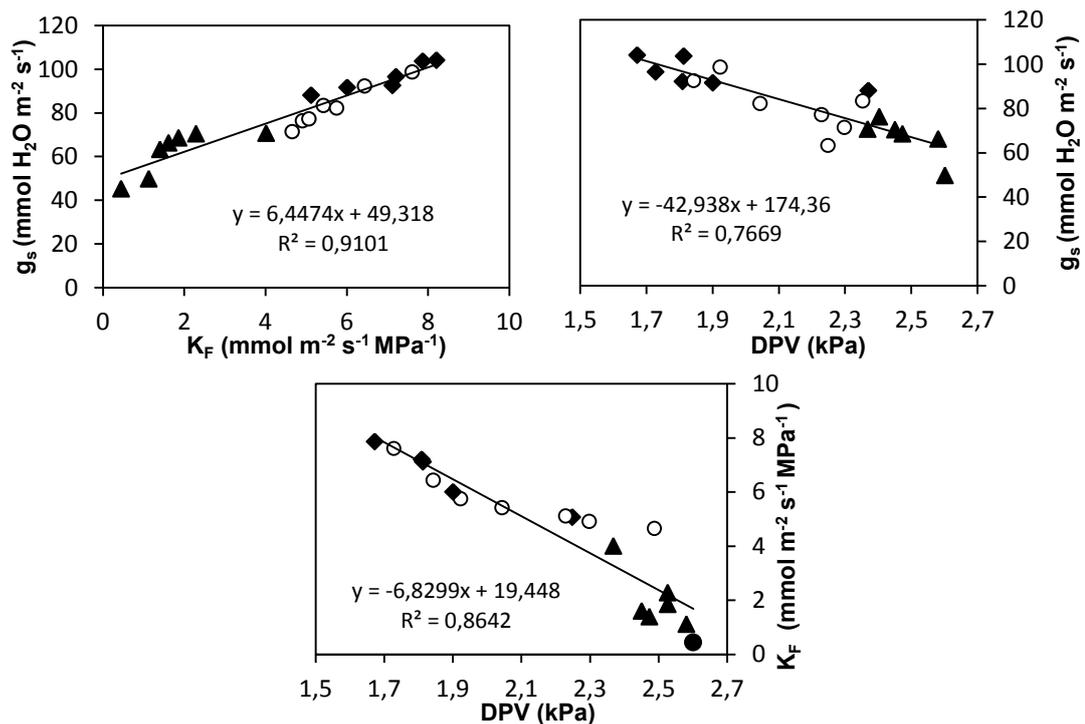


Figura 2 – Relação entre condutância estomática da H_2O (g_{sH_2O}), condutância hidráulica (K_F) e déficit de pressão de vapor em genótipos de *C. arabica*: Catuaí (diamantes cheios), Bourbon (círculos vazios) e Typica (triângulo cheios).

Vale ressaltar que as limitações à fotossíntese encontradas foram derivadas das medições obtidas no período da manhã, uma vez que as acentuadas reduções em g_s no cafeeiro impõem restrições metodológicas na obtenção dos valores de V_{cmax} ao longo do dia. Entretanto, o método ‘pontual’ descrito por Wilson et al. (2000) e modificado por Grassi e Magnani (2005) foi utilizado para obtenção de valores de V_{cmax} ao longo do dia e, a partir desses, as limitações à fotossíntese foram calculadas, as quais mostraram o mesmo padrão de resposta: as limitações difusivas são aquelas que mais influenciam A , sendo as limitações estomáticas responsáveis por mais de 40% das limitações totais; além disso, aumentos de LS também foram observados ao longo do dia (dados não mostrados). Estes resultados mostram que, no cafeeiro,

independentemente das cultivares analisadas e horário do dia, a abertura estomática possui um papel preponderante na limitação da fotossíntese.

Reduções em Φ_{FSII} paralelas a aumentos em Φ_{NPQ} foram observadas ao longo do dia. Esse padrão associado a um grande *pool* de zeaxantina e maior estado de desepoxidação das xantofilas em cafeeiro (Matos et al., 2009), possui importante papel na proteção contra o excesso de energia, associado ao fato de que a retroinibição metabólica da fotossíntese associada ao acúmulo de produtos finais não tem sido observada ao longo do dia em cafeeiro (Araújo et al., 2008; DaMatta et al., 2008; Batista et al., 2012), e reforçaria o papel das limitações estomáticas sobre as reduções de A ao longo do dia.

Condutância estomática do cafeeiro pode ser determinada por K_F e DPV

O comportamento diário de A , em resposta a reduções em g_s , obtido neste trabalho foi anteriormente observado em *Coffea* (Ronquim et al., 2006; Araújo et al., 2008; Chaves et al., 2008; DaMatta et al., 2008; Batista et al., 2012; Chaves et al., 2012) e *Citrus* (Ribeiro et al., 2009) e indicaria que, no cafeeiro, uma máxima abertura estomática no período da manhã, sob condições ambientais mais favoráveis, poderia favorecer uma elevada performance fotossintética. A alta sensibilidade da assimilação de carbono a variações hídricas é mediada por uma resposta estomática sensível a reduções na umidade do solo ou à alta demanda evaporativa (Aranda et al., 2012). Batista et al. (2012) avaliaram a influência da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e do déficit de pressão de vapor (DPV) sobre a fotossíntese do cafeeiro, e observaram que A foi principalmente governada pelo padrão de abertura estomática, como consequência do aumento do déficit de pressão de vapor. No presente trabalho, g_s também apresentou uma alta correlação com DPV, indicando que as condições de alta demanda evaporativa ao longo do dia promoveram reduções na condutância estomática.

Brodrribb e Holbrook (2004) mostraram uma queda diária na condutividade hidráulica durante períodos de alta evapotranspiração, e sugeriram que um *feedback* positivo entre K_F e potencial hídrico foliar aumentariam a probabilidade de falha hidráulica. Além disso, trabalhos anteriores mostraram que, em várias espécies, a folha opera próximo, ou dentro dos limites de ocorrência da cavitação (Brodrribb e Holbrook, 2003; LoGullo et al., 2003; Brodrribb e Holbrook, 2004), e poderia dessa forma, sofrer declínio diurno de K_F , resultando em decréscimos na assimilação diária

de CO₂. Uma vez que uma alta correlação parece existir entre g_s e K_F no cafeeiro, a alta sensibilidade estomática ao DPV parece ser um resultado da baixa condutividade hidráulica das folhas do cafeeiro, quando comparadas a outras *Rubiaceae* (Guyot et al., 2012) e espécies lenhosas (Brodribb e Holbrook, 2004; Pasquet-Kok et al., 2010), indicando que K_F atuaria como o fator primário na redução da condutância estomática à água em cafeeiro, constituindo-se, pois no principal limitante do processo fotossintético nessa espécie.

Brodribb et al. (2010), ao avaliarem várias espécies, obtiveram uma estreita relação entre K_F e A_{max} , sugerindo que a arquitetura hidráulica foliar possui um importante papel na capacidade de assimilação do CO₂. Dessa forma, os baixos valores de K_F (2,1 mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹), muito menores do que aqueles obtidos por Gascó et al. (2004) em *C. arabica* (4,2 mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹), indicam que, embora Typica possua uma capacidade fotossintética semelhante à das demais cultivares, sua maior limitação fotossintética poderia ser um resultado de uma arquitetura hidráulica menos robusta, podendo constituir-se em um fator de destaque na redução da produtividade dessa cultivar sob condições de cultivo a pleno sol.

Independentemente das cultivares, os aspectos difusivos foram os principais responsáveis pela limitação da assimilação de CO₂ no cafeeiro. Particularmente, os aspectos estomáticos revestiram-se de maior importância que as limitações mesofílicas e bioquímicas. Associados a isso, a sensibilidade à demanda evaporativa observada na espécie parece o principal responsável pela redução da abertura estomática ao longo do dia e parecem primariamente impostas por uma arquitetura hidráulica foliar pouco eficiente, podendo ser um dos principais fatores responsáveis pelas baixas taxas fotossintéticas encontradas no cafeeiro.

Referências

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 Physiol Biochem* **46**: 894-890

Batista D, Araújo WL, Antunes WC, Cavatte PC, Moraes GABK, Martins SCV, DaMatta FM (2012) Photosynthetic limitations in coffee plants are chiefly governed by diffusive factors. *Trees* **26**: 459-468

Bernacchi CJ, Portis AR, Nakano H, von Caemmerer S, Long SP (2002) Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of Rubisco enzyme kinetics and for limitation to photosynthesis in vivo. *Plant Physiol* **130**: 1992-1998

Brodribb TJ, Feild TS, Sack L (2010) Viewing leaf structure and evolution from a hydraulic perspective. *Funct Plant Biol* **37**: 488-498

Brodribb TJ, Holbrook MN (2003) Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiol* **132**: 2166-2173

Brodribb TJ, Holbrook MN (2003b) Changes in leaf hydraulic conductance during leaf shedding in seasonally dry tropical forest. *New Phytol* **158**: 295-303

Brodribb TJ, Holbrook NM (2004) Diurnal depression of leaf hydraulic conductance in a tropical tree species. *Plant Cell Environ* **27**: 820-827

Brodribb TJ, Jordan GJ (2008) Internal coordination between hydraulics and stomatal control in leaves. *Plant Cell Environ* **31**: 1557-1564

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, Pereira JS, Maroco JP, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osorio ML, Carvalho I, Faria T, Pinheiro C (2002) How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Ann Bot* **89**: 907-916

Cochard H, Coll L, Le Roux X, Ameglio T (2002) Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiol* **128**: 282-290.

DaMatta FM (2004) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Res* **86**: 99-114

DaMatta FM, Cunha RL, Antunes WC, Martins SVC, Araújo WL, Fernie AR, Moraes GABK (2008) In field-grown coffee trees source-sink manipulation alters photosynthetic rates, independently of carbon metabolism, via alterations in stomatal function. *New Phytol* **178**: 348-357

DaMatta FM, Loos RA, Silva EA, Loureiro ME (2002) Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. *J Plant Physiol* **159**: 975-981

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*. UFV, Viçosa, 93-135

DaMatta FM, Rodríguez N (2007) Producción sostenible de cafetales en sistemas agroforestales del Neotrópico: una visión agronómica y ecofisiológica. *Agron Colomb* **25**: 113-123

DaMatta FM, Ronchi CP, Maestri M, Barros RS (2010) Coffee: environment and crop physiology. In: DaMatta FM (ed). *Ecophysiology of tropical tree crops*. Nova Science Publishers, New York, 181-216

Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* **149**: 78-90

Flexas J, Barbour MM, Brendel O, Cabrera HM, Carriquí M, Díaz-Espejo A, Douthe C, Dreyer E, Ferrio JP, Gago J, et al. (2012) Mesophyll diffusion conductance to CO₂: an unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Sci* **193-194**: 70-84

Flexas J, Dias-Espejo A, Galmés J, Kaldenhoff R, Medrano H, Ribas-Carbo M (2007) Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant Cell Environ* **30**: 1284-1298

Flexas J, Díaz-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. *J Exp Bot* **58**: 1533-1543

Flexas J, Ribas-Carbó M, Diaz-Espejo A, Galmés J, Medrano H (2008) Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant Cell Environ* **31**: 602-621

Franck N, Vaast F (2009) Limitation of coffee leaf photosynthesis by stomatal conductance and light availability under different shade levels. *Trees* **23**: 761-769

Franck N, Vaast P, Génard M, Dauzat J (2006) Soluble sugars mediate sink feedback down-regulation of leaf photosynthesis in field-grown *Coffea Arabica*. *Tree Physiol* **26**: 517-525

Galmés J, Conesa MAN, Ochogavía JM, Perdomo JA, Francis DM, Ribas-Carbó M, Savé R, Flexas J, Medrano H, Cifre J (2011) Physiological and morphological adaptations in relation to water use efficiency in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*. *Plant Cell Environ* **34**: 245-260

Gascó A, Nardini A, Salleo S (2004) Resistance to water flow through leaves of *Coffea arabica* is dominated by extra-vascular tissues. *Funct Plant Biol* **31**: 1161-1168

Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem Biophys Acta* **990**: 87-92

Grassi G, Magnani F (2005) Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant Cell Environ* **28**: 834-849

Guyot G, Scoffoni C, Sack L (2012) Combined impacts of irradiance and dehydration on leaf hydraulic conductance: insights into vulnerability and stomatal control. *Plant Cell Environ* **35**: 857–871

Harley PC, Loreto F, Di Marco G, Sharkey TD (1992) Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. *Plant Physiol* **98**: 1429-1436

Harley PC, Sharkey TD (1991) An improved model of C₃ photosynthesis at high CO₂: reversed O₂ sensitivity explained by lack of glycerate re-entry into the chloroplast. *Photosynth Res* **27**: 169-178

Hubbard RM, Ryan MG, Stiller V, Sperry JS (2001) Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant Cell Environ* **24**: 113–121

ICO, International Coffee Organization (2013) Belo Horizonte Declaration: 12 setembro de 2013. Disponível em: <<http://www.ico.org/documents/cy2012-13/belo-horizonte-declaration-e.pdf>>. Acesso em 16/10/2013

Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE (2004) New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynth Res* **79**: 209-218

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. *Environ Exp Bot* **47**: 239-247

Lo Gullo MA, Nardini A, Triflio P, Salleo S (2003) Changes in leaf hydraulic and stomatal conductance following drought stress and irrigation in *Ceratonia siliqua* (Carob tree). *Physiol Plant* **117**: 186–194

Matos FS, Wolfgramm R, Gonçalves FV, Cavatte PC, Ventrella MC, DaMatta FM (2009) Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environ Exp Bot* **67**: 421-427

Nardini A, Pedá G, Salleo S (2012) Alternative methods for scaling leaf hydraulic conductance offer new insights into the structure–function relationships of sun and shade leaves. *Funct Plant Biol* **39**: 394-401

Niinemets U, Díaz-Espejo A, Flexas J, Galmés J, Warren CR (2009) Role of mesophyll diffusion conductance in constraining potential photosynthetic productivity in the field. *J Exp Bot* **60**: 2249-2270

Pasquet-Kok J, Creese C, Sack L (2010) Turning over a new 'leaf': multiple functional significances of leaves versus phyllodes in Hawaiian *Acacia koa*. *Plant Cell Environ* **33**: 2084-100

Peguero-Pina JJ, Flexas J, Galmés J, Niinemets U, Sancho-Knapik D, Barredo G, Villarroya D, Gil-Pelegrín E (2012) Leaf anatomical properties in relation to differences in mesophyll conductance to CO₂ and photosynthesis in two related Mediterranean *Abies* species. *Plant Cell Environ.* **35**: 2121-2129

Ribeiro RV, Machado EC, Santos MG, Oliveira RF (2009) Seasonal and diurnal changes in photosynthetic limitation of young sweet orange trees. *Environ Exp Bot* **66**: 203–211

Ronquim JC, Prado CHBA, Novaes P, Fahl JI, Ronquim CC (2006) Carbon gain in *Coffea arabica* during clear and cloudy days in the wet season. *Exp Agric* **42**: 147–164

Sack L, Holbrook MN (2006) Leaf hydraulics. *Annu Rev Plant Biol* **57**: 361-381

SAEG (2007) *Sistema de análises estatísticas e genéticas*: versão 9.1. Viçosa, Fundação Arthur Bernardes

Sharkey TD (1985) Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants: physics, physiology and rate limitations. *Bot Rev* **51**: 53-105

Silva EA, DaMatta FM, Ducatti C, Regazzi AJ, Barros RS (2004) Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of arabica coffee trees. *Field Crops Res* **89**: 349-357

van der Vossen HAM (2005) A critical analysis of the agronomic and economic sustainability of organic coffee production. *Exp Agric* **41**: 449-473

Warren CR (2008) Stand aside stomata, another actor deserves centre stage: the forgotten role of the internal conductance to CO₂ transfer. *J Exp Bot* **59**: 1475-1487

Wilson KB, Baldocchi DD, Hanson PJ (2000) Quantifying stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation resulting from leaf aging and drought in mature deciduous tree species. *Tree Physiol* **20**: 787–797

Yin X, Struik PC, Romero P, Harbinson J, Evers JB, van der Putten PEL, Vos J (2009) Using combined measurements of gas exchange and chlorophyll fluorescence to estimate parameters of a biochemical C₃ photosynthesis model: a critical appraisal and a new integrated approach applied to leaves in a wheat (*Triticum aestivum*) canopy. *Plant Cell Environ* **32**: 448-464

IV CONCLUSÕES GERAIS

Evidenciou-se que a baixa capacidade do cafeeiro em ajustar a sua maquinaria bioquímica à disponibilidade de luz parece traduzir-se numa estratégia ineficiente de alocação de recursos, fato principalmente observado em cultivares modernas. Isso representa uma desvantagem do ponto de vista agrônomo, principalmente devido aos elevados custos metabólicos/energéticos para manutenção de uma maquinaria bioquímica robusta em folhas submetidas a baixos níveis de irradiância. A melhor aclimação da cultivar Catuaí às altas irradiâncias parece estar relacionada a mecanismos fotoprotetores e antioxidativos mais eficientes, bem como a uma maior plasticidade fotossintética, embora a menor plasticidade observada para caracteres fotoprotetores e antioxidantes possa indicar uma especialização da cultivar, como resultado do melhoramento genético sob condições de cultivo a pleno sol. Por outro lado, embora tenha apresentado uma maior plasticidade fenotípica associada ao sistema antioxidante, a cultivar Typica mostrou maiores riscos de ocorrência de fotodanos e fotoinibição sob altas irradiâncias, indicando que, nessa cultivar, os processos fotoprotetores seriam menos eficientes, e poderiam ser uma resposta ao bem estabelecido conflito entre tolerância a sombra e crescimento sob altas disponibilidades de luz. Relembre-se, ainda, que a taxa de sobrevivência das mudas de Typica, após a transferência de viveiros sombreados para condições de pleno sol, é relativamente baixa, comparada com a das outras cultivares. Esses dados podem explicar, pelo menos parcialmente, o porquê de Typica não se desenvolver bem a pleno sol.

Adicionalmente, os resultados mostram que, independentemente das cultivares, os aspectos difusivos foram os principais responsáveis pela limitação da assimilação de CO₂ no cafeeiro; particularmente os fatores estomáticos foram mais importantes que os fatores mesofílicos e bioquímicos. Em adição, a sensibilidade à demanda evaporativa observada na espécie parece o principal responsável pela redução da abertura estomática ao longo do dia e parecem ser primariamente impostas por uma arquitetura hidráulica foliar pouco eficiente, podendo ser um dos principais fatores responsáveis pelas baixas taxas fotossintéticas encontradas no cafeeiro. Dessa forma, embora Typica possua uma capacidade fotossintética semelhante à das demais cultivares, sua maior limitação fotossintética poderia ser

resultado de uma arquitetura hidráulica menos robusta, podendo constituir-se em um fator de destaque na redução da produtividade dessa cultivar sob condições de cultivo a pleno sol.