

ÂNGELA TEN CATEN

**TROCAS GASOSAS E METABOLISMO ANTIOXIDATIVO EM  
*Coffea canephora* EM RESPOSTA AO SOMBREAMENTO  
PROMOVIDO POR *Hevea brasiliensis***

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2007

ÂNGELA TEN CATEN

**TROCAS GASOSAS E METABOLISMO ANTIOXIDATIVO EM  
*Coffea canephora* EM RESPOSTA AO SOMBREAMENTO  
PROMOVIDO POR *Hevea brasiliensis***

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

APROVADA: 27 de fevereiro de 2007

---

Prof. Marco Aurélio Pedron e Silva  
(Co-Orientador)

---

Profª. Marília Contin Ventrella  
(Co-Orientadora)

---

Prof. Raimundo Santos Barros

---

Prof. Marcelo Ehlers Loureiro

---

Prof. Fábio Murilo DaMatta  
(Orientador)

***A Deus  
Aos meus pais, Adair e Antônio  
Aos meus irmãos, Carlos e Cristiano  
Ao meu noivo, Anselmo***

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Biologia Vegetal e ao programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização deste curso.

À FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

Ao Prof. Fábio, pela orientação, amizade e bons momentos compartilhados.

Ao Incaper, por ter cedido a área para a realização do experimento.

Ao meu eterno professor Jerônimo (*in memoriam*), pelo incentivo e confiança.

Às amigas Giselda, Ionara, Nair, Carolina, Daniela, Maristela, Francielle e Isane, pela amizade e por terem feito parte da “minha família” em Viçosa.

Aos meus conterrâneos, Cíntia, Sustanis, Carlos e Ednaldo, por me lembrarem da “terrinha matogrosense”.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pelos ensinamentos.

Aos amigos e companheiros do Grupo Café: Karine, Paulo César (PC I), Roberto, Agnaldo, Marcelo, Samuel, Elaine Celin, Ricardo e Gustavo, pela amizade e colaboração.

Aos meus colegas Paulo Cezar (PC II), Cláudio, Wagner, Werner e professora Marília, pela imensa ajuda em diversas etapas do desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas da Fisiologia: Elaine Cabrini, Otávia, Crislene, Valdir, Breno, Roni, Éber e Clarice, pela amizade.

Aos funcionários Mercês, Marreco, Carlos Raimundo, Zé Maria, Zé Antônio, Osvaldo, Reginaldo e Bety, pela ajuda.

Aos funcionários do Incaper, do pela ajuda na coleta dos dados.

A todos aqueles que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a conclusão de mais esta etapa da minha vida profissional.

## **BIOGRAFIA**

ÂNGELA TEN CATEN, filha de Antônio Ten Caten e Adair Possebom Ten Caten, nasceu no dia 23 de outubro de 1979, em Barra do Garças, Estado de Mato Grosso.

Em março de 2000, iniciou o curso Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, colando grau em 27 de março de 2004 na Universidade Federal de Goiás.

Em março de 2005, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1.0 - INTRODUÇÃO.....	1
2.0 - REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.0 - MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3.1 - Parâmetros agrometeorológicos.....	10
3.2 - Ângulo foliar.....	10
3.3 - Trocas gasosas.....	10
3.4 - Potencial hídrico foliar.....	11
3.5 - Nitrogênio.....	11
3.6 - Pigmentos.....	12
3.7 - Peróxido de hidrogênio e danos celulares.....	12
3.8 - Ensaio enzimáticos.....	13
3.9 - Estatística.....	15
4.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5.0 - CONCLUSÕES.....	29
6.0 - BIBLIOGRAFIA.....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS

- $A$  = taxa de assimilação líquida de carbono
- APX = peroxidase do ascorbato
- CAT = catalase
- $C_i/C_a$  = razão entre as concentrações interna e ambiente de  $\text{CO}_2$
- ERO's = espécies reativas de oxigênio
- $F_0$  = fluorescência inicial
- $F_m$  = fluorescência máxima
- FSII = fotossistema II
- $F_v/F_m$  = eficiência fotoquímica máxima do FSII
- GR = redutase da glutatona
- $g_s$  = condutância estomática
- MDA = aldeído malônico
- MS = massa seca
- NPQ = coeficiente de extinção não-fotoquímico
- RFA = radiação fotossinteticamente ativa
- SOD = dismutase do superóxido
- $T_f$  = temperatura foliar
- $\delta e$  = déficit de pressão de vapor entre o interior da folha e a atmosfera
- $\Psi_{am}$  = potencial hídrico de antemanhã
- $\Psi_w$  = potencial hídrico

## RESUMO

CATEN, Ângela Ten, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2007.  
**Trocas gasosas e metabolismo antioxidativo em *Coffea canephora* em resposta ao sombreamento promovido por *Hevea brasiliensis*.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta. Co-Orientadores: Marco Aurélio Pedron e Silva e Marília Contin Ventrella

Apesar de ter evoluído em ambientes sombreados, o café conilon (*Coffea canephora*) vem sendo cultivado tradicionalmente a pleno sol. Atualmente, há um interesse crescente em cultivar-se o café em sistemas arborizados e, portanto, sob algum grau de sombreamento. Neste trabalho, procurou-se contrastar dois clones de café conilon, o 109A (relativamente sensível ao estresse oxidativo) e o 120 (relativamente tolerante ao estresse oxidativo) para explorarem-se suas respostas fisiológicas à disponibilidade de luz e, assim, examinar a plasticidade do café conilon às variações de irradiância. O experimento foi conduzido em uma lavoura com fileiras de seringueira plantadas perpendicularmente às fileiras do café, no sentido norte-sul, e o café, no sentido leste-oeste. As posições de avaliações foram: oeste, meio e leste da linha de café. Ainda que as taxas fotossintéticas tenham sido baixas, não se observou, ao longo do dia, fotoinibição da fotossíntese, mesmo em plantas mais expostas à radiação solar. De modo geral, as folhas do cafeeiro, independentemente dos clones e posições avaliadas, apresentaram capacidades similares de dissipação da irradiância em processos fotoquímicos e não-fotoquímicos. Ambos os clones apresentaram variações na inclinação foliar ao longo do dia, independentemente do *status* hídrico foliar. As atividades das enzimas antioxidantes tenderam, geralmente, a ser ligeiramente menores no clone 120 que no clone 109A; contudo, a peroxidação de lipídios, o extravasamento de eletrólitos e a concentração de peróxido de hidrogênio foram similares nos clones e nas posições avaliadas. Sugere-se que o sombreamento, na medida em que pode contribuir para um *status* hídrico mais favorável, pode ser uma alternativa promissora para reduzir-se a quantidade de água usada na irrigação, ou para aumentar a eficiência do uso da água em lavouras de café conilon.



## ABSTRACT

CATEN, Ângela Ten, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2007. **Gas exchange and antioxidative metabolism in *Coffea canephora* in response to shading from *Hevea brasiliensis*.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta. Co-Advisers: Marco Aurélio Pedron and Silva e Marília Contin Ventrella

Despite being evolved in shady environments, robusta coffee (*Coffea canephora*) has been traditionally cropped at full exposure. Currently, there is an increasing trend for growing coffee shrubs under taller trees, thus under some degree of shade. In this study, two clones of robusta coffee, 109A (relatively sensitive of oxidative stress) and 120 (relatively tolerant) were compared in order to explore their physiological responses to light availability, and to examine their plasticities to varying irradiance. The experiment was conducted in the field with rows of rubber trees (north-south orientation) planted perpendicularly to the coffee rows (east-west orientation). The evaluations were carried out in the east, middle and west of the coffee hedgerows. Although their photosynthetic rates were very low, photoinhibition of photosynthesis over the course of the day was not detected, even in the more exposed plants to solar radiation. Generally, regardless of treatments, coffee leaves showed similar abilities to dissipate irradiance through photochemical and non-photochemical processes. Leaf inclination changed over the course of the day in both clones, regardless of leaf water status. Overall, activities of antioxidant enzymes tended to be slightly lower in clone 120 than in clone 109A. However, lipid peroxidation, electrolyte leakage and hydrogen peroxide concentration were all similar irrespective of treatments. It is proposed that shading, as it can contribute to a better plant water status, may be a promising alternative to reduce the amount of water employed in irrigation systems or, alternatively, to increase the water-use efficiency of robusta coffee stands.

## 1.0 - INTRODUÇÃO

Dentre cerca de 100 espécies de *Coffea* descritas (Fazuoli, 1986), *C. arabica* L. (café arábica) e *C. canephora* Pierre (café robusta) são as únicas com expressão econômica no mercado mundial. Nos últimos anos, a produção do café robusta vem aumentando, comparativamente, mais que a do arábica: em 1985, cerca de 25% da produção mundial de café era derivada do café robusta e, em 2005, esse percentual elevou-se para cerca de 38%. No Brasil, e particularmente no Espírito Santo, a produção de café robusta é originária da variedade *kouillou*, popularmente conhecida como conilon.

Nativo de regiões tropicais da África, tanto o café arábica como o robusta evoluíram como espécies lenhosas de sub-bosque. As primeiras plantações de café arábica foram, portanto, conduzidas sob sombreamento, por meio de consórcio com árvores de maior porte, com a finalidade de simular o habitat natural da cultura. Em muitas situações, entretanto, cafezais a pleno sol podem produzir mais que aqueles sombreados (Beer et al., 1998). Como consequência, o sombreamento foi abandonado como uma prática cultural regular em muitas regiões do mundo.

A principal região produtora de café conilon no Brasil se concentra no norte do Espírito Santo. Em boa parte dessa região, há expressivo déficit hídrico anual que, aliado à distribuição irregular de chuvas, promove um período seco, que se estende por aproximadamente cinco meses, coincidindo com a estação fria (Siag, 2006). É comum, também, a ocorrência de veranicos associada a temperaturas que se aproximam de, podendo eventualmente ultrapassar, 40°C durante a fase crítica de enchimento de grãos, levando a quedas significativas na produtividade

das lavouras naquela região, devido ao elevado grau de chochamento dos grãos. Ademais, os solos da região são rasos, de textura predominantemente média a arenosa, com baixa fertilidade natural, e apresentam baixa capacidade de retenção da água. Essas condições, aliadas à ocorrência de ventos fortes e à elevada taxa evapotranspiratória, impõem à cafeicultura do norte capixaba a necessidade de utilização da irrigação, o que contribui para a elevação do custo de produção do café (DaMatta et al., 2007).

Os fortes ventos nordeste e sudeste, que normalmente ocorrem no final do período da seca (agosto), têm proporcionado prejuízo intenso à cafeicultura do Espírito Santo. Nesse período, as lavouras não-irrigadas, debilitadas pela colheita e poda e pelo longo período de déficit hídrico (abril a agosto), sofrem expressivo desfolhamento, tornando-se menos produtivas e longevas. Esses fatores, somados às freqüentes oscilações do preço do café, têm redirecionado a visão do cafeicultor para os aspectos relacionados à utilização de espécies perenes que possam ser consorciadas com o café, visando-se ao aumento da rentabilidade por área cultivada e à minimização dos efeitos adversos do clima (particularmente seca, altas temperaturas e ventos) sobre a lavoura. Nesse contexto, na região de plantio de café conilon no norte do Espírito Santo, o cultivo consorciado tem-se tornado uma prática cada vez mais comum (DaMatta et al., 2007). Registre-se que o café é uma mercadoria bastante vulnerável às flutuações de preço no mercado internacional e, seguramente, a diversificação é uma estratégia para manter ou melhorar o equilíbrio econômico da propriedade.

O sombreamento, ao reduzir a irradiância incidente sobre o cafezal, e ao permitir maiores condutâncias estomáticas, em decorrência do menor déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera (DaMatta, 2004b), deve afetar sobremodo os processos fisiológicos como as trocas gasosas e o metabolismo de espécie reativas de oxigênio (ERO's). Sugere-se, portanto, que o desempenho fotossintético e a produção de clones de café conilon mais sensíveis à seca e ao estresse oxidativo possam ser maximizados numa extensão superior à dos clones mais tolerantes àqueles estresses, quando cultivados sob sombreamento. Neste experimento, foram selecionados dois clones, o 109A (relativamente sensível à seca e ao estresse oxidativo) e o 120 (relativamente tolerante à seca e ao estresse oxidativo) (Lima et al., 2002; Oliveira, 2005; Pinheiro et al., 2004) sendo, pois, contrastados, sob condições de campo, para explorarem-se suas respostas

fisiológicas à disponibilidade de luz e, assim, examinar-se a plasticidade do café conilon às variações de irradiância. Especificamente, avaliaram-se os efeitos do sombreamento sobre as trocas gasosas, as relações hídricas e os mecanismos de proteção contra danos oxidativos em clones de café conilon com sensibilidades diferenciais ao estresse oxidativo, contrastando-os com as respostas obtidas a pleno sol.

## 2.0 - REVISÃO DE LITERATURA

O termo arborização é empregado para indicar um sombreamento esparso, até, no máximo, cerca de 50% de cobertura do terreno (Beer et al., 1998), e precisa ser dosado, para não prejudicar a produção além de um determinado limite (Caramori et al., 2004).

Sombreamentos densos, com espécies de copas frondosas e em altas populações, podem causar quebras severas na produção, competindo intensamente com o cafeeiro por luz, água e nutrientes (Caramori et al., 2004; Martinez et al., 2004). No entanto, nas condições em que a luminosidade e a temperatura excedem as necessidades do cafeeiro, a introdução de certo número de árvores ainda permite ao cafezal receber radiação solar suficiente e condições mais favoráveis à produção que a pleno sol (Bregonci e Pelissari, 1995). Além disso, a utilização de árvores com sistema radicular profundo pode aumentar a disponibilidade hídrica após longos períodos secos, nas camadas superficiais do solo, de forma a manter o *status* hídrico do cafeeiro (Matsumoto e Viana, 2004).

O sombreamento afeta não somente a disponibilidade de luz ao longo da copa do cafeeiro, mas, também, melhora as condições microclimáticas, via redução dos extremos de temperatura do ar e do solo, redução da velocidade dos ventos e manutenção da umidade relativa do ar e tamponamento da disponibilidade hídrica do solo (Beer et al., 1998). Como consequência, cafezais arborizados são mais bem protegidos contra a ação dos ventos e encontram um ambiente mais propício para a manutenção das taxas de fotossíntese, com reflexos óbvios sobre a produção.

As variações da temperatura do ar e da umidade relativa e, portanto, do déficit de pressão de vapor, estão intimamente associadas à flutuação diária da

radiação solar. Porém, em cafezais sombreados, pode ocorrer decréscimo substancial no déficit de pressão de vapor entre a copa e a atmosfera e, em última análise, na transpiração. Nessa condição, o gradiente absoluto de pressão de vapor entre os espaços internos da folha e o ar adjacente diminui e a transpiração passa a depender muito mais da resistência do ar, e não da resistência estomática (DaMatta e Rena, 2001). Assim, o influxo de  $\text{CO}_2$  para a fotossíntese, na medida em que o estômato permanece mais aberto, não é acompanhado direta e efetivamente por perda de vapor d'água, em face de a contribuição da resistência do ar sobrepujar-se àquela da resistência do estômato. Isso deve contribuir para otimizar a utilização da água pela planta (maior eficiência do uso da água) (DaMatta, 2004a; 2004b). Por outro lado, em cafezais cultivados a pleno sol, na medida em que o dia avança, a transpiração, a princípio, aumenta, em resposta a aumentos discretos no déficit de pressão de vapor. Todavia, incrementos adicionais na demanda evaporativa, como ocorre principalmente à tarde, geram decréscimos na transpiração, em face da alta sensibilidade do estômato do café à redução de umidade relativa. Como consequência, o influxo de  $\text{CO}_2$  para os cloroplastos diminui e as taxas de fotossíntese decrescem sobremodo e, assim, reduz-se a utilização fotoquímica da irradiância incidente (DaMatta et al., 2007).

Irradiâncias superiores às necessárias para saturar a fotossíntese freqüentemente acarretam fotoinibição, resultando em decréscimo na eficiência fotoquímica do Fotossistema II (DaMatta e Rena, 2002). Se a fotossíntese e a fotorrespiração não utilizarem a maior fração do poder redutor gerada na fase fotoquímica, poderá ocorrer uma sobre-redução da cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto e, nessa condição, elétrons podem reduzir o oxigênio molecular, levando à formação de ERO's potencialmente capazes de resultar em danos fotoinibitórios e fotooxidativos (Asada, 1999). Dentre tais ERO's, destacam-se radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radical hidroxil ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) e oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), que seriam produtos inevitáveis do metabolismo celular (Yu e Rengel, 1999), capazes de causar peroxidação de lipídios (Lima et al., 2002) e desnaturação de proteínas (Asada, 1999). Além disso, a peroxidação de lipídios de membrana pode resultar na perda de compartimentalização celular, fato facilmente observado pelo consequente extravasamento de eletrólitos (Asada, 1999, Lima et al., 2002). Sob condições estressantes, todavia, a

formação de ERO's pode exceder a capacidade de sua remoção, culminando, assim, em estresse oxidativo (Yu e Rengel, 1999). Como consequência final, danos oxidativos traduzem-se nas folhas pelo aparecimento de áreas cloróticas que, em muitos casos, evoluem para a necrose, culminando na abscisão foliar, fenômeno popularmente conhecido como escaldadura (DaMatta e Rena, 2001).

A fotoinibição da fotossíntese pode ser encarada como uma estratégia de aclimação do FSII, traduzindo-se em proteção contra níveis de luz potencialmente injuriosos (Asada, 1999). Assim, a fotoinibição, *per se*, pode não resultar em reduções substanciais na produtividade de cafeeiros cultivados em campo, o que explicaria, em parte, o sucesso do cultivo de variedades comerciais a pleno sol (DaMatta e Maestri, 1997). Por outro lado, sob certas condições, como déficit hídrico e temperaturas elevadas associadas a alto déficit de pressão de vapor entre a folha e atmosfera, os mecanismos de defesa da planta podem não ser suficientes para dissipar a energia excedente e, nesse caso, a ocorrência de fotodanos pode ser bastante expressiva. Esses fatores, combinados ou não, podem acarretar uma seqüência de eventos potencialmente catastrófica, especialmente em cafezais que recebem a radiação solar da tarde. Como consequência visível, a escaldadura se manifesta, culminando na abscisão da folha. Nessas condições, a incidência de cercosporiose e ferrugem usualmente aumenta, também levando à abscisão foliar. Desse modo, não somente a folhagem exposta, mas também as folhas mais internas da copa, passam a receber fluxo de fótons superior ao necessário para saturar a fotossíntese, o que potencializa mais ainda a abscisão das folhas. Em muitos casos, o ramo seca ou pouco cresce, acarretando quebra de produção na colheita seguinte. O sombreamento, nesse contexto, pode minimizar, sobretudo, a ocorrência de escaldadura (DaMatta e Rena, 2002).

Para proteção da maquinaria fotossintética contra estresses oxidativos, as plantas precisam dissipar o excesso de energia luminosa, o que pode ser alcançado mediante aumento nos níveis de xantofilas e carotenos ou por atuação do sistema de defesa antioxidativo (Asada, 1999). Tal sistema compreende mecanismos enzimáticos, composto pelas chamadas "enzimas antioxidantes" (e.g., dismutase do superóxido, SOD; catalase, CAT; peroxidase do ascorbato, APX e peroxidase da glutaciona, GR). Maior proteção contra excesso de irradiância pode também ocorrer via alteração do ângulo de orientação foliar, uma

vez que, quanto mais verticalizada estiver a folha, menor será a interceptação da radiação incidente (DaMatta, 2003). Além disso, o custo metabólico é sobremodo menor para alteração do ângulo foliar que para a síntese de moléculas antioxidantes ou para suportar o giro da maquinaria enzimática antioxidante (Liu et al., 2003).

Parece haver grande polimorfismo entre clones de café conilon, no que respeita a tolerância à seca e ao estresse oxidativo (Lima et al., 2002; Oliveira, 2005; Pinheiro et al., 2004; 2005; Praxedes et al., 2006). Lima et al. (2002), por exemplo, avaliando dois clones de café conilon em casa de vegetação, verificaram maior atividade do sistema antioxidante no clone 120 (tolerante à seca) do que no clone 109A (sensível à seca), quando a taxa de fotossíntese líquida (*A*) foi igual a zero em resposta à suspensão da irrigação, resultando em menores danos celulares no clone tolerante em relação ao sensível. Pinheiro et al. (2004), em condições de déficit hídrico imposto lentamente, verificaram maior indução dos mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo no clone 109A que no clone 120. No entanto, esses autores verificaram danos celulares em menor extensão no clone 120, sugerindo que um aumento nos processos oxidativos deva ter ocorrido no clone 109A. Oliveira (2005), usando diferentes concentrações de Paraquat (PQ), observou que a atividade da SOD no clone 120 foi máxima nas concentrações de 20 µM, enquanto no clone 109A tal atividade já tinha sido completamente suprimida. Além disso, Oliveira (2005) verificou menor peroxidação de lipídios e menor porcentagem de necrose foliar no clone 120, sugerindo que o aumento da atividade da SOD, como também da APX, pode ter resultado em uma menor produção de ERO's nesse clone. Com efeito, DaMatta e Ramalho (2006) propuseram que um sistema antioxidante mais eficiente pode representar papel decisivo na tolerância à seca e ao estresse oxidativo em café, resultando em uma menor produção de ERO's, de modo a limitar a ocorrência de danos celulares. Ressalta-se, ainda, que a maior inclinação do ângulo foliar (DaMatta e Ramalho, 2006), de modo a reduzir a interceptação da radiação incidente, e a manutenção adequada do *status* hídrico (mediante combinação de sistema radicular profundo e controle estomático eficiente da transpiração) (Pinheiro et al., 2005), podem estar relacionadas à maior tolerância à seca do clone 120 em relação à do 109A.



### 3.0 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma lavoura de café (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*), composta por 34 clones, consorciada com seringueira (*Hevea brasiliensis* cvs. RRIM 600 e FX 3864). O consórcio foi implantado em 1999, na Fazenda Experimental do Incaper, em Sooretama, ES, em solo do tipo Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico coeso. Os cafeeiros foram plantados no espaçamento de 2,5 x 1,0 m, em linhas no sentido leste-oeste. A seringueira foi plantada em linhas duplas perpendiculares às fileiras do café, portanto no sentido norte-sul, com o espaçamento entre plantas de 2,5 m, porém com diferentes espaçamentos entre linhas duplas (20, 30 e 40 m), visando proporcionar diferentes níveis (ou gradientes) de sombreamento ao cafeeiro. Portanto, a cada 20, 30 ou 40 m, todas as linhas de café são interrompidas pelas fileiras duplas de seringueira, que as “cortam” perpendicularmente. A lavoura foi mantida sem irrigação e os tratos culturais gerais (capinas, podas, adubação etc.) foram realizados segundo recomendações agronômicas usuais para as culturas.

O experimento propriamente dito foi realizado com dois clones, sendo um sensível (109A) e outro tolerante (120) ao estresse oxidativo, utilizando-se de plantas situadas em três diferentes posições relativas às fileiras de seringueira espaçadas de 40 m (Figura 1). É importante ressaltar que, como o sol “caminha” no sentido leste-oeste, perpendicularmente às fileiras de seringueira, que têm atualmente 7,0 m de altura, a sombra sobre a lavoura também migra ao longo do dia. Portanto, as posições consideradas para avaliações foram: posição oeste (O): plantas de café que recebiam sol pela manhã e sombra à tarde (localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café, próximas à linha de seringueira da esquerda); posição mediana (M): plantas de café a pleno sol (localizadas no

meio da parcela de 40 m, distantes 20 m das fileiras de seringueira); posição leste (L): plantas de café que recebiam sombra pela manhã e sol à tarde (localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café, próximas à linha de seringueira da direita) (Figura 1).

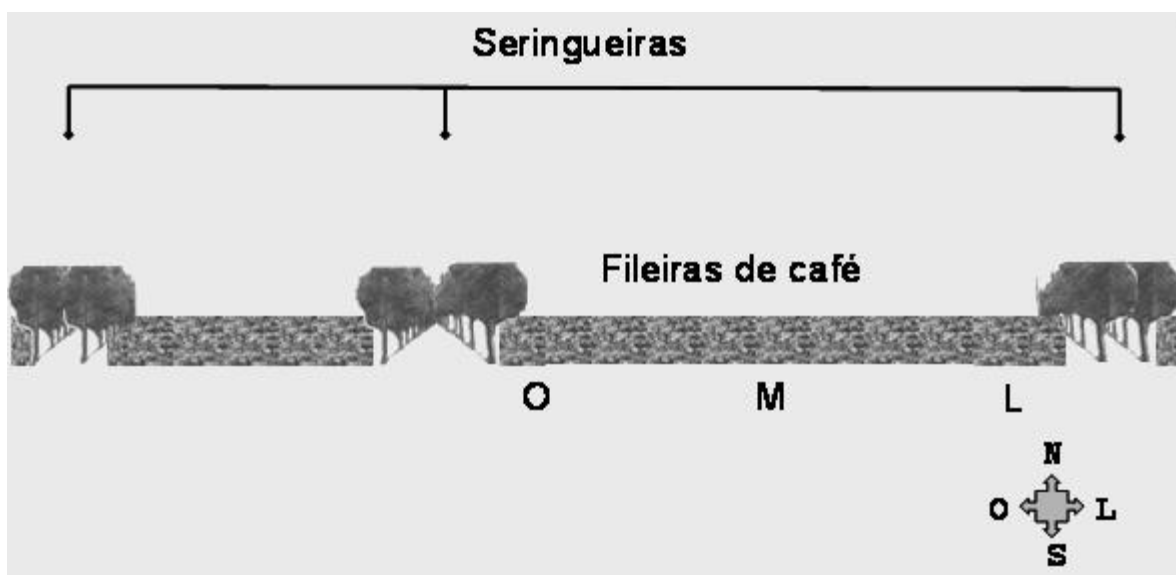


Figura 1: Representação da lavoura de café conilon consorciada com seringueira. A seringueira foi plantada perpendicularmente às fileiras do café, no sentido norte-sul, e o café, no sentido leste-oeste. As posições de avaliações foram: oeste (O), meio (M) e leste (L) da linha de café.

As avaliações e amostragens foram feitas em março de 2006, em dias parcialmente nublados. Nessa época, as temperaturas do ar mínima e máxima foram, respectivamente, 25°C e 33°C. Houve precipitação abundante nos dias precedentes à época de avaliação. Todas as medições e amostragens foram realizadas em folhas do terceiro ou quarto par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos do terço superior das plantas. Parte das avaliações/medições foram realizadas na própria lavoura, e parte nos Laboratórios de Fisiologia Vegetal do Centro Regional de Desenvolvimento Rural Nordeste, do Incaper, em Linhares-ES, ou do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa - UFV, em Viçosa-MG. Nesse caso, amostras de material vegetal, congeladas em nitrogênio líquido, foram transportadas até a UFV.

Avaliaram-se os seguintes parâmetros:

### 3.1 - Parâmetros agrometeorológicos

Ao longo do período de avaliações das trocas gasosas, foram tomadas as temperaturas da folha, por meio de um analisador de gás a infravermelho (IRGA) portátil (LCpro+, ADC, Hoddesdon, Reino Unido), e do ar (bulbos seco e úmido), por meio de psicrômetros instalados no campo experimental, entre as plantas, para se calcular o déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera ( $\delta e$ ), utilizando-se das fórmulas descritas em Landsberg (1986).

### 3.2 - Ângulo foliar

Nos mesmos horários das avaliações das trocas gasosas, seis folhas por planta, em cada tratamento, foram amostradas para a medição do ângulo de inclinação foliar em relação ao horizonte ( $= 0^\circ$ ), utilizando-se de um angulômetro.

### 3.3 - Trocas gasosas

A taxa de assimilação líquida de carbono ( $A$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ) e a razão entre as concentrações interna e ambiente de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) foram medidas em sistema aberto, sob temperatura ambiente e luz artificial, com o IRGA já mencionado, conforme DaMatta et al. (1997). Baseados em avaliações preliminares, os tecidos foliares foram expostos à irradiância artificial correspondente àquela naturalmente interceptada pela folha: cerca de  $1500 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ao meio-dia, e cerca de 500 ou  $150 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente, nas faces que recebiam radiação solar direta ou radiação difusa (sombra), às 8:00 e às 16:00 h.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram medidos, utilizando-se de um fluorômetro com amplitude de pulso modulado (FMS2, Hansatech, Norfolk, Reino Unido). Após serem adaptados ao escuro, por 30 min, os tecidos foliares foram inicialmente expostos a um fraco pulso de luz vermelho-distante ( $1-2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), para determinação da fluorescência inicial ( $F_0$ ). Em seguida, um pulso de luz saturante, com irradiância de  $6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e duração de 1 s, foi aplicado, para estimar-se a fluorescência máxima emitida ( $F_m$ ). Nas amostras adaptadas ao escuro, a eficiência máxima do PSII foi estimada pela razão entre as fluorescências variável e máxima,  $F_v / F_m = (F_m - F_0) / F_m$ . Subseqüentemente, as folhas foram irradiadas com luz actínica durante 300 s, à irradiância de  $900 \mu\text{mol}$

$\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , para obtenção da fluorescência constante ( $F_s$ ). Em seguida, outro pulso de luz saturante foi aplicado, por 1 s, para obtenção da fluorescência máxima emitida pelas amostras na presença de luz ( $F_m'$ ). O coeficiente de extinção não-fotoquímico foi calculado como  $\text{NPQ} = (F_m / F_m') - 1$ . Detalhes adicionais podem ser verificados em DaMatta et al. (2002) e Lima et al. (2002).

Tanto as trocas gasosas como os parâmetros de fluorescência foram medidos em três horários do dia: 08:00, 12:00 e 16:00 h. Foram feitas, ainda, medições de  $F_v/F_m$  na antemanhã.

### 3.4 - Potencial hídrico foliar

O potencial hídrico foliar foi determinado com uma bomba de pressão tipo Scholander, nos mesmos horários das avaliações das trocas gasosas e na antemanhã.

### 3.5 - Nitrogênio

Amostras foliares foram secas em estufa com circulação forçada de ar, a  $70^\circ\text{C}$ , até massa constante. Para a quantificação do nitrogênio orgânico, 100 mg das amostras foliares secas foram colocados em tubos de digestão contendo 1 mL de ácido sulfúrico 96%. Após esta pré-digestão, de aproximadamente 12 horas, as amostras permaneceram por 35 minutos no bloco digestor à temperatura de  $300^\circ\text{C}$ . Ao atingirem temperatura ambiente, 1 mL de água oxigenada 30 Vol. foi adicionado às amostras, que permaneceram por mais 30 minutos no bloco digestor, à temperatura de  $200^\circ\text{C}$ . Uma alíquota de 0,5 mL do extrato sulfúrico foi adicionado a um tubo de ensaio contendo 19,5 mL de água destilada, 2,5 mL de tartarato de sódio 10% e 2,5 mL de reagente de Nessler. Após 20 minutos de repouso, as absorvâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro, a 480 nm. Detalhes adicionais podem ser verificados em Jackson (1958).

Para quantificação do nitrogênio nítrico, conforme Cataldo et al. (1975), 100 mg das amostras foliares foram colocados em tubos contendo 1 mL de álcool etílico e 10 mL de água destilada, permanecendo em banho-maria por 60 minutos, a  $45^\circ\text{C}$ . Após atingirem temperatura ambiente, foram adicionados às amostras 250 mg de carvão ativo. Em uma alíquota de 0,2 mL do filtrado resultante foi adicionado, lentamente, 0,8 mL da solução de ácido salicílico 5%

(preparado em ácido sulfúrico 95%). Posteriormente, foram adicionados 19 mL de hidróxido de sódio 2N. As amostras permaneceram em repouso por 30 minutos e suas absorvâncias foram, então, lidas em espectrofotômetro, a 410 nm.

A soma das duas frações (nitrogênio orgânico e nitrogênio nítrico) representa o nitrogênio total.

### 3.6 - Pigmentos

Os teores de clorofilas *a* e *b* e de carotenóides totais foram determinados conforme Lichtenthaler (1987). Os pigmentos foram extraídos de discos foliares congelados, utilizando-se de almofariz e pistilos pré-resfriados, com CaCO<sub>3</sub>, areia e 5 mL de acetona 80%. Para os cálculos dos teores de clorofilas e carotenóides totais, absorvâncias das alíquotas do homogenato filtrado foram lidas a 470, 446,8 e 663,2 nm.

### 3.7 - Peróxido de hidrogênio e danos celulares

A quantificação de peróxido de hidrogênio foi realizada conforme Lee e Lee (2000). Discos foliares congelados foram macerados, utilizando-se de almofariz e pistilo pré-resfriados, com polivinilpolipirrolidona (PVPP) 200% e 2,5 mL de tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 6,8). O homogenato resultante foi centrifugado a 18000 *g*, por 20 minutos, a 4°C. Uma alíquota de 350 µL do sobrenadante foi coletada e adicionada a 2,650 µL da solução de reagente P (o-dianisidina 0,005 %, peroxidase 40 µg/mL, tampão fosfato-Na 100 mM (pH 6,8). As amostras foram incubadas a 30°C, por 10 minutos. Após o aquecimento a reação foi paralisada com 500 µL de ácido perclórico 1 N, seguindo-se de centrifugação a 5000 *g* por 5 minutos. A absorvância do sobrenadante foi lida a 436 nm.

Danos celulares, que indicam a ocorrência de estresse oxidativo, foram avaliados por meio do extravasamento de eletrólitos (Lima et al., 2002) e peroxidação de lipídios, via acúmulo de aldeído malônico (MDA) (Cakmak e Horst, 1991).

Discos foliares foram completamente lavados e transferidos para frascos contendo 10 mL de água desionizada, por 6 horas, à temperatura ambiente. O extravasamento de eletrólitos foi estimado utilizando-se de um condutivímetro

(Biosystems LTDA, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e expresso como porcentagem da condutividade total, que foi obtida após os frascos terem permanecido por 2 horas em estufa, a 90° C.

Para a quantificação do acúmulo de MDA, discos foliares foram macerados em 3,0 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%, a 4°C, utilizando-se de almofariz e pistilo pré-resfriados. O homogenato resultante foi centrifugado a 13000 g, por 2 minutos, a 4°C. Uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante foi coletada e adicionada a 1,5 mL da solução de ácido tiobarbitúrico 0,5% (preparada em TCA 20%). As amostras e o branco foram incubados a 90°C, por 20 minutos. Após o aquecimento, a reação foi paralisada em banho de gelo, seguindo-se de centrifugação a 10000 g, por 5 minutos. A absorvância do sobrenadante foi lida a 532 nm, descontando-se a absorvância inespecífica a 600 nm. A concentração de MDA foi calculada, utilizando-se do coeficiente de absorvância do MDA (155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

### 3.8 - Ensaio enzimáticos

Em amostras foliares, coletadas por volta do meio-dia, foram determinadas as atividades de enzimas do metabolismo antioxidativo, dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e redutase da glutatona (GR). As enzimas foram extraídas dos discos foliares congelados, utilizando-se de almofariz pré-resfriado, com PVPP 200% e 2 mL do meio de extração específico para cada enzima, como se segue: SOD [tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM, DTT 1 mM, β-mercaptoetanol 10 mM e Triton X-100 0,1%]; CAT [tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), EDTA 2 mM, ascorbato 20 mM, Triton X-100 0,1%]; APX [tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), EDTA 2 mM, ascorbato 20 mM, Triton X-100 0,1%]; GR [tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,5), EDTA 2 mM, DTT 1 mM, β-mercaptoetanol 10 mM, isoascorbato 10 mM, Triton X-100 0,1%]. O homogenato resultante foi centrifugado a 15000 g, por 15 minutos, a 4°C.

A atividade total da SOD foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico, descrito por Giannopolitis e Ries (1977), em que a atividade da SOD é dada pela capacidade da enzima em inibir a redução fotoquímica do azul de nitrotetrazólio (NBT), sob luz. Para os ensaios de atividade, uma alíquota

do extrato enzimático (5  $\mu\text{L}$ ) foi aplicada a 3 mL (volume final) de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 52,5 mM (pH 7,8), EDTA 0,1  $\mu\text{M}$ , NBT 75  $\mu\text{M}$ , metionina (pH 7,8) 13 mM, riboflavina 2  $\mu\text{M}$  e Triton X-100 0,1%. O ensaio da atividade foi iniciado pela exposição dos tubos contendo as referidas misturas a uma câmara contendo luz fluorescente, por 10 minutos. A reação foi paralisada desligando-se a luz, sendo a produção fotoquímica de azul de formazana determinada em espectrofotômetro a 560 nm. Uma mistura de reação mantida no escuro foi utilizada como branco. A atividade da SOD foi expressa em unidades (U) por grama de massa seca. Cada U corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir a redução do NBT em 50%.

A atividade total da CAT foi determinada pelo consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , de acordo com Havir e McHale (1989), com algumas modificações. O ensaio enzimático foi realizado em espectrofotômetro, após a adição de 15  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático a 985  $\mu\text{L}$  de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  12,5 mM. A atividade da enzima foi determinada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm, durante 1 minuto, a 30°C. Para os cálculos da atividade, utilizou-se do coeficiente de extinção molar de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (39,4  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ), considerando-se que, nas condições de ensaio, 1 U de CAT corresponde à quantidade da enzima capaz de oxidar 1  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  por minuto.

A atividade total da APX foi determinada de acordo com Nakano e Asada (1981), com algumas modificações. O ensaio enzimático foi realizado em espectrofotômetro, após a adição de 15  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático a 985  $\mu\text{L}$  de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0),  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,1 mM e ascorbato 0,5 mM. A atividade da enzima foi determinada pelo decréscimo na absorvância a 290 nm, durante 1 minuto, a 25°C. Para os cálculos da atividade, utilizou-se do coeficiente de extinção molar do ascorbato (2,8  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ), considerando-se que 1 U de APX corresponde à quantidade da enzima capaz de oxidar 1  $\mu\text{mol}$  de ascorbato por minuto.

A atividade total da GR foi determinada de acordo com Pinheiro et al. (2004). O ensaio enzimático foi realizado em espectrofotômetro, após a adição de 15  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático a 985  $\mu\text{L}$  de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,5), glutatona oxidada 10 mM,  $\text{MgCl}_2$  3 mM e NADPH 0,15 mM. A atividade da enzima foi determinada pelo decréscimo na absorvância

a 340 nm, durante 3 minutos. Para os cálculos da atividade, utilizou-se do coeficiente de extinção molar do NADPH ( $6,22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), considerando-se que 1 U de GR corresponde à quantidade da enzima capaz de oxidar  $1 \mu\text{mol}$  de NADPH por minuto.

### 3.9 - Estatística

O experimento foi instalado e analisado sob o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 3$  (dois clones e três posições em relação à fileira de plantas de seringueira), com seis repetições. Cada unidade experimental foi composta por uma planta de café. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de probabilidade, utilizando-se do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas da UFV (SAEG-UFV), versão 8.0. Correlações entre diferentes variáveis fisiológicas foram testadas pelo teste t, a 5% de probabilidade, utilizando-se do “software” STATISTICA, versão 7.0. A relação entre  $g_s$  e  $\delta_e$  foi ajustada ao modelo exponencial ( $Y = a \cdot e^{-bx}$ ), utilizando-se do programa gráfico estatístico SigmaPlot, versão 9.01.



#### 4.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Independentemente dos tratamentos, as plantas de ambos os clones, 109A e 120, apresentaram hidratação adequada, a julgar-se pelos valores elevados de potencial hídrico de antemanhã ( $\Psi_{am}$ ), que foram sempre superiores a -0,02 MPa (dados não mostrados). Com o aumento do  $\delta e$  e da temperatura foliar ( $T_f$ ) (Figura 2), às 12:00 h, as plantas apresentaram déficit hídrico relativamente moderado para *Coffea*, com potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) em torno de -1,5 MPa (Figura 2). Às 16:00 h,  $\delta e$  e  $T_f$  diminuíram em relação aos seus respectivos valores obtidos às 12:00 h e, em paralelo,  $\Psi_w$  tendeu a aumentar. Cumpre ressaltar que as plantas sombreadas, às 16:00 h, apresentaram uma tendência de maiores valores de  $\Psi_w$  em relação aos das plantas a pleno sol (Figura 2). Estes resultados parecem ilustrar que a arborização do cafeeiro pode ser viável, especialmente em regiões sujeitas a alta demanda evaporativa da atmosfera ou a secas prolongadas (DaMatta e Rena, 2002), na medida em que diminui as perdas de água pela transpiração excessiva, o que concorre para melhorar a economia hídrica da planta. Ressalte-se, ainda, que, a exemplo do cafeeiro arábico (Barros et al., 1997; Fanjul et al., 1985; Tausend et al., 2000), o café conilon também responde fortemente às variações da demanda evaporativa da atmosfera, via decréscimos substanciais em  $g_s$ , na medida em que o ar se torna mais seco, conforme se verifica na Figura 3, em que  $g_s$  decresce curvilinaramente com o aumento de  $\delta e$ . Com efeito, quando  $\delta e$  foi maior que 2 kPa,  $g_s$  foi muito baixa, de modo a limitar grandemente a transpiração nos clones avaliados. Cumpre ressaltar que Pinheiro et al. (2005), avaliando os clones 109A e 120, em casa de vegetação, observaram maior sensibilidade estomática do clone 120 a  $\delta e$ , enquanto no clone 109A  $g_s$  não

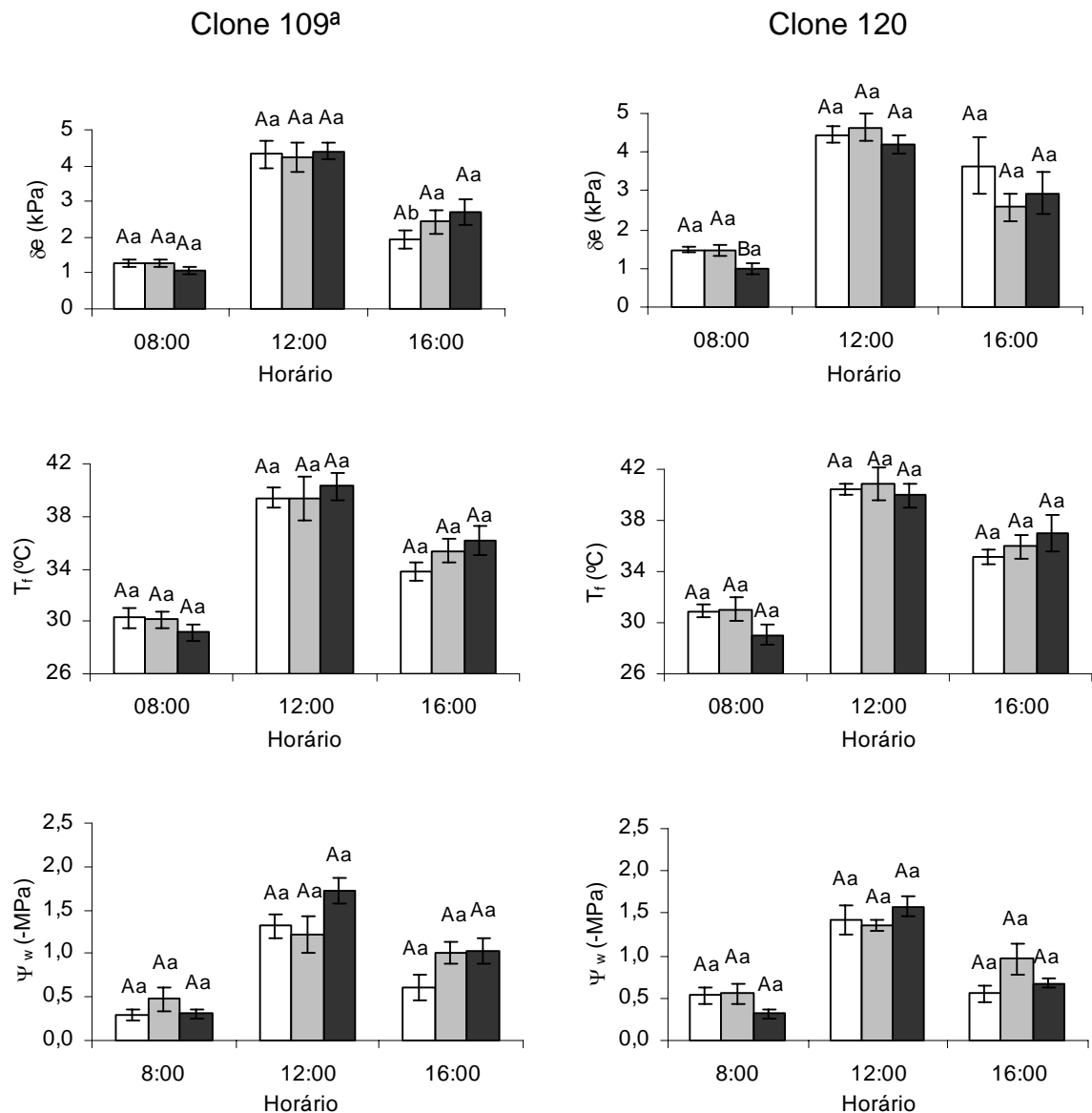


Figura 2: Curso diurno do déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera ( $\delta e$ ), da temperatura foliar ( $T_f$ ) e do potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) em dois clones de *Coffea canephora*, 109A e 120, em diferentes posições em relação aos renques de seringueira: plantas localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café (colunas brancas); plantas de café a pleno sol, no meio dos renques de seringueira (colunas cinzas); e plantas localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café (colunas negras). Letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas entre posições dentro de cada clone e horário de avaliação; letras minúsculas indicam diferenças significativas entre clones dentro de cada posição e horário ( $P \leq 0,05$ ; teste de Newman-Keuls). As barras indicam o erro-padrão da média ( $n = 6$ ).

respondeu às variações em  $\delta e$ . Possivelmente, plantas no campo, onde a condutância da camada limítrofe é bem maior que em casa de vegetação, tendam a ter maior sensibilidade estomática à demanda evaporativa da atmosfera, de modo a controlar mais eficientemente a transpiração. Além disso, o clone 109A,

com copa mais aberta que a do clone 120, deve ter uma condutância da camada limítrofe presumivelmente maior que a do 120; assim, para um dado valor de  $g_s$ , a transpiração no primeiro seria maior. Essas evidências (indiretas, ressalte-se) poderiam, pelo menos em parte, explicar as diferenças das respostas de  $g_s$  a  $\delta_e$  ao compararem-se os presentes resultados com os de Pinheiro et al. (2005).

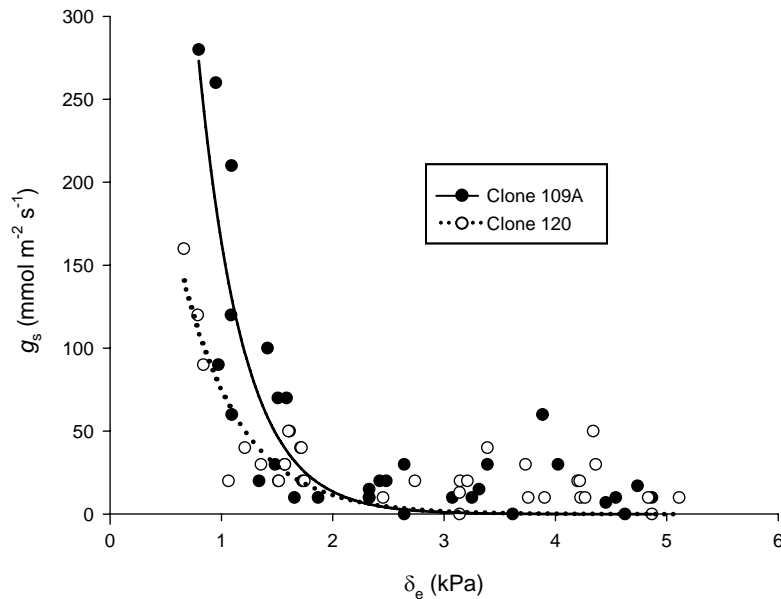


Figura 3: Relação entre condutância estomática ( $g_s$ ) e déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera ( $\delta_e$ ) em dois clones de *Coffea canephora*, 109A e 120. Modelo:  $Y = a \cdot e^{-bx}$ . Clone 109A;  $a = 1988,29$ ;  $b = 2,49$ ;  $R^2 = 0,755$ . Clone 120;  $a = 488,91$ ;  $b = 1,88$ ;  $R^2 = 0,625$ .

As maiores taxas de  $A$  foram, de modo geral, baixas e similares aos valores observados por Chaves (2005) e Dias (2006) para café arábica cultivado em campo. Mesmo no período da manhã, quando  $g_s$  e a razão  $C_i/C_a$  foram relativamente elevadas (Figura 4),  $A$  foi muito baixa. Além disso, em ambos os clones, reduções de  $g_s$ , ao longo do dia, não foram acompanhadas de reduções proporcionais em  $C_i/C_a$ , podendo ser um indicativo de que limitações não-estomáticas tenham sido preponderantes na redução de  $A$  (DaMatta, 2003). Neste trabalho, na maioria das vezes, não foram verificadas diferenças significativas em  $A$ , entre plantas cultivadas próximas à linha de seringueira (sob algum grau de sombreamento) e a pleno sol, bem como entre os clones avaliados (Figura 4). Porém, ressalte-se que os dias de avaliações estavam parcialmente

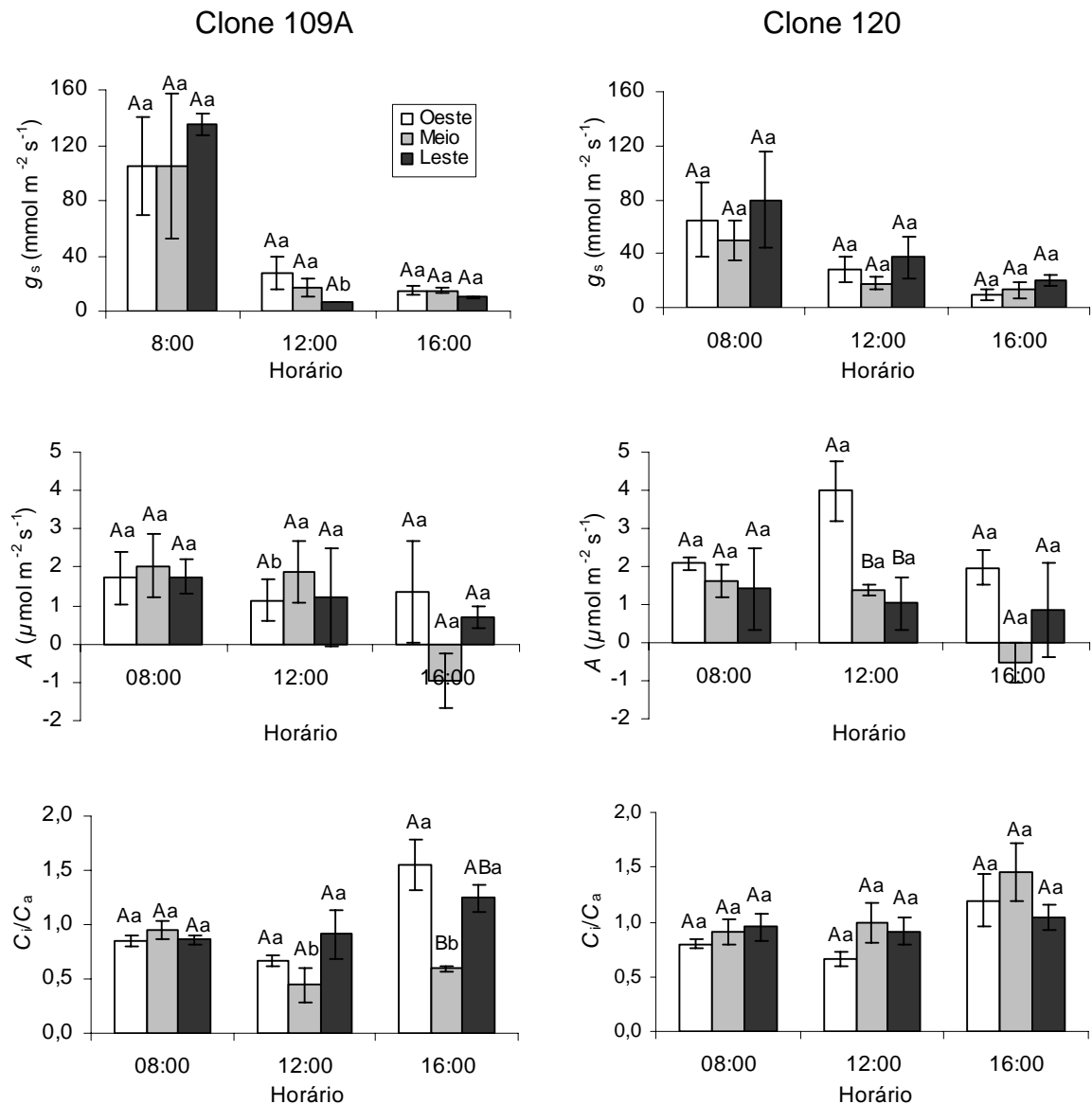


Figura 4: Curso diurno da condutância estomática ( $g_s$ ), da taxa de assimilação líquida de carbono (A) e da razão entre a concentração interna e ambiente de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub>) em dois clones de *Coffea canephora*, 109A e 120, em diferentes posições em relação aos renques de seringueira: plantas localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café (colunas brancas); plantas de café a pleno sol, no meio dos renques de seringueira (colunas cinzas); e plantas localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café (colunas negras). Estatística conforme Figura 2.

nublados, fato que pode ter reduzido potenciais diferenças entre os tratamentos, uma vez que, nem sempre, as plantas localizadas no meio da linha de café encontravam-se a pleno sol, nos horários avaliados, como era de se esperar. Registre-se que as taxas de fotossíntese foram negativas às 16:00 h apenas nessas plantas, nos dois clones. Isto não pode ser atribuído a diferenças em  $g_s$  e

em  $T_f$ , nem à fotoinibição da fotossíntese (avaliada pela razão  $F_v/F_m$  – ver à frente) e tampouco a diferenças em  $\Psi_w$ , haja vista que esses parâmetros pouco ou nada variaram entre as plantas nas três posições avaliadas.

A redução da absorção da energia radiante, via decréscimos na concentração de clorofilas, bem como aumento do ângulo de inclinação foliar, podem ter impactos profundos na fotoproteção das plantas (Björkman e Demmig-Adams, 1995) quando expostas a altas irradiâncias. Porém, a concentração de clorofilas totais, a concentração de carotenóides e a razão clorofilas/N foram semelhantes entre plantas do clone 120, independentemente do grau de exposição à radiação solar (Figura 5). As plantas do clone 109A, localizadas a oeste da linha, apresentaram incrementos significativos na concentração de clorofilas e carotenóides, em relação às plantas do meio e leste da linha de café (Figura 5). Para aquelas plantas, sombreadas às 16:00 h, o incremento na concentração de clorofilas pode representar incrementos na absortância foliar, aumentando, dessa forma, a quantidade total de energia efetivamente absorvida pelos fotossistemas. Porém, o incremento observado na concentração de carotenóides dessas mesmas plantas não deve ter propiciado aumento na capacidade de dissipação do excesso de energia de excitação, uma vez que foram observados incrementos na atividade da SOD em paralelo a maior produção de MDA em tais plantas (ver à frente). O incremento na concentração de clorofilas observado nas plantas do clone 109A na posição oeste foi acompanhado por incrementos na razão clorofilas/N, sugerindo que essas plantas investem maiores proporções de N para a produção de pigmentos fotossintéticos. Este dado, *per se*, sugere maior plasticidade às variações da irradiância no clone 109A em relação ao 120. Entretanto, em ambos os clones, não foram observadas diferenças significativas na razão clorofila *a*/ clorofila *b* em resposta ao grau de exposição à radiação solar (Figura 5). Além disso, esperava-se um decréscimo relativo na razão clorofilas/carotenóides em plantas expostas a maiores irradiâncias, de modo a permitir-lhes um aumento na capacidade de dissipação da energia de excitação, principalmente via operação do ciclo das xantofilas (Lambers et al., 1998). Como um todo, ainda que tenha havido variação na razão clorofilas/N (apenas no clone 109A na posição oeste), a constância da razão clorofila *a*/ clorofila *b* como também da razão clorofilas/carotenóides, independentemente dos tratamentos, evidencia baixa plasticidade dos clones de

café conilon em resposta às variações de irradiância, como foi também sugerido para café arábica em condições de campo (Araújo, 2006; Chaves, 2005; Dias, 2006).

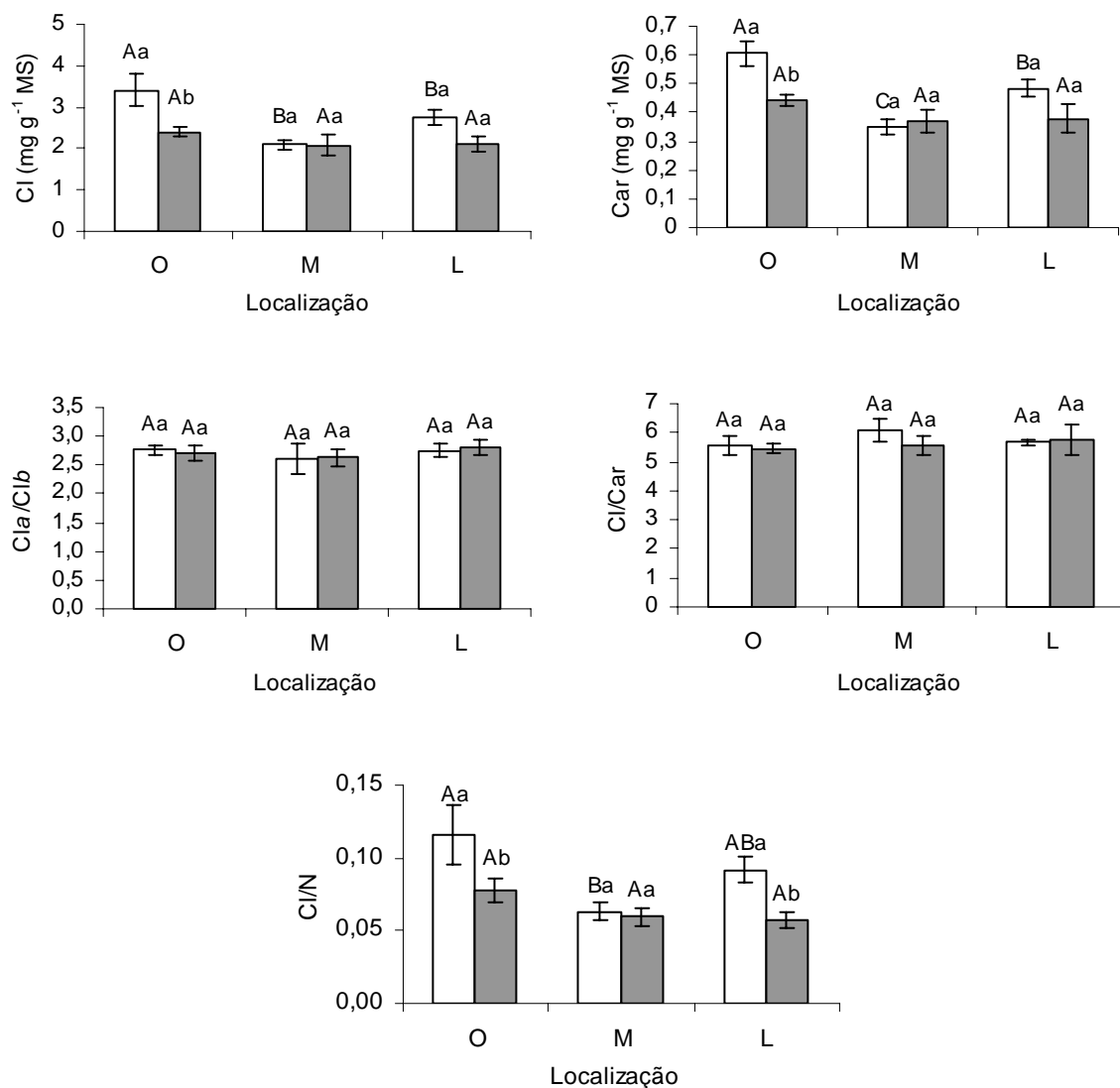


Figura 5: Concentração de clorofilas totais (CI) e carotenóides (Car), razão clorofila *a*/clorofila *b* (Cl*a*/Cl*b*), razão clorofilas totais/carotenóides (Cl/Car) e razão clorofilas totais/nitrogênio total (Cl/N) em dois clones de *Coffea canephora*, 109A (colunas brancas) e 120 (colunas cinzas), em diferentes posições em relação aos renques de seringueira: plantas localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café (O); plantas de café a pleno sol, no meio dos renques de seringueira (M); e plantas localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café (L). Letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas entre posições dentro de cada clone; letras minúsculas indicam diferenças significativas entre clones dentro de cada posição ( $P \leq 0,05$ ; teste de Newman-Keuls). As barras indicam o erro-padrão da média ( $n = 6$ ).

A concentração foliar de N, independentemente do clone e da posição de avaliação, foi sempre superior a  $30 \text{ g kg}^{-1}$  MS (dados não mostrados), valor indicativo de que as plantas não sofreram de deficiência de nitrogênio (Malavolta et al., 1993). Registre-se que cafeeiros deficientes em N podem apresentar fotodanos em maior extensão, isso porque o N está intimamente associado a aumentos na dissipação térmica (maior conteúdo de xantofilas e carotenos), aumentos na expressão do sistema antioxidativo de defesa e à alteração na estrutura membranar, atenuando a ocorrência de danos celulares, conforme observado em cafeeiros adequadamente supridos com N, mas não nos deficientes (Ramalho et al., 2000).

Ambos os clones apresentaram variações na inclinação foliar ao longo do dia, cujos ângulos tenderam a ser máximos às 12:00 h (Figura 6). Estes resultados diferem dos observados por Chaves (2005) e Dias (2006), que não verificaram variações diurnas do ângulo foliar em plantas de café arábica cultivadas em condições de campo. Porém, aqueles autores observaram maiores ângulos de inclinação das folhas em plantas expostas a maiores irradiâncias que em plantas sob algum grau de sombreamento. Saliente-se que menor interceptação da radiação solar, na medida em que o ângulo foliar aumenta, só ocorre nas horas em que a elevação solar é maior. Com efeito, nas plantas localizadas na posição oeste da linha de café, que recebiam irradiância direta às 8:00 h (porém obliquamente), os menores ângulos de inclinação foliar (Figura 6) devem concorrer para reduzir a interceptação da radiação solar. Em todo o caso, o aumento da inclinação foliar, especialmente ao meio-dia, deve resultar em redução na interceptação do excesso de luz por unidade de área, concorrendo também para reduzir o sobreaquecimento da folha (Falster e Westoby, 2003; Jiang et al., 2006).

Em café, folhas sob déficit hídrico (com murcha aparente) e, pois, com baixo  $\Psi_w$ , usualmente exibem ângulos de inclinação próximos a  $90^\circ$ . Portanto, variações diurnas no ângulo foliar poderiam ser decorrentes de variações em  $\Psi_w$ , particularmente porque, às 12:00 h, quando as plantas tinham menor  $\Psi_w$ , exibiram maior ângulo de inclinação foliar (Figura 6). Não obstante, às 16:00 h, o aumento de  $\Psi_w$  não foi acompanhado de variações significativas na inclinação foliar. Além disso, não foi observada qualquer correlação entre ângulo foliar e  $\Psi_w$  em ambos

os clones (Figura 7). Estes dados sugerem que, em plantas de café conilon, variações diurnas no ângulo podem ocorrer independentemente do status hídrico foliar.

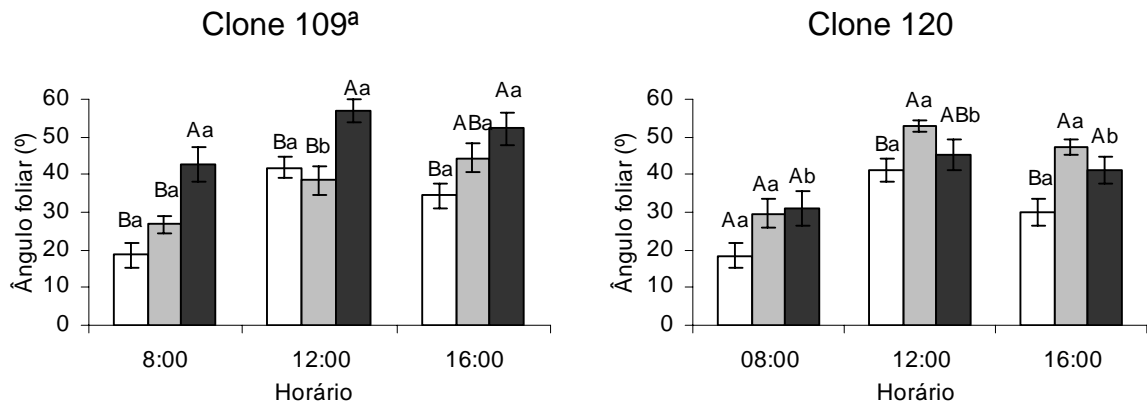


Figura 6: Curso diário do ângulo de inclinação foliar em dois clones de *Coffea canephora*, 109A e 120, em diferentes posições em relação aos renques de seringueira: plantas localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café (colunas brancas); plantas de café a pleno sol, no meio dos renques de seringueira (colunas cinzas); e plantas localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café (colunas negras). Estatística conforme Figura 2.

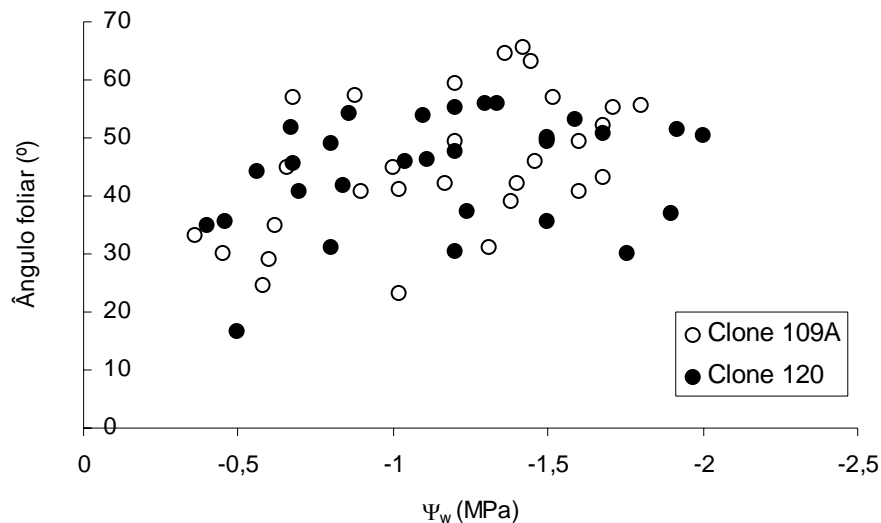


Figura 7: Relação entre ângulo foliar e potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) em dois clones de *Coffea canephora*, 109A e 120, em diferentes posições em relação aos renques de seringueira.

Apesar de A apresentar baixos valores e, em alguns casos, negativos (Figura 4), a eficiência fotoquímica máxima do FSII (avaliada pela razão  $F_v/F_m$ ) na



antemanhã, bem como ao longo do dia, manteve-se sempre acima de 0,82 (Figuras 8 e 9). Do mesmo modo, nenhuma diferença em  $F_0$  foi registrada entre os clones ou posições avaliadas, tanto na antemanhã (Figura 8) quanto no decorrer do dia (Figura 9). Tomados em conjunto, estes dados indicam que não houve fotoinibição da fotossíntese. Resultados semelhantes têm sido relatados em café arábica, independentemente de as folhas desenvolverem-se em ambientes a plena exposição solar ou à sombra (Chaves, 2005; Dias, 2006).

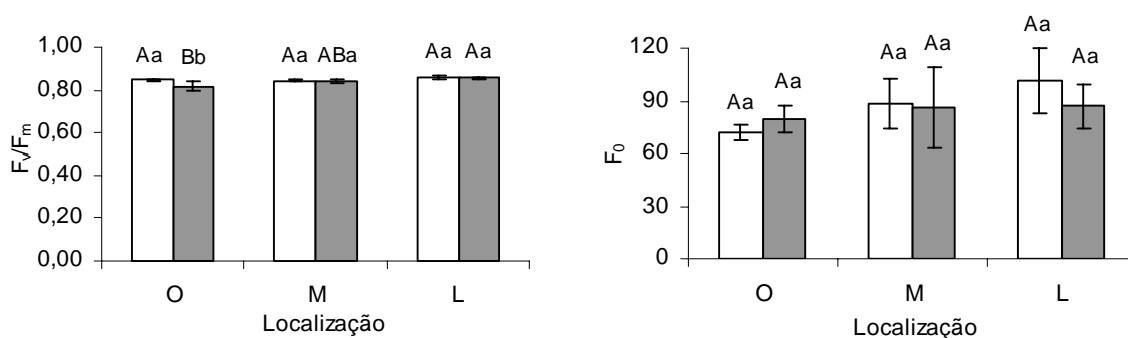


Figura 8: Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) e fluorescência inicial ( $F_0$ ) na antemanhã em dois clones de *Coffea canephora*, 109A (colunas brancas) e 120 (colunas cinzas), em diferentes posições em relação aos renques de seringueira: plantas localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café (O); plantas de café a pleno sol, no meio dos renques de seringueira (M); e plantas localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café (L). Estatística conforme Figura 5.

O aumento do coeficiente de extinção não-fotoquímico (NPQ), às 12:00 h, independentemente de clones e posições avaliados, bem como na posição leste, às 16:00 h (Figura 9), sugere que aumento na fração da radiação absorvida foi dissipada como calor (Maxwell e Johnson, 2000) pelo complexo-antena associado ao FSII, protegendo-o de danos causados por altas irradiâncias (Demmig-Adams et al., 1996). Registre-se que, às 12:00 e às 16:00 h, as irradiâncias incidentes sobre as plantas foram, aproximadamente, de 1500 e 500  $\mu\text{mol}$  (fótons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente. Menores valores de NPQ foram observados em plantas situadas na posição leste, às 8:00 h, e na posição oeste, às 16:00h (Figura 9), uma vez que estavam sob baixa irradiância ( $\sim 150 \mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e, desse modo, pouca radiação absorvida foi dissipada termicamente. Ressalta-se, ainda, que os valores de NPQ foram similares entre os clones 109A e 120, ao longo do período de avaliação (Figura 9).

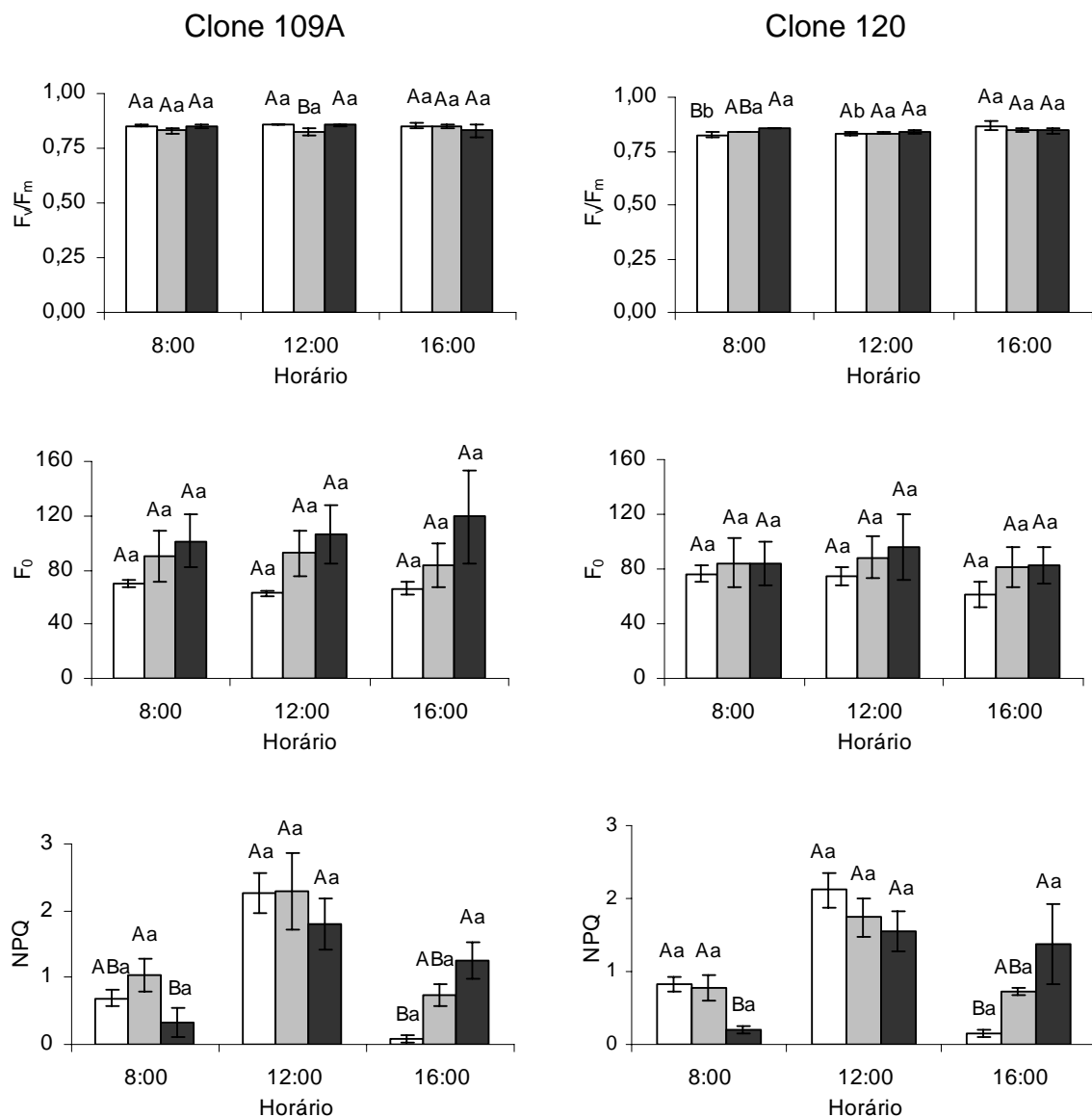


Figura 9: Curso diurno da eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ), da fluorescência inicial ( $F_0$ ) e do coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ) em dois clones de *Coffea canephora*, 109A e 120, em diferentes posições em relação aos renques de seringueira: plantas localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café (colunas brancas); plantas de café a pleno sol, no meio dos renques de seringueira (colunas cinzas); e plantas localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café (colunas negras). Estatística conforme Figura 2.

O excesso de energia luminosa não utilizado para a fixação de  $CO_2$ , no ciclo de Calvin, deve ser dissipado, para evitar a formação excessiva de ERO's, que levaria ao estresse oxidativo (Asada, 1999). Dessa forma, o aumento da atividade das enzimas antioxidantes poderia traduzir-se em proteção, nos clones estudados, contra um possível estresse oxidativo. Contudo, apenas em plantas do clone 109A, situadas na posição oeste, verificou-se um incremento significativo na

atividade da SOD, quando comparado com plantas de ambos os clones nas posições mediana e leste da linha de café, e também na posição oeste do clone 120. Este incremento foi acompanhado de aumentos correspondentes nas atividades da CAT, APX e GR (Figura 10), enzimas envolvidas no metabolismo do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Sugere-se que a atuação dessas enzimas foi eficiente na remoção do  $H_2O_2$  produzido pela atividade da SOD, uma vez que não foram observadas variações na concentração de  $H_2O_2$ , independentemente dos tratamentos aplicados (Figura 11). Nas posições meio e leste, em ambos os clones, e oeste, no clone 120, observaram-se menores atividades da SOD, quando comparadas com as atividades medidas em folhas da posição oeste do clone 109A, porém, nem sempre acompanhada por menores atividades da CAT, APX e GR (Figura 10).

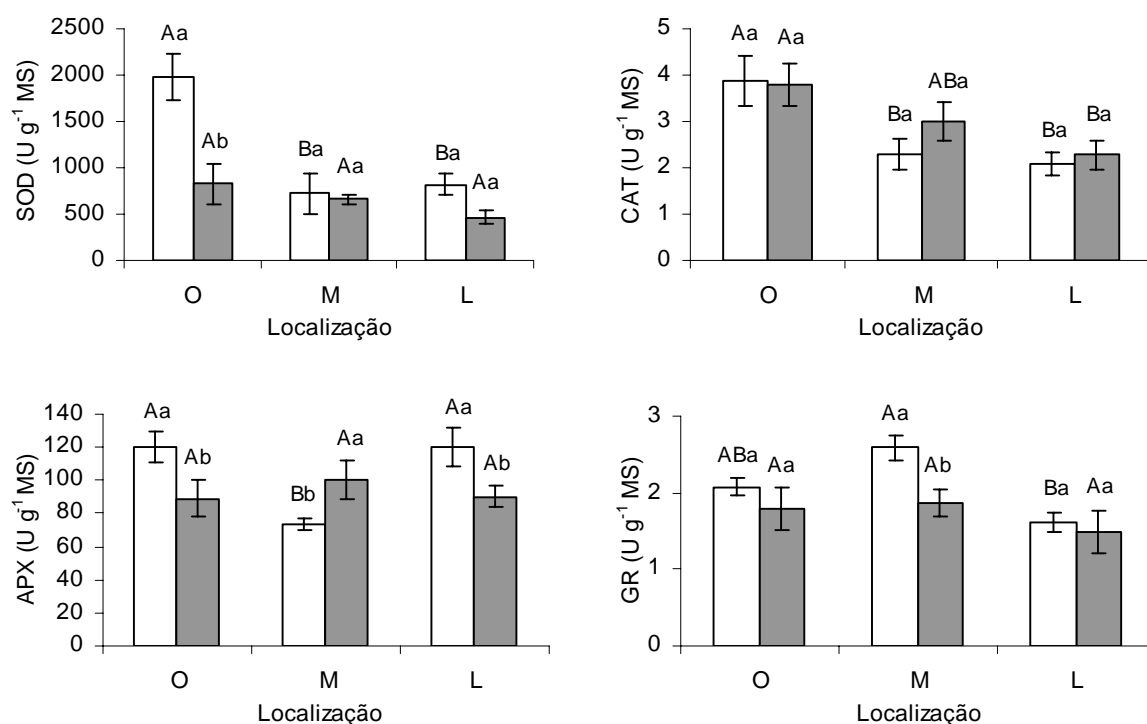


Figura 10: Atividade da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e redutase da glutatona (GR) em dois clones de *Coffea canephora*, 109A (colunas brancas) e 120 (colunas cinzas), em diferentes posições em relação aos renques de seringueira: plantas localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café (O); plantas de café a pleno sol, no meio dos renques de seringueira (M); e plantas localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café (L). Estatística conforme Figura 5.

Sob déficit hídrico, Lima et al. (2002) observaram maior atividade das enzimas SOD, CAT e APX em plantas do clone 120 que no clone 109A. Resultados semelhantes foram observados por Oliveira (2005), especialmente com relação à SOD e à APX, em plantas do clone 120 sob estresse oxidativo mediado por Paraquat. Em ambos os casos, o aumento da atividade daquelas enzimas resultou em menores danos celulares no clone 120, relativamente tolerante ao estresse oxidativo. Por outro lado, sob condições de seca, Pinheiro et al. (2004) observaram incrementos nas atividades da SOD, APX e CAT no clone 109A, e apenas na SOD no clone 120. Contudo, o incremento observado nas atividades das enzimas antioxidantes não foi completamente capaz de prevenir a peroxidação de lipídios no clone 109A, ao passo que no clone 120 aqueles autores não observaram aumento na peroxidação de lipídios. Como um todo, esses resultados sugerem que o clone 109A é, de fato, mais susceptível ao estresse oxidativo que o clone 120. Neste trabalho, as atividades das enzimas

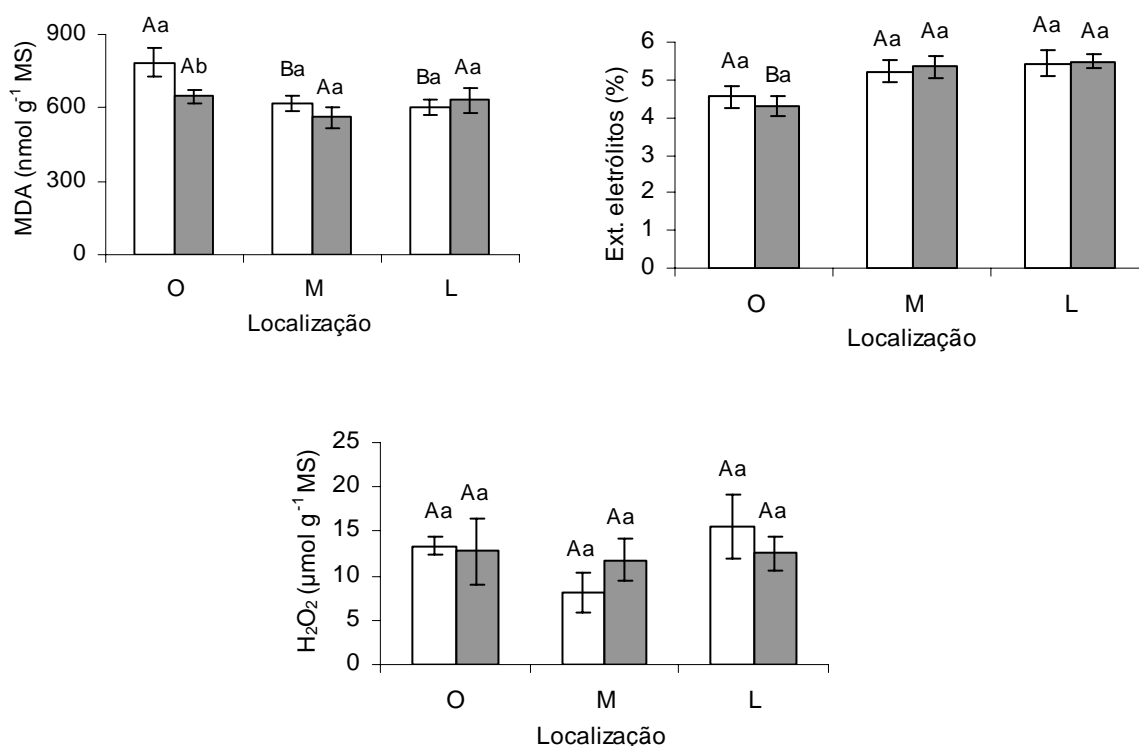


Figura 11: Concentração de aldeído malônico (MDA), extravasamento de eletrólitos e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em dois clones de *Coffea canephora*, 109A (colunas brancas) e 120 (colunas cinzas), em diferentes posições em relação aos renques de seringueira: plantas localizadas na extremidade esquerda (oeste) da fileira de café (O); plantas de café a pleno sol, no meio dos renques de seringueira (M); e plantas localizadas na extremidade direita (leste) da fileira de café (L). Estatística conforme Figura 5.

SOD, APX, CAT e GR foram similares em ambos os clones, porém com uma tendência geral de maiores atividades no clone 109A (Figura 10), podendo indicar um aumento nos processos oxidativos sofrido por plantas desse clone. Todavia, a peroxidação de lipídios, estimada pela produção de MDA, o extravasamento de eletrólitos e a concentração de  $H_2O_2$  foram, em geral, semelhantes entre os clones e as posições avaliadas (Figura 11). Ressalte-se, porém, que as plantas do clone 109A, localizadas na posição oeste, apresentaram maior produção de MDA em relação às das plantas localizadas no meio e leste da linha de café, de ambos os clones, e oeste do clone 120. Isso poderia estar associado ao incremento da concentração de clorofilas daquelas plantas, o que pode ter levado a um aumento na quantidade total de energia absorvida pelos fotossistemas, mesmo estando sombreadas às 16:00 h. Dessa forma, o excesso de energia absorvido pode ter sido utilizado para a formação de ERO's, culminando em maior produção de MDA.

Tomando-se os dados de peroxidação de lipídios, o extravasamento de eletrólitos, a concentração de  $H_2O_2$  e os de fluorescência da clorofila *a* (Figuras 8 e 9) em conjunto, sugere-se que os clones analisados tiveram mecanismos eficientes para promover uma proteção satisfatória contra o estresse oxidativo. Resta demonstrar se esse comportamento também seria verificado em períodos de veranicos, quando a intensidade de radiação solar é usualmente maior e a capacidade de sua utilização, menor.

## 5.0 – CONCLUSÕES

O café conilon, a exemplo do café arábica, exibe baixas taxas fotossintéticas e uma forte sensibilidade estomática à demanda evaporativa da atmosfera. Apesar disso, os clones estudados não apresentaram diferenças no que respeita a danos celulares, independentemente da extensão da radiação solar interceptada. Isso sugere que esses clones devem dissipar, satisfatoriamente, por mecanismos fotoquímicos ou não-fotoquímicos, o excesso de energia absorvida. Além disso, a alteração do ângulo de inclinação foliar, independentemente de variações do status hídrico, pode assumir papel de destaque na fotoproteção das plantas. Cumpre ressaltar, no entanto, que as avaliações foram conduzidas em dias parcialmente nublados e, possivelmente, sob condições de seca ou em períodos com alta luminosidade, as respostas dos clones avaliados poderiam ser diferentes das presentemente relatadas. Por fim, o sombreamento, na medida em que pode contribuir para um *status* hídrico mais favorável, pode ser uma alternativa promissora para reduzir a quantidade de água usada na irrigação, ou para aumentar a eficiência do uso da água em lavouras de café conilon.

## 6.0 - BIBLIOGRAFIA

- ARAÚJO, W.L. **Limitações da fotossíntese e metabolismo do carbono em folhas de diferentes posições da copa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2006. 43p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 50: 601-639, 1999.
- BARROS, R.S.; MOTA, J.W.S.; DaMATTA, F.M.; MAESTRI, M. Decline of vegetative growth in *Coffea arabica* L. in relation to leaf temperature, water potential and stomatal conductance. **Field Crops Research**, 54: 65-72, 1997.
- BEER, J.; MUSCHLER, R.; KASS, D.; SOMARRIBA, E. Shade management in coffee and cacao plantations. **Agroforestry Systems**, 38: 139-164, 1998.
- BJÖRKMAN, O.; DEMMIG-ADAMS, B. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. *In*: SCHULZE, E.-D.; CALDWELL, M.M. (Eds.). **Ecophysiology of Photosynthesis**. Springer-Verlag, Berlin, pp. 17-47, 1995.
- BREGONCI, I.S.; PELISSARI, S.A. Arborização, quebra-ventos e culturas intercalares. *In*: COSTA, E.B.; SILVA, A.E.S.; ANDRADE NETO, A.P.M.; DAHER, F.A. (Eds.). **Manual Técnico para Cultura do Café no Estado do Espírito Santo**. SEAG, Vitória, pp. 63-67, 1995.
- CAKMAK, I.; HORST, J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine*

- max). **Physiologia Plantarum**, 83: 463-468, 1991.
- CARAMORI, P.H.; KATHOUNIAN, C.A.; MORAIS, H.; LEAL, A.C.; HUGO, R.G.; ANDROCIOLI FILHO, A. Arborização de cafezais e aspectos climatológicos. *In*: MATSUMOTO, S.N. (Ed.). **Arborização de Cafezais no Brasil**. UESB, Vitória da Conquista, pp. 23-41, 2004.
- CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 6: 71-80, 1975.
- CHAVES, A.R.M. **Fotossíntese e mecanismos de proteção contra estresse fotooxidativo em *Coffea arabica* L., cultivado em condições de campo sob dois níveis de irradiância**. 2005. 36p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.
- DaMATTA, F.M. Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. *In*: HEMANTARANJAN, A. (Ed.). **Advances in Plant Physiology**, v. 5. Scientific Publishers, Jodhpur, pp. 227-265, 2003.
- DaMATTA, F.M. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee trees: a review. **Field Crops Research**, 86: 99-114, 2004a.
- DaMATTA, F.M. Fisiologia do cafeeiro em sistemas arborizados. *In*: MATSUMOTO S.N. (Ed.). **Arborização de Cafezais no Brasil**. UESB, Vitória da Conquista, pp. 23-41, 2004b.
- DaMATTA, F.M.; LOOS, R.A.; SILVA, E.A.; LOUREIRO, M.E.; DUCATTI, C. Effects of soil water deficit and nitrogen nutrition on water relations and photosynthesis of pot-grown *Coffea canephora* Pierre. **Trees - Structure and Function**, 16: 555-558, 2002.
- DaMATTA, F.M.; MAESTRI, M. Photoinhibition and recovery of photosynthesis in *Coffea arabica* and *C. canephora*. **Photosynthetica**, 34: 439-446, 1997.
- DaMATTA, F.M.; MAESTRI, M.; BARROS, R.S. Photosynthetic performance of two coffee species under drought. **Photosynthetica**, 34: 257-264, 1997.
- DaMATTA, F.M.; RAMALHO, J.D.C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, 18: 55-81, 2006.



- DaMATTA, F.M.; RENA, A.B. Tolerância do café à seca. *In*: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Tecnologias de Produção de Café com Qualidade**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, pp. 65-100, 2001.
- DaMATTA, F.M.; RENA, A.B. Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. *In*: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **O Estado da Arte de Tecnologias na Produção de Café**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, pp. 93-135, 2002.
- DaMATTA, F.M.; RONCHI, C.P.; SALES, E.F.; ARAÚJO, J.B.S. O café conilon em sistemas agroflorestais. *In*: FERRÃO, R.G.; FONSECA, A.F.A.; FERRÃO, M.A.G.; BRAGANÇA, S.M. (Org.). **Café Conilon**. Incaper, Vitória, 2007. (no prelo).
- DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. III; BARKER, D.H.; LOGAN, B.A.; BOWLING, D.R.; VERHOEVEN, A.S. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. **Physiologia Plantarum**, 98: 253-264, 1996.
- DIAS, P.C. **Variação espacial da fotossíntese e de mecanismos de fotoproteção no cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2006. 34p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
- FALSTER, D.S.; WESTOBY, M. Leaf size and angle vary widely across species: what consequences for light interception? **New Phytologist**, 158: 509-525, 2003.
- FANJUL, L.; ARREOLA-R., R; MENDEZ-C., M.P. Stomatal responses to environmental variables in shade and sun grown coffee plants in Mexico. **Experimental Agriculture**, 21:249-258, 1985.
- FAZUOLI, L.C. Genética e melhoramento do cafeeiro. *In*: RENA, A.B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (Eds.). **Cultura do Cafeeiro: Fatores que Afetam a Produtividade**. Potafos, Piracicaba, pp. 87-114, 1986.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, 59: 309-314, 1977.
- HAVIR, E.A.; McHALE, N.A. Regulation of catalase activity in leaves of *Nicotiana glauca* by high CO<sub>2</sub>. **Plant Physiology**, 89: 952-957, 1989.
- JACKSON, M.L. **Soil Chemical Analysis**. Englewood Cliffs, Prentice Hall, 1958.

498p.

JIANG, C.-D.; GAO, H.-Y.; ZOU, Q.; JIANG, G.-M.; LI, L.-H. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. **Environmental and Experimental Botany**, 55: 87-96, 2006.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, F.S.; PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**. Springer-Verlag, New York, 1998. 539 p.

LANDSBERG, J.J. **Physiological Ecology of Forest Production**. Academic Press, Orlando, 1986. 198p.

LEE, D.H.; LEE, C.B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber in gel enzyme activity assays. **Plant Science**, 159: 75-85, 2000.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzimology**, 148: 350-382, 1987.

LIMA, A.L.S.; DaMATTA, F.M.; PINHEIRO, H.A.; TOTOLA, M.R.; LOUREIRO, M.E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, 47: 239-247, 2002.

LIU, L.; XU, S.M.; WOO, K.C. Influence of leaf angle on photosynthesis and the xanthophyll cycle in the tropical tree species *Acacia crassicarpa*. **Tree Physiology**, 23, 1255-1261, 2003.

MALAVOLTA, E.P.; FERNANDES, D.R.; CASALE, H.; ROMERO, J.P. Encarte técnico. Seja doutor do seu cafezal. (Ed.). **Arquivo do Agrônomo**. Potafos, Piracicaba, 1993. 36p.

MARTINEZ, H.E.P.; SANTOS, R.H.S.; NEVES, Y.P.; JARAMILLO-BOTERO, C. Arborização de cafezais nas regiões sudeste e sul. In: MATSUMOTO, S.N. (Ed.). **Arborização de Cafezais no Brasil**. UESB, Vitória da Conquista, pp. 121-165, 2004.

MATSUMOTO, S.N.; VIANA, A.E.S. Arborização de cafezais na região nordeste. In: MATSUMOTO, S.N. (Ed.). **Arborização de Cafezais no Brasil**. UESB, Vitória da Conquista, pp. 167-195, 2004.

- MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, 51: 659-668, 2000.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, 22: 867-880, 1981.
- OLIVEIRA, G.M.R. **Estresse oxidativo mediado por Paraquat e clonagem do gene da dismutase do superóxido (Cu/Zn-SOD) em *Coffea canephora***. 2005. 62p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.
- PINHEIRO, H.A.; DaMATTA, F.M.; CHAVES, A.R.M.; FONTES, E.P.B.; LOUREIRO, M.E. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. **Plant Science**, 167: 1307-1314, 2004.
- PINHEIRO, H.A.; DaMATTA, F.M.; CHAVES, A.R.M.; LOUREIRO, M.E.; DUCATTI, C. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany**, 96: 101-108, 2005.
- PRAXEDES, S.C.; DaMATTA, F.M.; LOUREIRO, M.E.; FERRÃO, M.A.G.; CORDEIRO A.T. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, 56: 263-273, 2006.
- RAMALHO, J.C.; PONS, T.L.; GROENEVELD, H.W.; AZINHEIRA, H.G.; NUNES, M.A. Photosynthetic acclimation to high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. **Australian Journal of Plant Physiology**, 27: 43-51, 2000.
- SISTEMA DE INFORMAÇÕES AGROMETEOROLÓGICAS – SIAG. Dados médios da série histórica da estação meteorológica localizada no município de Linhares-ES. On line. 2006. Disponível em [http://www.incaper.es.gov.br/clima/linhares\\_sh.htm](http://www.incaper.es.gov.br/clima/linhares_sh.htm). Acesso em 07 agosto 2006.

- SIGMAPLOT, for windows. Version 9.01. Copyright©, 2004, Systat Software, Inc., San Jose, 2004.
- SISTEMA PARA ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GENÉTICAS – SAEG. Versão 8.0. Fundação Arthur Bernardes, Viçosa, 1997.
- STATISTICA, for windows. Version 7.0. StatSoft, Inc., Tulsa, 2004.
- TAUSEND, P.C.; MEINZER, F.C.; GOLDSTEIN, G. Control of transpiration in three coffee cultivars: the role of hydraulic and crown architecture. **Trees: Structure and Function**, 14:181-190, 2000.
- YU, Q.; RENGEL, Z. Drought and salinity differentially influence activities of superoxide dismutase in narrow-leafed lupines. **Plant Science**. 142: 1-11, 1999.