

CAMILA RODRIGUES KHOURI

**ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO, TEORES DE NITROGÊNIO E DE
CARBOIDRATOS EM CAFEIRO INFLUENCIADOS PELO
SOMBREAMENTO E ESTÁDIO FENOLÓGICO**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

CAMILA RODRIGUES KHOURI

ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO, TEORES DE NITROGÊNIO E DE
CARBOIDRATOS EM CAFEIEIRO INFLUENCIADOS PELO SOMBREAMENTO
E ESTÁDIO FENOLÓGICO

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

APROVADA: 3 de maio de 2007.

Prof. Ricardo H. S. Santos
(Co-orientador)

Prof. Roberto de A. Leite
(Co-orientador)

Prof. Fernando Luiz Finger

Dr. Paulo César de Lima

Prof. Paulo Roberto Gomes Pereira
(Orientador)

Aos meus pais, EDUARDO e INÊS,

OFEREÇO

Ao meu namorado, MINHO,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, família e amigos que colocou no meu caminho.

Aos meus pais e aos meus irmãos, Olívia e Felipe, pelo incentivo em buscar novos conhecimentos e apoio em todos os momentos.

Ao meu namorado, Hermes, pelo carinho, paciência, incentivo e ajuda nas avaliações do experimento, sem a qual seria impossível a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, por intermédio do Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realizar este treinamento e por proporcionar o convívio com diversas culturas através das amizades adquiridas.

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

Ao professor Ricardo Henrique S. Santos e à amiga Catalina Jaramillo Botero, pela concessão da Área Experimental da Agronomia, pela amizade, colaboração e assistência durante a realização dos trabalhos.

Aos amigos Waguinho, Domingos e Itamar, pelos ensinamentos e colaboração nos trabalhos de laboratório.

Ao professor Paulo Roberto Gomes Pereira, pela confiança e compreensão nos momentos difíceis.

Aos professores Roberto de Aquino Leite e Julio César Lima Neves, pela colaboração e dedicação nas análises estatísticas.

Aos professores Hermínia Emília Pietro Martinez e Fernando Luiz Finger, pelos ensinamentos e colaboração em todos os momentos.

À Ana Maria, minha querida “irmã”, pela amizade, paciência e companheirismo que muito engrandeceu o nosso convívio.

Aos amigos Marialva, Nilbe e Marcelo Reis, pelos conselhos, incentivo, e constante apoio, além dos momentos de descontração.

Aos amigos, Bruno Laviola, Flávio Cardoso e Camilo Busato, pelo companheirismo e alegria transmitida em todos momentos.

Aos todos meus amigos, em especial a Clarice, Fernanda, Luciana, Larissa, Eber, Eulene, Ray, Cândida, Roseli e Carol, pela amizade fraterna, carinho, convivência diária e companheirismo, que fizeram todos os problemas parecerem pequenos diante da nossa amizade.

Ao professor Everardo Chartuni Mantovani, pela amizade e atenção nesses anos em Viçosa.

A Secretaria do Departamento de Fitotecnia, Mara, pelo apoio e inestimável colaboração.

MUITO OBRIGADA!

BIOGRAFIA

CAMILA RODRIGUES KHOURI, filha de Maria Inêz Rodrigues Khouri e Eduardo Esteves João Khouri, nasceu em 01 de julho de 1981, em Vitória da Conquista, BA.

Em 1999, iniciou o Curso de Agronomia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), em Vitória da Conquista, BA, graduando-se em julho de 2004.

Em fevereiro de 2005, iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, na área de Nutrição Mineral e Adubação de Plantas, submetendo-se à defesa de tese em maio de 2007.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. CARACTERÍSTICAS EXPERIMENTAIS	13
3.2. CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	14
3.2.1. Atividade da enzima redutase do nitrato (RN)	14
3.1.2. Teores de N-orgânico, N-NO ₃ ⁻ e Nitrogênio total.....	15
3.1.3. Teores de amido e açúcares solúveis	16
3.1.4. Análise Estatística	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1. Caracterização do ambiente	18
4.2. Teores de nitrato (NO ₃ ⁻), nitrogênio total (NT), nitrogênio orgânico (NORG) e atividade da redutase do nitrato (RN), em folhas de café, nas posições de amostragem na planta.....	19
4.3. Teores de nitrato (NO ₃ ⁻), nitrogênio total (NT), nitrogênio orgânico (NORG) e atividade da redutase do nitrato (RN) em folhas de café, sob diferentes níveis de sombreamento e estágio fenológico.....	25
4.4. Teores de amido (AM), açúcar não redutor (ANR) e açúcar solúvel total (AST), em folhas de café, sob diferentes níveis de sombreamento e estágio fenológico.....	35
CONCLUSÕES.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
APÊNDICE.....	49

RESUMO

KHOURI, Camila Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2007. **Atividade da redutase do nitrato, teores de nitrogênio e de carboidratos em cafeeiro influenciados pelo sombreamento e estágio fenológico.** Orientador: Paulo Roberto Gomes Pereira. Co-orientadores: Ricardo Henrique Silva Santos e Roberto de Aquino Leite.

Objetivou-se, avaliar a atividade da enzima redutase do nitrato, os teores de nitrogênio e de carboidratos em folhas de cafeeiro arábico sob diferentes níveis de sombreamento e posição na planta, durante as fases de desenvolvimento do fruto. O experimento foi conduzido em blocos casualizados no esquema de parcelas sub-subdivididas, com três repetições. As parcelas foram constituídas pelos níveis de sombreamento (0%, 16%, 32% e 48%), as subparcelas por três posições de amostragem na planta e a sub-subparcela por seis estádios de desenvolvimento do fruto. Foram coletadas amostras do 3º e 4º par de folhas de ramos situados em três diferentes posições (ápice, terço médio e base) do cafeeiro. Em cada posição foram coletadas folhas nos pontos cardeais (N, S, L, E) de cada planta. Aos 12 (chumbinho), 69 (expansão rápida), 98 (expansão rápida), 137 (granação), 169 (granação) e 199 (maturação) dias após antese, foram determinados: atividade da redutase do nitrato (RN); teores de nitrato (NO_3^-), nitrogênio orgânico (NORG), nitrogênio total (NT); teores de amido (AM), açúcares redutores (AR), não redutores (ANR) e solúvel total (AST). Em geral, o ápice do cafeeiro apresentou os menores teores de NO_3^- na fase de granação e maturação do fruto. Os teores de NO_3^- em folhas de café foram maiores nas plantas a 48% de sombreamento, no estágio de maturação do fruto. Ao longo do desenvolvimento do fruto, independentemente do sombreamento estudado, a atividade da RN foi menor no estágio de maturação do fruto. Os teores NORG e NT, nas folhas do ápice, foram maiores no estágio de expansão rápida do fruto. Os teores de carboidratos em folhas de cafeeiro aumentaram com o desenvolvimento do fruto, cujo teor de AM foi maior nas plantas a pleno sol, e os teores de ANR e AST foram maiores nas plantas a 48% de sombreamento. Os resultados sugerem que o sombreamento influencia não só a fotossíntese,

mas também o metabolismo do nitrogênio. Assim sendo, espera-se diferentes respostas ao sombreamento em diferentes disponibilidades de nitrogênio.

ABSTRACT

KHOURI, Camila Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May 2007. **Nitrate reductase activity, contents of nitrogen and carbohydrates in coffee plant influenced by the shading and phenology phase.** Adviser: Paulo Roberto Gomes Pereira. Co-advisers: Ricardo Henrique Silva Santos and Roberto de Aquino Leite.

The objective was to evaluate the activity of the enzyme reductase of nitrate, contents of nitrogen and carbohydrates in leaves of Arabian coffee plant under different levels of shading and position over the plant, during the phases of development of the fruit. The experiment was lead in fortuitous block-type in the project of subdivided parts, with three repetitions. The parts were constituted by the levels of shading (0%, 16%, 32% and 48%), the subparts for three positions of sampling over the plant and the subpart for six phases of development of the fruit. Samples of 3rd and 4th pair of situated branch leaves in three different positions (apex, 3rd medium and base) of the coffee plant were collected. In each position, leaves were collected in the cardinal points (N, S, W, E) of each plant. To the 12 (post-flowering), 69 (fast expansion), 98 (fast expansion), 137 (seed-filling), 169 (seed-filling) and 199 (maturation) days after anthesis, were determined: activity of nitrate reductase (NR); nitrate contents (NO_3^-), organic nitrogen (ON), total nitrogen (TN); starch contents (SC), reducing sugars (RS), non-reducing (NRS) and total soluble sugar (TSS). In general, the apex of the coffee plant presented lesser contents of NO_3^- in the seed-filling and maturation phase of the fruit. The contents of NO_3^- in coffee leaves were higher in the plants with 48% of shading, during the fruit maturation stage. During the fruit development, independently of the studied shading, the activity of the RN was lesser in the fruit maturation stage. The contents ON and TN, in leaves of the apex, were higher in the stage of fast expansion of the fruit. The carbohydrate contents in coffee plant leaves had increased with the development of the fruit, which SC content was higher in the plants under the full sun, and NRS and TSS contents were higher in the plants under 48% of shading. The results suggest that the shading not only influences the

photosynthesis, but also the metabolism of nitrogen. Nevertheless, one expects different answers to the shading in different nitrogen availabilities.

1. INTRODUÇÃO

O cafeeiro arábico é cultivado na maioria dos países da América Latina. Ele responde por cerca de 70% do café consumido no mundo, em razão da bebida de qualidade superior que proporciona. O café é um dos principais produtos agrícolas do mundo, gerando cerca de US\$ 12 bilhões por ano no comércio de café limpo beneficiado, no qual, o Brasil fornece cerca de 30%, tendo produzido na safra de 2005/06, 42,5 milhões de sacas de 60 Kg beneficiadas (CONAB, 2007).

O cafeeiro é uma planta nativa dos sub-bosques das florestas tropicais da Etiópia e Sul do Sudão, localizados em altitudes de 1600 a 2000 m, entre as latitudes de 6°N a 10°N. O clima dessa região é ameno e úmido, com uma estação seca de dois a quatro meses. As temperaturas médias variam de 17°C a 19°C no mês mais frio e de 22°C a 26°C no mês mais quente.

Considerando-se o seu local de origem, o cafeeiro apresenta elevada tolerância à sombra e sua sobrevivência pode ser prejudicada pelo excesso de luminosidade e temperaturas elevadas. A adaptação do cafeeiro à sua região de origem exigiu um balanço entre a frutificação e a manutenção e crescimento da planta. Assim, a estratégia de perpetuação do cafeeiro em seu ambiente natural se alicerça mais na sua capacidade de se manter com quantidades extremamente baixas de luz, do que de produzir um grande número de sementes. Contudo, do ponto de vista comercial, o objetivo do produtor de café é a produção de grãos, de modo que o sombreamento precisa ser dosado para que a produção não seja afetada e nem a própria planta tenha prejuízos.

A manutenção de grande número de frutos, em plantas a pleno sol, implica exigência nutricional e energética para o cafeeiro, fazendo com que um ciclo de alta produção seja seguido de outro de baixa produção. Nos cafeeiros sombreados, observam-se colheitas mais estáveis ao longo do tempo pela

redução da flutuação bienal da produção, permitindo o aumento da longevidade das plantas, junto com menor exigência de fertilizantes, especialmente nitrogenados, para uma mesma quantidade de café produzido.

O nitrogênio (N) é o elemento exigido em maiores quantidades pelo cafeeiro, e sua exigência aumenta com a idade da planta especialmente com início da produção do grão, aproximadamente aos dois anos de idade. O fornecimento adequado de N promove rápido crescimento vegetal, especialmente por meio do aumento no número de pares de folhas e ramos plagiotrópicos por planta, número de nós por ramos, e número de frutos e flores por nó, os quais estão associados com a maior produção de café. Em adição, o N é um fator decisivo para proteção de plantas de café contra a fotoinibição da fotossíntese quando as plantas são expostas à alta irradiância, uma vez que promove o reforço do mecanismo protetor. Este fato, em parte, explicaria a alta demanda por nitrogênio em plantios a pleno sol, ao contrário do que se observa em sistemas arborizados.

O nitrato (NO_3^-) absorvido pelas raízes deve ser reduzido a amônio antes de ser assimilado em compostos orgânicos no sistema radicular e/ou parte aérea. A enzima redutase do nitrato (RN) é considerada enzima chave na regulação da disponibilidade de N reduzido para o metabolismo das plantas. A menor exigência de N em ambiente sombreado pode ser explicada pela maior atividade da redutase do nitrato sob menor luminosidade, visto que o cafeeiro é uma planta C3 com máximo de fotossíntese sob luz difusa.

A luz, o NO_3^- e os carboidratos interferem na RN em nível de transcrição e tradução. A RN é uma enzima passível de indução pelo substrato (NO_3^-). Evidências indicam que a influência da luz pode ser devido a um efeito geral na síntese de proteínas e não diretamente na RN.

A quantidade de carboidratos, a luminosidade disponível e outros fatores ambientais, ativam a fosfatase, enzima responsável pela desfosforilação de vários resíduos de serina na proteína da RN e, com isso, favorece a ação enzimática da RN. A falta de luz e de magnésio estimulam a fosforilação dos resíduos de serina os quais interagem com uma proteína inibidora, resultando na desativação da RN.

Apesar da importância da nutrição nitrogenada para o desenvolvimento, aclimatação e produtividade de plantas de café, são poucos os trabalhos sobre o metabolismo do nitrogênio nesta espécie. Alguns estudos

têm sido feitos no sentido de explicar o efeito da luz na atividade da redutase do nitrato em plantas de café. Entretanto, há carência de conhecimento básico sobre a influência do sombreamento sobre processos fisiológicos responsáveis pela assimilação de nitrogênio.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade da enzima redutase do nitrato, os teores de nitrogênio e de carboidratos em folhas de cafeeiro arábico sob diferentes níveis de sombreamento e posição na planta, durante as fases de desenvolvimento do fruto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Durante a fase reprodutiva do cafeeiro, o fruto passa por quatro estádios de desenvolvimento (Camargo e Camargo, 2001; Laviola, 2004). O primeiro estádio apresenta pequeno acúmulo de matéria seca, sendo denominado de chumbinho. O segundo estádio, inicia-se com rápido aumento no conteúdo de matéria seca nos frutos, conhecido como expansão rápida, no qual se observa um rápido aumento do tamanho dos frutos promovido mais efetivamente por expansão celular. Neste estádio, o aumento do acúmulo de matéria seca ocorre, principalmente, por deposição de substâncias de parede celular como celulose, hemiceluloses e pectinas. No terceiro estádio, ocorre paralisação no acúmulo de matéria seca no fruto, denominado de crescimento suspenso. No quarto e último estádio, estão incluídas as fases de granação e maturação. Neste estádio, o acúmulo de matéria seca pelos frutos ocorre, principalmente, por deposição de matérias de reserva.

De acordo com Laviola (2004), em Viçosa, MG, os estádios de chumbinho, expansão rápida e crescimento suspenso, tem duração de 42, 63 e 28 dias, respectivamente. Os estádios de granação e maturação, tem duração de 91 dias.

De acordo com Cannell (1985) nas plantas de café existe íntima relação entre o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo. Deve existir um equilíbrio entre estes, uma vez que grande alocação de fotoassimilados e nutrientes nos grãos freqüentemente levam à forte redução do crescimento vegetativo, inclusive com morte de ramos e ponteiros, reduzindo obrigatoriamente a safra do ano seguinte.

Jaramillo-Botero (2003), estudando quatro níveis de sombreamento (0, 16, 32 e 48%), observou que as plantas sombreadas apresentam o mesmo comportamento sazonal no crescimento do que o relatado em plantas a pleno

sol, para região de Viçosa. O comportamento produtivo dos cafeeiros sob sombra é muito variado, dependendo do local onde é desenvolvida a cultura, do cultivar utilizado e do manejo agrônômico que se dá ao sistema (Mello e Guimarães, 2000).

Em condições ambientais adequadas e com utilização intensiva de insumos, plantios a pleno sol usualmente sobrepoem-se, em termos de produtividade, aos arborizados. De acordo com Da Matta e Rena (2002) três fatores podem concorrer, pelo menos teoricamente, para redução da produção, na medida em que se aumenta a extensão da arborização: menor assimilação de carbono da planta inteira, sob condições de arborização excessiva; maior estímulo à emissão de gemas vegetativas em detrimento das gemas florais; e redução do número de nós produzidos por ramo.

O sombreamento pode reduzir sensivelmente as variações bienais da produção de café. Segundo Cannel (1985) o cafeeiro produz poucas flores em seu ambiente nativo sombreado e, portanto, não desenvolveu, ao longo de sua evolução, mecanismos para manter sua carga de frutos balanceada com a disponibilidade de carboidratos e de minerais. Assim nos cafeeiros a pleno sol, a superprodução pode levar à exaustão das reservas da planta, comprometendo fortemente o crescimento e a produção do ano seguinte. Em termos ideais, o emprego da arborização, ao permitir a redução da emissão de botões florais, deve concorrer para minimizar as flutuações bienais da produção, evitando superproduções e atenuando o depauperamento da planta, permitindo-lhes produções satisfatórias por mais tempo (DaMatta, 2004).

O sombreamento afeta não somente a irradiância ao longo do dossel, mas, também, a temperatura do solo e do ar, a umidade relativa e a velocidade dos ventos. Portanto, a arborização deve afetar mais pronunciadamente, a economia hídrica e a fotossíntese, com reflexos sobre o crescimento e a produção, em adição aos efeitos da luz na diferenciação das gemas vegetativas e reprodutivas (DaMatta, 2004).

Gutiérrez e Meinzer (1994) observaram maior fotossíntese líquida nas folhas expostas do terço superior da copa (ápice) em relação às folhas sombreadas do terço médio, observando-se o inverso para a condutância estomática. Esses resultados indicam que a fotossíntese líquida de folhas sombreadas seria limitada pela baixa disponibilidade de luz e não pela condutância estomática. No entanto, Carelli et al. (1999) não observaram

diferenças entre a fotossíntese líquida e condutância estomática entre plantas de café arábica e canéfora a pleno sol ou sob 50% de sombreamento artificial, mas tanto a fotossíntese líquida como condutância estomática decresceram substancialmente em ambas as espécies sob 80% de sombreamento. Porém, conforme Maestri e Barros (1997) a taxa de assimilatória líquida é, usualmente maior em plantas ao sol que à sombra. Em alguns casos, em que essa taxa é inicialmente maior à sombra, um comportamento oposto pode ser observado, na medida em que as plantas crescem e o auto-sombreamento aumenta, sugerindo limitações da irradiância.

Em sistemas arborizados, nas horas mais quentes do dia, maior umidade relativa, parece acarretar maior abertura estomática, especialmente quando o suprimento hídrico do solo não for limitante (Tesda e Kumar, 1978). A arborização ou a adoção de espaçamentos mais adensados, permite um microclima mais adequado às trocas gasosas, atenuando os efeitos adversos da demanda evaporativa da atmosfera, resultando em incrementos na eficiência do uso da água (Da Matta, 2004). Conforme Nunes (1988), a temperatura e a UR, mas não a irradiância, seriam os fatores ambientais mais importantes envolvidos na regulação estomática do cafeeiro.

Reduções na assimilação de CO₂ observadas em folhas de cafeeiros sob alta radiação têm sido associadas com temperaturas foliares entre 25°C e 35°C, as quais provocam decréscimos na condutância do mesófilo (Kumar e Tieszen, 1980). A elevada radiação não diminuiu a fotossíntese em folhas de cafeeiros quando a temperatura na câmara de assimilação de CO₂ foi mantida até 25°C (Fahl et al., 1994). Por outro lado, Kumar e Tieszen (1980) observaram que a fotossíntese em plantas sombreadas foi substancialmente maior que naquelas a pleno sol, com temperatura foliar em torno de 25°C.

Temperaturas foliares de 15°C ou mesmo 20°C acima da temperatura do ar têm sido registradas em café. Nessa condição, a temperatura foliar atinge facilmente valores em torno de, ou superiores a, 40°C. Desse modo, a fotossíntese líquida é reduzida, em função de limitações estomáticas e do aumento substancial da respiração e da fotorespiração, além da possibilidade de ocorrência de danos diretos à maquinaria fotossintética causados pelas altas temperaturas (DaMatta, 2004).

Durante o dia, a redução da temperatura em cultivos sombreados, nos períodos mais quentes é bem mais pronunciada. A temperatura máxima das

folhas de café em ambiente arborizado com guandu foi de até 10°C menor que a temperatura das folhas de cafeeiros expostas a pleno sol (Morais et al., 2003).

Freitas et al., (2003) estudando o efeito de 0, 30, 50, 70% de sombreamento em cultivares de *C. arabica*, verificaram que o nível de sombreamento de 70% apresentou as maiores taxas de fotossíntese, condutância estomática e transpiração.

O cafeeiro é cultivado a pleno sol, com produções economicamente satisfatórias e, geralmente, maiores que os plantios sob sombra devido à alta capacidade de aclimatação das plantas de café a regimes de irradiância diferentes. A capacidade fotossintética de folhas de café, em resposta as mudanças nos níveis de irradiância, é positivamente correlacionada com seu teor de N (Fahl et al., 1994; Carelli et al., 1999; Andrade Neto, 2005). O processo de aclimatação é fortemente dependente de N, importante para a síntese dos componentes do aparato fotossintético (Ramalho et al., 1997, 1998).

Dentre outros fatores, o N aumenta tanto a atividade como a concentração da Rubisco (Ramalho et al., 1999) e a espessura do mesofilo, isto é, maior volume celular por unidade de área (Fahl et al., 1994). Desse modo, reduz-se a pressão de excitação sobre os fotossistemas e, em última análise, reduz-se a probabilidade de ocorrência de danos fotoinibitórios e fotooxidativos (DaMatta e Rena, 2002). Além de acarretar aumentos à capacidade fotossintética, o N pode também reduzir a extensão de fotodanos, fato possivelmente associado à maior fotoproteção, via aumentos na dissipação térmica (em virtude do maior conteúdo de xantofilas e carotenos), à maior expressão do sistema antioxidativo de defesa e à alteração na estrutura membranar, atenuando a ocorrência de danos celulares, como se observam em cafeeiros adequadamente supridos com N, mas não nos deficientes (Ramalho et al., 1997, 1998, 2000).

Contudo, além da alta habilidade de aclimatação aos diferentes níveis de irradiância, as plantas de café parecem manter características genéticas das espécies adaptadas a sombra, em relação à assimilação do nitrato. A atividade da redutase do nitrato (RN) em folhas de café, é geralmente maior em plantas sombreadas parcialmente (50% de luz) do que naquelas a pleno sol (Faleiros et al., 1975; Carelli et al., 1990; Andrade Netto, 2005).

Para que o NO_3^- possa ser incorporado em estruturas orgânicas tem que ser reduzido a amônio (NH_4^+) e assimilado. Segundo Marschner (1995) para assimilação do amônio existe uma alta demanda por esqueletos carbônicos e isto pode ser considerado que ocorre competição entre a síntese de sacarose e a síntese de aminoácidos.

A importância da redução e assimilação do NO_3^- para as plantas é similar a da redução e assimilação do CO_2 na fotossíntese (Marschner, 1995). A primeira etapa do processo é a redução do nitrato em nitrito no citoplasma, sendo esta reação catalisada pela enzima redutase do nitrato (RN). Rapidamente o nitrito é transportado para o interior dos cloroplastos ou plastídeos, e por ação da enzima redutase do nitrito é reduzido a amônio.

A enzima RN, que recebe elétrons do NADH ou NADPH, é formada por duas subunidades idênticas com três grupos prostéticos: flavina adenina dinucleotídeo (FAD), citocromo 557 (Citic) e cofator molibdênio. A redutase do nitrato desempenha um papel importante no metabolismo dos vegetais, uma vez que é um dos componentes do sistema responsável pelo suprimento de amônio para a síntese dos aminoácidos. Segundo Shankar e Srivastava (1998), a ação da enzima RN é considerada a etapa essencial no processo de assimilação do nitrato. A atividade da RN é um fator limitante no crescimento, desenvolvimento e síntese de proteínas das plantas (Sagi e Lips, 1998). De acordo com Srivastava (1980), a atividade desta enzima pode servir como um índice para se aferir o "status" de N na planta e correlaciona-se muito frequentemente com crescimento e produção.

A luz e o teor de NO_3^- são fatores importantes na indução e manutenção da atividade da RN nos tecidos vegetais. Segundo Marschner (1995) a atividade da RN nas folhas e raízes pode ser induzida pela presença do substrato (NO_3^-). Havendo nitrato ocorre um estímulo à síntese *de novo* da referida enzima (Hewitt et al., 1976), enquanto que déficit hídrico moderado, da ordem de $-0,8$ MPa a $-2,0$ MPa, pode reduzir sua produção em 20%, chegando a 50% quando a planta sofre um estresse intenso (Hsiao, 1979). Segundo Crocomo (1985) a menor atividade da RN em plantas sob estresse hídrico se deve ao decréscimo no fluxo do substrato (NO_3^-) por falta de umidade, principal fator regulador da síntese dessa enzima.

A luz é um dos mais importantes fatores ambientais envolvidos na regulação da RN. A luz estimula a síntese *de novo*, assim como a ativação da

RN após a síntese protéica (Lillo, 1994). Como muitas outras enzimas, um ritmo circadiano na atividade da RN tem sido relatado para várias espécies, aumentando durante as horas de luz, com o pico em aproximadamente meio dia, e decrescendo durante o período escuro (Carelli et al., 2006).

De acordo com Campbell (1988), a luz não influencia a expressão gênica para a RN, uma vez que o RNA mensageiro (RNAm) para a RN não está presente em altos teores em plantas crescidas à luz, a menos que o NO_3^- seja fornecido. Desse modo, a luz não é capaz de exercer influência nos níveis de RNAm para a RN, a menos que o NO_3^- já tenha ativado o gene que codifica a RN.

Roth et al. (1996) estudando um mutante de milho deficiente em rubisco, que perdeu a capacidade de processar o ciclo de Calvin, verificaram menor atividade de RN na presença de luz e também no escuro, constatando que a ativação da RN na presença de luz depende dos produtos desse ciclo.

Maiores atividade enzimática podem ocorrer nos tecidos, com um suprimento adequado de carboidratos (Guerrero et al., 1981). Dessa forma, carboidratos armazenados aparentemente suprem a energia requerida para a indução e a redução do NO_3^- no escuro (Claussen, 1986; Bachmann et al., 1995). Intermediários ou derivados do ciclo de Calvin como, por exemplo, açúcares ou açúcar fosfato, são elos importantes (Huber et al., 1996; Provan e Lillo, 1999).

A quantidade de carboidratos nos órgãos das plantas serve como indicativo da atividade metabólica do tecido, essencial para o crescimento do órgão. O estudo do “status” metabólico, em nível de teores de hidratos de carbono, pode ser utilizado como referência para se avaliar o estado de depauperamento da planta (Neto et al., 2006).

Em condições normais de ativação e na presença de luz a ação da RN seria da ordem de 70% a 90% , reduzindo-se para 10% a 30% no escuro (Kaizer e Huber, 2001). Estes autores afirmam que a luz não é um sinal direto para a atividade dessa enzima (RN), pois mesmo sob intensa e contínua luminosidade a RN é inativa quando falta CO_2 , indicando que a fotossíntese é requerida para sua ativação. Esta constatação indica que a redução do NO_3^- é sensível à resistência estomática, de maneira que em plantas com estômatos fechados, como acontece sob deficiência hídrica, para impedir a perda de água, a taxa fotossintética e a atividade da RN ficam prejudicadas.

Provavelmente, os fotoassimilados exportados para fora do cloroplasto funcionam como sinalizadores capazes de ativar a RN.

Considerando a necessidade de CO₂ para a ação da enzima pode-se admitir, por hipótese, que as causas que afetam a entrada desse gás, como a abertura estomática, variável com a capacidade da planta de manter a turgidez, afetaria a eficiência da RN. O cafeeiro arábico, em razão das condições climáticas de sua região de origem, pode apresentar menor atividade enzimática no período luminoso, devido à baixa condutividade hidráulica dessa espécie, característica de plantas de sub-bosque que se desenvolvem sob elevada umidade relativa do ar (Andrade Netto, 2005).

De acordo com diversos autores a atividade da RN nas folhas de várias espécies, aumenta durante as horas de luz e decresce no escuro (Lewis et al., 1982; Hipkin et al., 1984). Porém, a atividade da RN em folhas de plantas café jovem diminui continuamente durante o período de luz e aumenta durante a noite (Cordeiro et al., 1984; Alves et al., 1985; Carelli, 1987; Ramalho et al., 1999).

Fahl e Carelli (1994), estudando o efeito do sombreamento (30, 50 e 100% da luz solar), constataram que o sombreamento excessivo (30% da luz solar) reduziu o desenvolvimento dos cultivares de *C. arabica*, mas não alterou o desenvolvimento de *C. canephora*, em relação ao cultivo a pleno sol.

Carelli et al. (1990) estudaram o efeito da quantidade de luz (50% e 100%) e o fornecimento de nitrogênio sobre a ação da enzima RN, bem como o teor de nitrato e a quantidade de açúcares nas folhas de plantas jovens de café (*Coffea arabica* L.). Os autores verificaram que a atividade da RN foi menor nas folhas de plantas a pleno sol do que nas folhas das plantas com 50% de sombreamento. A taxa de transpiração e os teores de açúcares e de NO₃⁻ aumentaram nas plantas expostas ao sol, indicando que a disponibilidade de substrato (NO₃⁻) e energia (carboidrato) não são as únicas características que limitam a assimilação reductiva do N. Este comportamento não foi, devidamente explicado diferindo daquele que é observado na maioria das plantas.

Mais recentemente foi observado que a atividade da RN foliar em plantas crescendo a pleno sol reduziu durante o dia, enquanto das plantas crescendo sob 50% de sombreamento apresentou atividade da RN superior durante o período luminoso, às 12:00 h (Andrade Netto, 2005), apresentando o padrão clássico observado em outras espécies.

Cordeiro et al. (1984) e Alves et al. (1985) verificaram que as plantas adultas de café tiveram um mecanismo de assimilação do N diferente daquele das mudas. A atividade da RN das plantas jovens, com 6 meses de idade, foi maior no escuro do que a pleno sol, o contrário tendo sido observado nas plantas adultas, com 36 meses de idade.

A influência da luz varia nas diferentes cultivares e nas diferentes etapas do ciclo de vida do cafeeiro. Durante o ciclo reprodutivo ou anual, as plantas de café usualmente exibem mudanças na absorção do nitrato (Carvajal et al., 1969; Cannell and Kimeu, 1971) e na capacidade de assimilação (Taleisnik et al., 1980; Carelli et al., 1989), o que tem sido associados com os vários estádios de desenvolvimento de flores e frutos.

Os estudos sobre os fatores que afetam o uso e a distribuição de assimilados em cafeeiro mostraram forte influência dos frutos em desenvolvimento sobre a produção e a partição da matéria seca. No estágio de expansão rápida, o fruto pode drenar 95% do N (Cannell, 1985), freqüentemente causando deficiência de nitrogênio na folha e restringindo crescimento vegetativo (Amaral et al., 2001). Cannell (1971) observou que a taxa fotossintética é maior nas plantas com frutos do que naquelas em florescimento.

Padrões característicos de partição do N nas plantas vasculares podem ser reconhecidos em função da localização do mais intenso processo de redução do nitrato, da principal forma de translocação e armazenamento do N orgânico e da intensidade e direção do metabolismo de proteínas (Larcher, 2000).

Avaliando plantas adultas de café em solução nutritiva, Carvajal et al. (1969) observaram que a taxa de absorção de NO_3^- foi maior antes da antese e no início da maturação do fruto. No trabalho realizado por Carelli et al. (1989) que estudaram a assimilação de NO_3^- durante o desenvolvimento reprodutivo de plantas de café, os autores constataram maiores valores de atividade da RN antes da antese e no final do desenvolvimento do fruto. Estes resultados indicam que durante o ciclo reprodutivo, as plantas de café usualmente exibem mudanças na absorção do NO_3^- (Carvajal et al., 1969; Cannell e Kimeu, 1971) e na capacidade de assimilação (Taleisnik et al., 1980; Carelli et al., 1989).

As fases fenológicas nas quais as plantas de café apresentam maiores valores de atividade da RN foliar, correspondem aos períodos de alta demanda

de metabólitos e nutrientes dos drenos (Taleisnik et al., 1980; Carelli et al., 1989).

De acordo com Carelli et al. (2006), a absorção diferencial de NO_3^- associada às fases fenológicas pode ser um importante fator no controle da atividade da RN foliar durante o ciclo anual de plantas de café, independente de variações promovidas por condições ambientais sazonais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. CARACTERÍSTICAS EXPERIMENTAIS

O trabalho foi conduzido no ano agrícola 2005/2006 na área de pesquisa “Agronomia Aeroporto” na Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Viçosa (MG) a 20° 45` Sul e 42° 51` Oeste com altitude de 693 m. A região possui clima subtropical, com temperatura e precipitação média anual de 19°C e 1200 mm, respectivamente.

Os dados foram coletados em plantas da espécie *Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho (CH 2077-2-5-99), cultivadas sob espaçamento de 3 x 1 m. Estas foram plantadas em novembro de 1989, em Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, com declividade do terreno de 40%, sendo o plantio orientado no sentido leste-oeste. Em 1998, as plantas foram recepadas.

O experimento foi montado em blocos casualizados no esquema de parcelas sub-subdivididas, com três repetições. As parcelas foram constituídas por quatro níveis de sombreamento, as subparcelas por três posições de amostragem na planta e a sub-subparcela por seis datas de amostragem. O sombreamento foi fornecido por Sombrite® de diferentes malhas, colocada tanto nas laterais quanto na parte superior da parcela, a partir de outubro de 2001. Os níveis de sombreamento consistiram de 0, 16, 32 e 48% de bloqueio da radiação fotossinteticamente ativa, medida por meio do Ceptômetro de barra (Sunfleck ceptometer type CEP, Delta-T Devices Ltd, England). Cada parcela foi formada por quatro plantas. Todas as parcelas receberam doses de fertilizantes (200kg/ha ano de N; 150kg/ha ano de K₂O; 10kg/ha ano P₂O₅) e controle fitossanitário conforme práticas agrônômicas usuais recomendadas para a cultura.

As amostragens foram realizadas a partir da antese floral (07/11/05). Realizaram-se coletas periódicas de folhas durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro nos seguintes períodos: 12 (chumbinho), 69 (expansão rápida), 98 (expansão rápida), 137 (granação), 169 (granação) e 199 (maturação) dias após a antese. Foram coletadas amostras do 3º e 4º par de folhas de ramos situados em três diferentes posições (ápice, terço médio e base) do cafeeiro. Em cada posição foram coletadas folhas nos pontos cardeais (N, S, L, E) de cada planta.

3.2. CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

3.2.1. Atividade da enzima redutase do nitrato (RN)

A determinação da atividade da redutase do nitrato foi feita empregando-se o ensaio *in vivo*, baseada na metodologia de Da Matta et al. (1999).

Cada avaliação foi realizada num prazo máximo de três dias entre a coleta e a análise, sendo trabalhado um bloco por dia. As coletas foram efetuadas entre 7:00 e 8:00 horas, retirando-se ramos de três posições das plantas. Posteriormente os ramos foram cortados submersos em água, para evitar embolia, e levados ao laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da UFV.

No laboratório as amostras do 3º e 4º par de folhas foram selecionadas para avaliação da atividade da redutase do nitrato, a qual consistiu na infiltração e incubação de discos foliares de 1 cm de diâmetro, em 10 mL de meio tampão fosfato (KH_2PO_4 e K_2HPO_4) 0,2 M (pH 7,5), nitrato de potássio 0,25 M, propanol e Triton x - 100 10%. Após a imersão, as amostras foram transferidas ao dessecador e submetidas à infiltração a vácuo por um minuto, três vezes, com a finalidade de aumentar a penetração da solução nos tecidos. Em seguida, os frascos de incubação foram levados ao banho-maria, a 30º C, envoltos em papel alumínio. Nos tempos previamente ajustados de 30 e 60 minutos, retiraram-se alíquotas de 1 mL, adicionando a cada uma 0,3 mL de sulfanilamida 1%, 0,3 mL de α -naftilenodiamino 0,02 % e 3,4 mL de água.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm, sendo a atividade da enzima determinada pela quantidade de nitrito (NO_2^-) produzida, comparando os valores obtidos com uma curva padrão para esse íon.

3.1.2. Teores de N-orgânico, N- NO_3^- e Nitrogênio total

O material vegetal coletado foi lavado em água desionizada e posto a secar em estufa de ventilação forçada de ar à 70°C até atingirem massa constante. Em seguida, o material foi moído, passado em peneira de malha de 0,841 mm e acondicionado em embalagens de papel para realização das análises.

Para determinação dos teores de N, o material vegetal, seco e moído, foi submetido à digestão sulfúrica (Jackson, 1958), bem como a extração com água, em banho-maria, para análise do nitrato (Cataldo et al., 1975).

O nitrogênio total foi determinado pelo método Kjeldahl. Pesou-se 0,2 g de MS e transferiu-se para o tubo de digestão, no qual foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico e $\pm 0,4$ g de mistura digestora (200 g de sulfato de sódio, 20 g de sulfato de cobre e 2,0 g de selênio). A temperatura foi aumentada de 50 em 50°C por aproximadamente 30 minutos até atingir 350°C. Para a destilação utilizou-se o volume de NaOH (40%) suficiente para neutralizar o ácido e deixar o meio alcalino, liberando assim a amônia (NH_3), a qual foi fixada em solução indicadora de ácido bórico. Em seguida, fez-se a titulação com HCl 0,1N.

O nitrato foi determinado por colorimetria de acordo com Cataldo et al. (1975). Para isso, 0,1 g de matéria seca foi colocada em tubo de ensaio, juntamente com três gotas de álcool etílico e 10 mL de água, e incubado em banho-maria à 45°C por 1 hora. Após este período, adicionou-se $\pm 0,2$ g de carvão ativo às amostras, seguido agitação e filtragem (papel filtro lento). Do extrato obtido após filtragem, retiraram-se alíquotas de 0,2 mL, adicionando a cada uma 0,8 mL de ácido salicílico 5% em ácido sulfúrico e 19 mL de hidróxido de sódio 2N. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 410 nm.

O N-orgânico foi determinado pela diferença entre os teores de nitrogênio total e nitrato.

3.1.3. Teores de amido e açúcares solúveis

Para análise de carboidratos foram selecionadas as amostras referentes ao terço médio da planta, sendo que foram perdidas as amostras referentes aos 12, 69 e 98 dias após antese. As amostras foram coletadas juntamente com material vegetal para as análises da atividade da redutase do nitrato. Após as coletas os discos foliares de 1 cm de diâmetro foram colocados em nitrogênio líquido e posteriormente armazenados em freezer a -80 °C.

Antes de se iniciarem as análises, os materiais vegetais foram transferidos para estufa de circulação forçada, a 70 °C, por 72 horas, para a determinação da massa seca.

Para a análise de açúcares solúveis totais (AST) as amostras foram maceradas adicionando-se etanol 80% fervente e areia fina lavada em ácido. O produto da maceração foi transferido quantitativamente para tubos plásticos e centrifugado a 1250 g, por 10 min. O precipitado foi lavado com 2,5 mL de etanol 80%, por três vezes, e centrifugado, e os sobrenadantes combinados tiveram seu volume completado para 25 mL com água destilada. Dos 25 ml de solução etanólica foram retirados 10 ml e evaporados em evaporador rotativo a vácuo, a 45 °C. O resíduo da evaporação foi ressuscitado em 5 mL de água destilada e armazenado a aproximadamente -20°C, até o momento das análises.

A quantificação dos açúcares solúveis totais foi realizada segundo metodologia preconizada por McCready et al. (1950). Alíquotas de 50 µL foram colocadas em tubos de ensaio rosqueados, sendo o volume completado para 1 mL com água destilada. Em seguida, os tubos foram colocados em banho de gelo e adicionou-se 5 mL do reativo de antrona, previamente preparado. Os tubos tampados, foram agitados em vortéx e colocados em água fervente por 12 min; a reação foi interrompida por meio da imersão em banho de gelo. Após atingir temperatura ambiente, a leitura foi feita em espectrofotômetro a 620 nm.

Os açúcares redutores (AR) foram quantificados pela técnica de Nelson (1944) e Somogy (1952). Alíquotas de 100 µL da mesma suspensão utilizada na determinação dos açúcares solúveis totais (AST) foram colocadas em tubos de ensaio rosqueados, e o volume foi completado com água destilada para 1 mL e adicionou-se 1 mL do reativo de Nelson. Os tubos foram rosqueados, agitados e aquecidos em banho-maria por 20 min. Em seguida,

resfriaram-se os tubos em banho de gelo e adicionou-se 1 mL da solução arsenomolibídica. Os tubos foram agitados e, em seguida, acrescentaram-se 7 mL de água destilada; após nova agitação, efetuou-se a leitura da absorvância, a 540 nm.

Do resíduo proveniente da extração de açúcares solúveis totais, determinou-se o teor de amido mediante metodologia descrita por McCready et al., (1950). O resíduo foi ressuspenso em ácido perclórico 30%, por três vezes, permitindo-se tempos de reação, de 20, 30 e 20 min, para cada extração, respectivamente. Transcorrido o tempo de reação, foram acrescentados ao extrato 6 mL de água destilada e, em seguida, centrifugado a 1250 g, por 10 min. Os sobrenadantes obtidos foram combinados, completando-se, então, o volume para 50 mL com água destilada. Alíquotas de 200 μ L foram tomadas e colocadas em tubos de ensaio rosqueados para a quantificação do amido, por reação com antrona, conforme foi descrito para a quantificação dos açúcares solúveis totais. Para o cálculo do amido, o resultado final foi multiplicado por 0,9.

3.1.4. Análise Estatística

Os resultados de cada característica avaliada foram submetidos à análise de variância. Independentemente de a interação ser ou não significativa optou-se pelo estudo do desdobramento da mesma. A significância dos efeitos foi testada com base no valor de quadrado médio do resíduo combinado e no respectivo número de graus de liberdade, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. Para o estudo do efeito da posição da planta (sub-parcela) dentro do sombreamento (parcela) e da época (subsub-parcela) de amostragem, as médias foram comparadas utilizando-se o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. No estudo do sombreamento e da época de amostragem dentro da posição, efetuaram-se análises de regressão linear múltipla. Para seleção dos modelos considerou-se a explicação fisiológica a variação dos dados, a significância dos coeficientes da regressão até o nível de 5% de probabilidade pelo teste t, assim como o maior coeficiente de determinação (R^2).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização do ambiente

Os dados diários de precipitação, umidade relativa do ar (UR) e temperaturas máxima (T_{máx}) e mínima (T_{mín}) referentes ao período de avaliação, obtidos na estação meteorológica da Universidade Federal de Viçosa, são mostrados na Figura 1. Os menores índices pluviométricos e de temperatura, foram observados na fase de maturação, correspondente ao mês de maio. No período estudado foram registrados valores de temperatura máxima do ar superior a 25°C. Conforme relatado por Fahl et al. (1994), temperaturas do ar acima de 25°C podem comprometer a fotossíntese de folhas de café em função de limitações estomáticas, além da possibilidade de danos à maquinaria fotossintética.

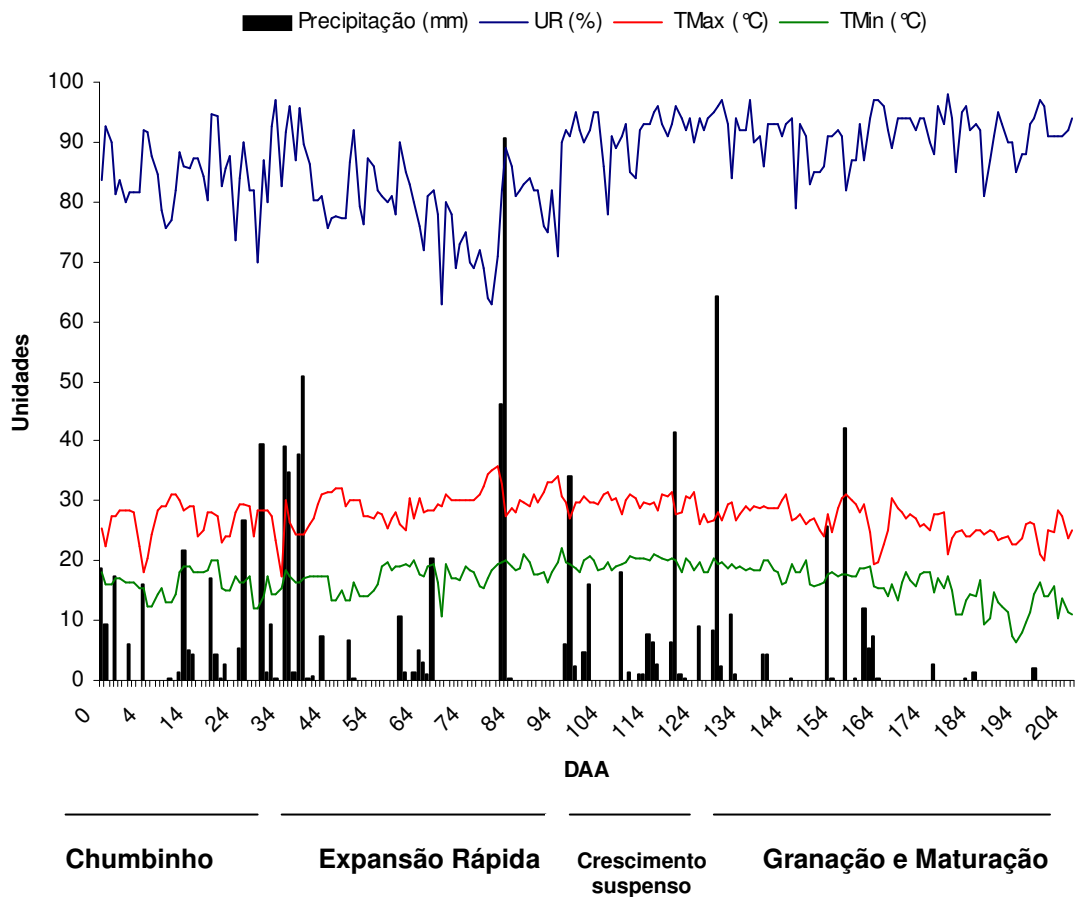


Figura 1. Dados diários de precipitação (mm), umidade relativa do ar (%) e temperaturas máxima e mínima (°C) referente ao período experimental, em dias após antese (DAA).

4.2. Teores de nitrato (NO_3^-), nitrogênio total (NT), nitrogênio orgânico (NORG) e atividade da redutase do nitrato (RN), em folhas de café, nas posições de amostragem na planta.

Em geral, o ápice do cafeeiro apresentou os menores teores de NO_3^- na fase de granação e maturação do fruto. Os teores de NO_3^- nas folhas não diferiram nas três posições de amostragem aos 12, 67 e 98 dias após a antese (DAA) (Quadro 1). Entretanto, variaram após esse período com o sombreamento e posição de amostragem. Os menores teores de NO_3^- nas folhas aos 137 DAA, foram observados no ápice das plantas, nas condições de 16 e 48% de sombreamento (Quadro 1), enquanto aos 169 DAA os menores teores foram no ápice em todos os sombreamentos. Aos 199 DAA os maiores teores foram observados no terço médio nos sombreamentos de 32 e 48%.

Quadro 1- Teores de nitrato (NO_3^-) em folhas do ápice, terço médio e da base do cafeeiro sob diferentes níveis de sombreamento (SOMB), aos 12, 67, 98, 137, 169 e 199 dias após antese (DAA). Média de três repetições.

POS	SOMB	DAA					
		12	67	98	137	169	199
		N-NO_3^- (dag Kg^{-1} MS)					
ÁPICE	0%	0.057 a	0.007 a	0.062 a	0.044 a	0.026 b	0.032 a
MÉDIO	0%	0.012 a	0.002 a	0.044 a	0.041 a	0.066 ab	0.071 a
INFERIOR	0%	0.007 a	0.009 a	0.062 a	0.088 a	0.115 a	0.071 a
ÁPICE	16%	0.057 a	0.016 a	0.042 a	0.058 b	0.018 b	0.031 a
MÉDIO	16%	0.004 a	0.008 a	0.060 a	0.073 ab	0.099 a	0.072 a
INFERIOR	16%	0.004 a	0.005 a	0.071 a	0.123 a	0.093 a	0.083 a
ÁPICE	32%	0.011 a	0.010 a	0.041 a	0.052 a	0.022 b	0.040 b
MÉDIO	32%	0.006 a	0.015 a	0.073 a	0.042 a	0.127 a	0.123 a
INFERIOR	32%	0.005 a	0.024 a	0.074 a	0.065 a	0.139 a	0.081 ab
ÁPICE	48%	0.010 a	0.027 a	0.061 a	0.049 b	0.033 c	0.073 b
MÉDIO	48%	0.008 a	0.041 a	0.071 a	0.108 a	0.171 a	0.148 a
INFERIOR	48%	0.006 a	0.034 a	0.080 a	0.082 ab	0.110 b	0.114 ab

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, em cada nível de sombreamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Conforme os resultados de Taleisnik et al. (1980) e Carelli et al. (1989) as plantas de café apresentam mudanças na capacidade de assimilação do NO_3^- durante o ciclo reprodutivo. O teor de NO_3^- em um tecido reflete o equilíbrio entre a quantidade de NO_3^- que chega ao tecido, o acúmulo de matéria seca e a atividade da RN no tecido.

As folhas da região apical recebem maior radiação incidente, diferente das folhas das demais posições do cafeeiro que estão sujeitas ao auto-sombreamento. De acordo com Gutiérrez e Meinzer (1994) as folhas do ápice do cafeeiro apresentam maior fotossíntese líquida do que as folhas sombreadas do terço médio. O NO_3^- absorvido pelas plantas passa pelo processo de redução, antes de ser incorporado em aminoácidos e proteínas. A RN, primeira enzima que catalisa a reação na via de assimilação de nitrato, é influenciada pela luz. Considerando que a luz e a fotossíntese são requeridas para ativação da RN (Kaizer e Huber, 2001), acredita-se que a maior atividade da RN nas folhas do ápice aos 137 DAA (Quadro 2) pode explicar os menores teores de NO_3^- no mesmo período.

Quadro 2 - Atividade da redutase do nitrato em folhas do ápice, terço médio e da base do cafeeiro sob diferentes níveis de sombreamento (SOMB), aos 12, 67, 98, 137, 169 e 199 dias após antese (DAA). Média de três repetições.

POSI	SOMB	DAA					
		12	67	98	137	169	199
		RN ($\mu\text{mol NO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$)					
ÁPICE	0%	0.596 a	0.927 b	0.662 b	0.220 a	0.037 a	0.150 a
MÉDIO	0%	0.495 a	1.108 a	0.899 a	0.215 a	0.038 a	0.166 a
INFERIOR	0%	0.260 b	1.063 ab	0.937 a	0.118 a	0.050 a	0.077 a
ÁPICE	16%	1.524 a	1.035 a	0.789 a	0.239 a	0.088 a	0.193 a
MÉDIO	16%	0.518 b	0.903 a	0.867 a	0.193 ab	0.028 a	0.153 a
INFERIOR	16%	0.172 c	1.231 a	0.930 a	0.040 b	0.042 a	0.290 a
ÁPICE	32%	0.441 a	0.749 b	0.712 b	0.291 a	0.135 a	0.215 a
MÉDIO	32%	0.385 ab	0.887ab	0.962 a	0.148 ab	0.163 a	0.179 a
INFERIOR	32%	0.210 b	1.040 a	0.964 a	0.040 b	0.065 a	0.199 a
ÁPICE	48%	0.625 a	0.967 b	0.591 b	0.370 a	0.157 a	0.336 a
MÉDIO	48%	0.411 b	1.126 ab	0.830 a	0.240 a	0.063 a	0.317 a
INFERIOR	48%	0.224 c	1.231 a	0.966 a	0.051 b	0.127 a	0.257 a

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, em cada nível de sombreamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A luz é um dos mais importantes fatores ambientais envolvidos na regulação da redutase do nitrato (RN). Nitrato é facilmente transportado no xilema das plantas e pode ser reduzido e assimilado tanto nas folhas quanto nas raízes. A partição da redução do nitrato entre raiz e parte aérea varia de acordo com a espécie, idade e condições ambientais (Carelli et al. 2006).

No primeiro estágio de desenvolvimento do fruto (chumbinho), as folhas da base apresentaram os menores valores de atividade da RN, não diferindo das folhas do terço médio na condição de 32% de sombreamento (Quadro 2).

Em geral, aos 67 e 98 DAA os maiores valores de atividade da RN foram obtidos nas folhas da base. Esses resultados discordam dos obtidos por Reis et al. (2005), os quais verificaram menores atividades da RN na base do cafeeiro, explicado pela presença de folhas velhas, apresentando baixa capacidade de síntese, além do baixo índice de radiação incidente. Na condição de 16% de sombreamento não foi observada diferença estatística entre as posições.

Em contraste, aos 137 DAA os maiores valores de atividade da RN foram obtidos nas folhas do ápice, que justificam os menores teores NO_3^- (Quadro 1). Apesar de não ter sido avaliado a presença de frutos nos ramos, esta característica pode ter influenciado o teor de NO_3^- e a atividade da RN nas diferentes posições do cafeeiro e nos diferentes estádios de desenvolvimento do fruto.

De acordo com Carelli et al. (1989) a presença de frutos induz maior demanda de metabólitos, evidenciada pela maior atividade da RN nas folhas que nutrem aqueles órgãos. O maior teor de NO_3^- nas folhas dos ramos com frutos indica que existe um direcionamento preferencial do fluxo de nutrientes para os ramos, que constituem maior fonte de consumo.

Não foi verificada diferença estatística entre os tratamentos aos 169 e 199 DAA (Quadro 2).

Quanto aos teores de N-total e N-orgânico, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos estudados (Quadro 3 e 4). Esses resultados sugerem que teor de nitrato nas folhas é uma importante ferramenta no diagnóstico do estado nutricional nitrogenado de plantas de café.

Uma vez que o NO_3^- é a forma preferencialmente absorvida pelo cafeeiro, a sua concentração nas folhas é uma das características importante para a verificação do status de N e, com base neste status, talvez possam ser feitas as recomendações de adubação nitrogenada.

No diagnóstico ou na interpretação do significado do teor de nitrato foliar é necessário que haja valores ou índices considerados referenciais em determinado estágio fisiológico da planta. No entanto, há carência de valores de referência para interpretar os teores de nitrato nas folhas. Os padrões podem ser obtidos de populações de plantas da mesma espécie e variedade altamente produtivas, ou de ensaios em condições controladas (Martinez et al. 1999).

Quadro 3 – Teores de nitrogênio total (NT) em folhas do ápice, terço médio e da base do cafeeiro sob diferentes níveis de sombreamento (SOMB), aos 12, 67, 98, 137, 169 e 199 dias após antese (DAA). Média de três repetições.

POSI	SOMB	DAA						Média
		12	67	98	137	169	199	
		NT (dag Kg ⁻¹ MS)						
ÁPICE	0%	2.83	3.18	3.15	3.21	3.06	2.76	3.03 a
MÉDIO	0%	2.95	2.78	3.01	2.82	3.13	2.81	2.91 a
INFERIOR	0%	2.83	3.11	2.92	3.01	3.18	2.97	3.00 a
Média		2.87	3.02	3.03	3.01	3.12	2.85	
ÁPICE	16%	2.62	3.07	3.22	2.97	2.72	2.72	2.89 a
MÉDIO	16%	2.85	3.00	2.90	3.04	2.96	2.66	2.90 a
INFERIOR	16%	3.07	2.88	2.85	3.04	2.82	2.90	2.92 a
Média		2.85	2.98	2.99	3.01	2.83	2.76	
ÁPICE	32%	2.72	3.16	2.95	3.15	2.90	2.74	2.94 a
MÉDIO	32%	3.07	2.55	2.60	2.83	3.06	2.92	2.84 a
INFERIOR	32%	2.74	2.93	2.72	2.88	3.04	2.78	2.85 a
Média		2.84	2.88	2.75	2.95	3.00	2.81	
ÁPICE	48%	2.81	2.86	3.08	3.20	2.97	2.83	2.96 a
MÉDIO	48%	2.78	3.06	2.92	3.04	3.08	2.99	2.98 a
INFERIOR	48%	2.85	2.97	2.76	2.90	3.01	2.76	2.88 a
Média		2.81	2.96	2.92	3.04	3.02	2.86	

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, em cada nível de sombreamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 4 - Teores nitrogênio orgânico (NORG) em folhas do ápice, terço médio e da base do cafeeiro sob diferentes níveis de sombreamento (SOMB), aos 12, 67, 98, 137, 169 e 199 dias após antese (DAA). Média de três repetições.

POSI	SOMB	DAA						Média
		12	67	98	137	169	199	
		NORG (dag Kg ⁻¹ MS)						
ÁPICE	0%	2.77	3.17	3.12	3.17	3.03	2.73	3.00 a
MÉDIO	0%	2.93	2.78	2.97	2.78	3.06	2.74	2.88 a
INFERIOR	0%	2.82	3.10	2.86	2.92	3.06	2.90	2.94 a
Média		2.84	3.02	2.98	2.96	3.05	2.79	
ÁPICE	16%	2.62	3.06	3.18	2.91	2.70	2.68	2.86 a
MÉDIO	16%	2.85	2.99	2.84	2.96	2.86	2.58	2.85 a
INFERIOR	16%	3.07	2.87	2.78	2.91	2.73	2.82	2.86 a
Média		2.84	2.97	2.93	2.93	2.76	2.69	
ÁPICE	32%	2.71	3.15	2.90	3.10	2.88	2.70	2.91 a
MÉDIO	32%	3.06	2.54	2.53	2.79	2.93	2.80	2.77 a
INFERIOR	32%	2.73	2.91	2.64	2.81	2.90	2.70	2.78 a
Média		2.83	2.87	2.69	2.90	2.90	2.73	
ÁPICE	48%	2.80	2.84	3.02	3.15	2.93	2.76	2.92 a
MÉDIO	48%	2.78	3.02	2.84	2.93	2.91	2.84	2.89 a
INFERIOR	48%	2.84	2.93	2.69	2.82	2.90	2.65	2.81 a

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, em cada nível de sombreamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.3. Teores de nitrato (NO_3^-), nitrogênio total (NT), nitrogênio orgânico (NORG) e atividade da redutase do nitrato (RN) em folhas de café, sob diferentes níveis de sombreamento e estágio fenológico.

Não foram encontrados ajustes significativos dos teores de NO_3^- nas folhas do ápice ($\bar{x} = 0,0033 \text{ dag kg}^{-1} \text{ MS}$) e, NT e NORG nas folhas do terço médio ($\bar{x} = 2,91 \text{ dag kg}^{-1} \text{ MS}$ e $2,85 \text{ dag kg}^{-1} \text{ MS}$, respectivamente) e da base ($\bar{x} = 2,91 \text{ dag kg}^{-1} \text{ MS}$ e $\bar{x} = 2,84 \text{ dag kg}^{-1} \text{ MS}$, respectivamente), à variação no nível de sombreamento e do estágio fenológico.

Verificaram-se menores teores de NO_3^- na fase de chumbinho em todos os sombreamentos estudados. Os maiores teores de NO_3^- foram observados aos 199 DAA (maturação) à 48% de sombreamento (Figuras 2A e 2B; Quadro 5). O sombreamento parece acarretar maior condutância estomática, taxas de fotossíntese e transpiração (Tesda e Kumar, 1978; Freitas et al., 2003; Andrade Netto, 2005). Estas características podem explicar os maiores teores de NO_3^- nas plantas a 48% de sombreamento, como consequência da maior absorção devido à manutenção do fluxo xilemático nesta condição.

Nas folhas do ápice os teores de NO_3^- foram similares, independente do estágio de desenvolvimento do fruto e da intensidade de sombreamento. No terço médio, o teor de NO_3^- das folhas aumentou com o sombreamento e com os DAA (desenvolvimento dos frutos). Nas folhas da base os teores de NO_3^- foram mais baixos que nas folhas do terço médio e aumentaram com o desenvolvimento dos frutos.

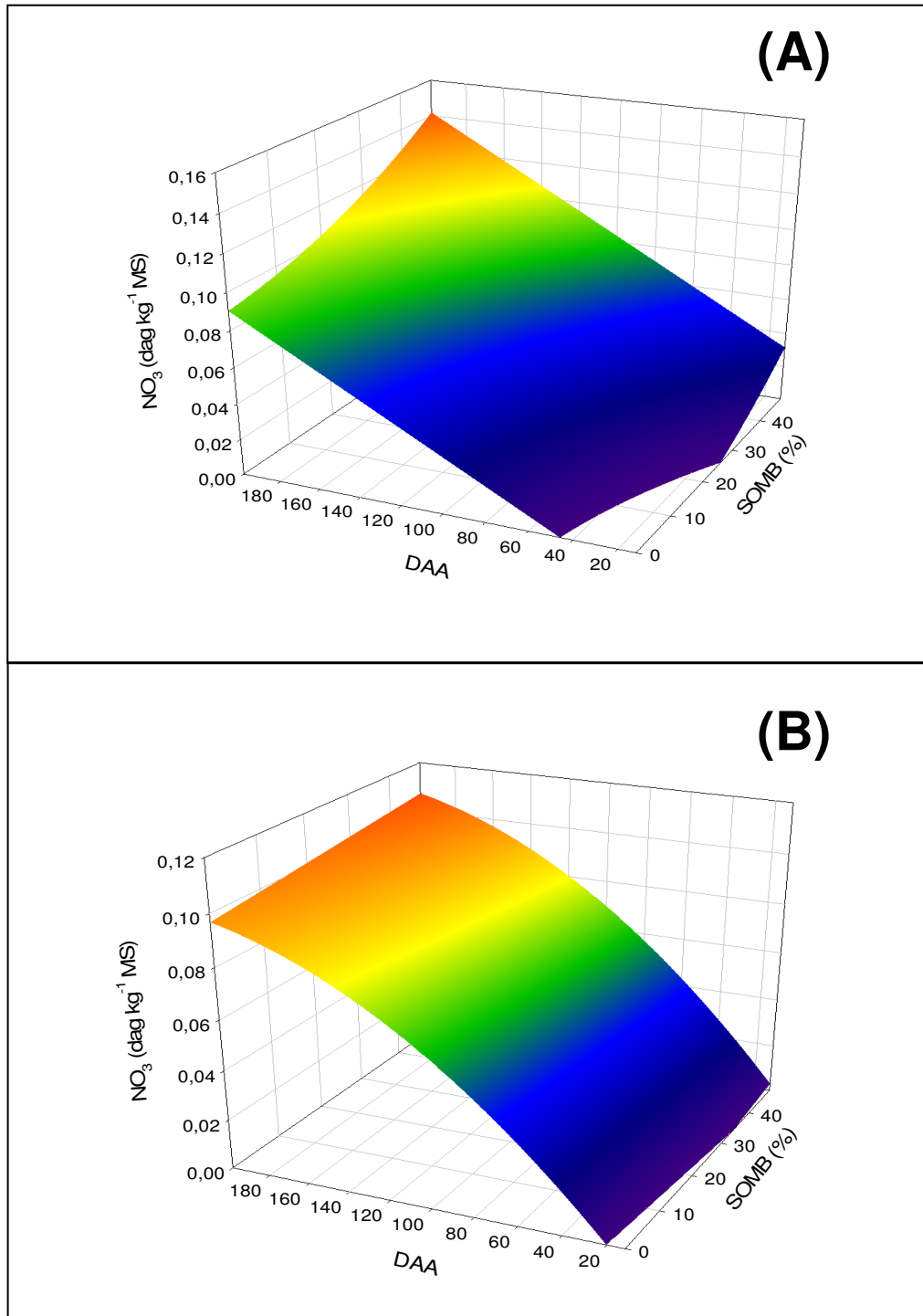


Figura 2 – Teor de nitrato nas folhas do terço médio (A) e da base (B) do cafeeiro em função dos dias após a antese (DAA) e do sombreamento (SOMB). Viçosa, MG. 2005-2006.

QUADRO 5. Equações de regressão dos teores de nitrato (NO₃), nitrogênio total (NT), nitrogênio orgânico (NO) e atividade da redutase do nitrato (ARN) em folhas de café em função dos dias após antese (daa) e do sombreamento (somb).

VAR	POSI	Equação de Regressão	R ²
NO ₃	Médio	$\hat{Y} = -0,027 + 0,00059^{**}daa + 0,00040*somb + 0,0000139*somb^2$	0,803
	Base	$\hat{Y} = -0,019 + 0,00098*daa - 0,000002*daa^2 + 0,00022^{**}somb$	0,755
	Ápice	$\hat{Y} = 0,863 - 0,00144^{**}daa - 0,0000134^{**}daa^2 + 0,0055^{**}somb - 0,00011^{**}somb^2$	0,573
ARN	Médio	$\hat{Y} = 0,500 + 0,00712^{**}daa - 0,000048^{**}daa^2 - 0,00536^{**}somb + 0,000113^{**}somb^2$	0,530
	Base	$\hat{Y} = 0,328 + 0,00915^{**}daa - 0,000056^{**}daa^2 - 0,000154*somb + 0,00003*somb^2$	0,431
NT	Ápice	$\hat{Y} = 2,7 + 0,0092^{**}daa - 0,000043^{**}daa^2 - 0,0089*somb + 0,00016*somb^2$	0,752
NO	Ápice	$\hat{Y} = 2,69 + 0,0088^{**}daa - 0,000042^{**}daa^2 - 0,0083*somb + 0,00014*somb^2$	0,745

** e *, significativos a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

Nos quatro sombreamentos estudados, verificaram-se menores valores de atividade da RN no estágio de maturação do fruto (Figuras 3A, 3B e 3C; Quadro 5). Este comportamento é coerente com os teores de NO_3^- no mesmo período (Figura 2A e 2B). Discordando dos resultados obtidos por Carelli et al. (1989), onde a atividade da RN foliar foi maior antes da antese e no final do desenvolvimento do fruto.

Após a quebra da dormência dos botões florais de café, os verticilos se expandem rapidamente até a antese, apresentando aumento de matéria seca de 500% em relação aos botões dormentes (Barros et al., 1982). Nesse período, é necessário um rápido transporte de substâncias orgânicas para os botões florais, e a fotossíntese corrente é muito mais importante para sustentar o crescimento da flor do que as reservas armazenadas, tanto nas folhas como no lenho dos ramos (Barros et al., 1982; Rena et al., 2001). Nas folhas do ápice, o estágio de chumbinho apresentou maiores atividades da RN para todos os sombreamentos (Figura 3A). Como esta avaliação foi realizada logo após a antese (12 dias), os altos valores de atividade da RN podem indicar a intensidade dos processos anabólicos das folhas a fim de suprir a demanda de metabólitos durante a fase final de desenvolvimento da flor. É importante considerar que após a florada principal, outras floradas de menor intensidade ocorreram, principalmente na região apical, possivelmente mantendo atividade da RN elevada nessa fase.

Nas folhas do terço médio e da base verificaram-se, em todos os sombreamentos estudados, maiores valores de atividade da RN no estágio de expansão rápida (Figura 3B e 3C). Os resultados obtidos corroboram os resultados publicados por vários autores, os quais verificaram que a atividade da RN, nas folhas do cafeeiro, aumenta nas fases fenológicas com intensa demanda de metabólitos e nutrientes dos drenos (Taleisnik et al., 1980; Carelli et al., 1989). Uma destas fases coincide com o estágio de chumbinho e expansão rápida do fruto, quando os endospermas das sementes estão em formação, os quais são potenciais drenos de carboidratos minerais (Cannel, 1975). A atividade da RN no terço médio e na base aumentou no início da formação do endosperma, mantendo níveis elevados no final da expansão dos frutos.

Os maiores valores de atividade da RN nas folhas do terço médio ($0,764 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) e da base ($0,758 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$), foram

verificados aos 67 DAA (expansão rápida) nas plantas sob 48% de sombreamento (Figura 3B e 3C).

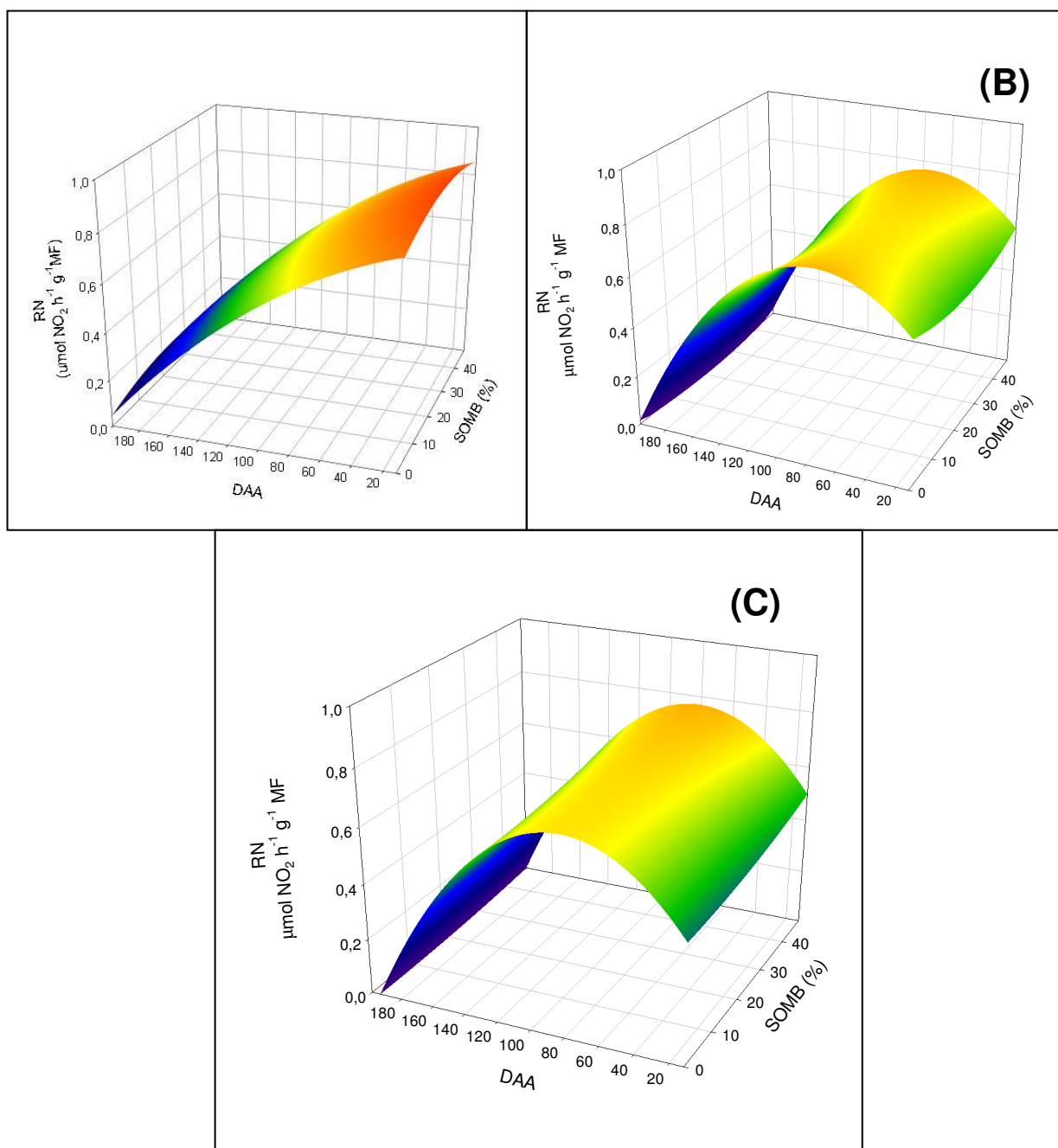


Figura 3 – Atividade da redutase do nitrato nas folhas do ápice (A), terço médio (B) e base (C) do cafeeiro em função dos dias após a antese (DAA) e do sombreamento (SOMB). Viçosa, MG. 2005-2006.

Variações nas condições ambientais também podem contribuir para mudanças na capacidade de assimilação do NO_3^- de plantas de café durante o ciclo anual. Conforme observado por Da Matta et al. (1999) e Amaral et al. (2001), a atividade da RN foliar apresentou variações sazonais relacionadas com o regime de chuva, e conseqüentemente com o conteúdo de água no solo, na qual os maiores valores de atividade da RN e provavelmente maior absorção de NO_3^- ocorreram durante as estações quente e úmida (Figuras 1, 3A, 3B e 3C), quando períodos de alta temperatura e demanda evaporativa também ocorreram. Tais condições podem ter aumentado o influxo de água, e conseqüentemente aumentado o influxo de NO_3^- para as folhas, que favoreceu a atividade da RN.

A maioria dos genótipos cultivados no Brasil, foram obtidos de linhagens genéticas desenvolvidas a pleno sol, mantendo alta condutância estomática e taxa transpiratória mesmo sob altos regimes de irradiância e temperatura, quando a disponibilidade de água não é limitante (Carelli et al., 1999; Fahl et al., 2001). Durante o período de desenvolvimento do fruto foram verificadas, freqüentemente, temperaturas máximas do ar acima de 25°C (Figura 1), no entanto observou-se atividade da RN em todos os períodos, mesmo nas plantas cultivadas a pleno sol, indicando tolerância do genótipo estudado aos regimes de alta irradiância e temperatura.

Por outro lado períodos com baixa temperatura do ar durante o ciclo anual de plantas de café parecem afetar a assimilação de nitrato foliar. Nos estádios finais de maturação, acredita-se que a absorção de NO_3^- diminuiu com o início do período frio e seco, e conseqüentemente houve uma redução na atividade da RN (Figura 3A, 3B e 3C). De acordo com Amaral et al. (2001) a atividade da RN foliar foi aparentemente nula nas estações fria (maio a setembro) enquanto a atividade da RN radicular foi sustentada pela suplementação de N durante o período frio.

Em todos estádios avaliados verificaram-se menores teores de NT e NORG nas plantas sob 16 e 32% de sombreamento (Figura 4A e 4B, Quadro 5). Maiores cargas de frutos podem promover maior remobilização e translocação de N das folhas para órgãos reprodutivos (Malavolta, 1980; Marschner, 1995). Porém, no presente experimento as plantas a 48% de sombreamento apresentaram maior produção de frutos (Quadro 6).

Assim como a atividade da RN (folhas do terço médio e base) (Figura 3B e 3C), os teores de NT e NORG (folhas do ápice), foram maiores na fase de expansão rápida do fruto (Figura 4A e 4B).

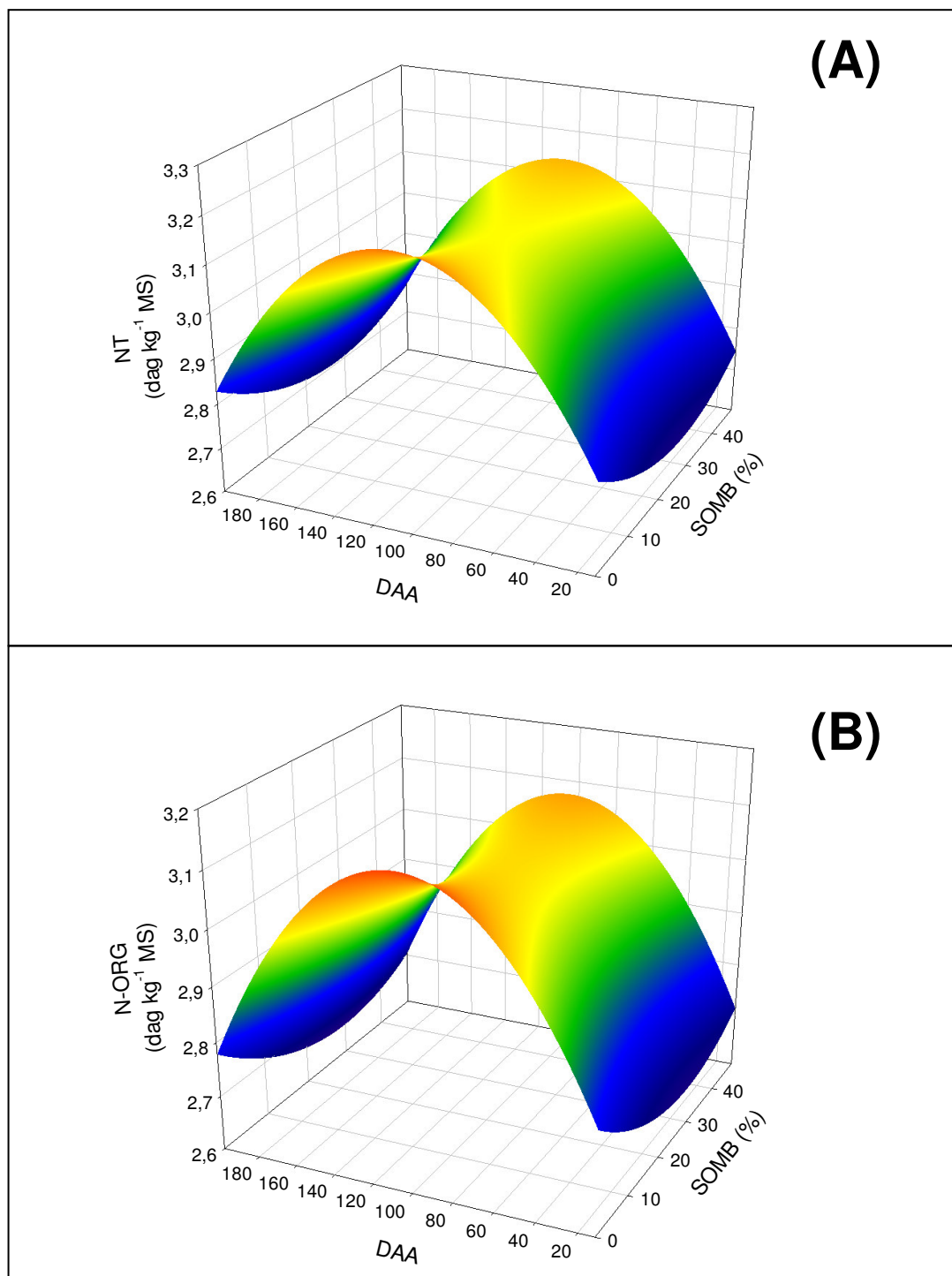


Figura 4 – Teor foliar de nitrogênio total (A) e orgânico (B) nas folhas do ápice do cafeeiro em função dos dias após a antese (DAA) e do sombreamento (SOMB). Viçosa, MG. 2005-2006.

QUADRO 6. Produção do cafeeiro, em função do sombreamento. Média de três repetições.

Somb	2005		2006		Média (sc/ha)
	gr/planta	Sc/ha	gr/planta	Sc/ha	
0%	2029,09	112,7	6,81	0,38	56,54
16%	1522,39	84,6	22,69	1,26	42,93
32%	1534,93	85,3	126,39	7,02	46,16
48%	1124,28	62,4	247,58	13,75	38,07

Fonte: Jaramillo-Botero (informação pessoal)

Acredita-se que a máxima translocação de N para os frutos (menor teor nas folhas) ocorreu no momento em que os frutos apresentaram máxima concentração de N. Observa-se que as máximas concentrações foliares de N foram atingidas no momento em que se acredita ser o pico de translocação de N para os frutos. Esta hipótese é reforçada considerando que no presente experimento os teores mais baixos de NT e NORG, foram verificados no estágio de chumbinho (Figura 4A e 4B). Neste estágio, o fruto do cafeeiro está sob intensa divisão celular, porém com pequeno crescimento e acúmulo de matéria seca (Rena et al., 2001).

Os altos valores de atividade da RN (Figura 3) coincidem com aumento do teor N nos frutos (Laviola, 2004). Antes de ser redistribuído a partir das folhas para outros órgãos, o N absorvido do solo na forma de NO_3^- tem que ser reduzido a NH_4^+ e incorporado em substâncias orgânicas.

Considerando que a absorção de NO_3^- é contínua, o aumento da concentração de N nas folhas ocorre quando a translocação para os frutos é baixa. Acredita-se que quando a atividade da RN aumenta, há também um aumento na translocação do N para os frutos e conseqüentemente ocorre uma redução na concentração de N nas folhas. Nos estágios finais de desenvolvimento dos frutos a matéria seca do fruto aumenta e pouco NO_3^- é incorporado, observando-se uma redução atividade da RN e nos teores de NORG nas folhas.

4.4. Teores de amido (AM), açúcar não redutor (ANR) e açúcar solúvel total (AST), em folhas de café, sob diferentes níveis de sombreamento e estágio fenológico.

Não foi encontrado ajuste significativo dos teores de açúcar redutor nas folhas.

O acúmulo máximo de carboidratos nas folhas, ocorreu no estágio de maturação dos frutos, sendo influenciado pelo sombreamento do cafeeiro (Figura 5A, 5B e 5C; Quadro 7). Os frutos no final do ciclo reprodutivo deixam, gradativamente, de serem drenos prioritários (Rena e Carvalho, 2003) e a taxa de crescimento vegetativo tende a decrescer (Amaral et al. 2001), conseqüentemente, a conversão do amido e o transporte de açúcares diminui, podendo elevar a concentração destes na fonte.

O teor de amido nas folhas, foi superior nas plantas a pleno sol, obviamente por terem apresentado menor produção de frutos e maior índice de radiação incidente do que as plantas sombreadas (Figura 5A, Quadro 6). Alguns autores associam a redução nos níveis de amido na planta com a formação de frutos: quanto mais intensa a frutificação, menor o teor de amido nos ramos e folhas (Wormer e Ebagole 1965, Patel 1970). Uma menor produção de frutos pode ter resultado em menor força de dreno (Taiz & Zeiger, 2004) e, com isto, ocorrendo balanço positivo de fotoassimilados nas folhas, que pode ser armazenado na forma de amido (Marenco e Lopes, 2005).

A concentração de AST e ANR, conforme ocorreu com o conteúdo de amido, foi menor no início do estágio de granação (Figura 5A, 5B e 5C). É provável que a maior parte do açúcar sintetizado neste período tenha sido mobilizado para o crescimento vegetativo, assim como, para a frutificação. Segundo Priestley (1962), as conversões de amido para açúcar ocorrem em ocasiões de crescimento vegetativo intenso, quando as reservas são usadas para suportar a atividade meristemática de ápices caulinares e também o crescimento de frutos.

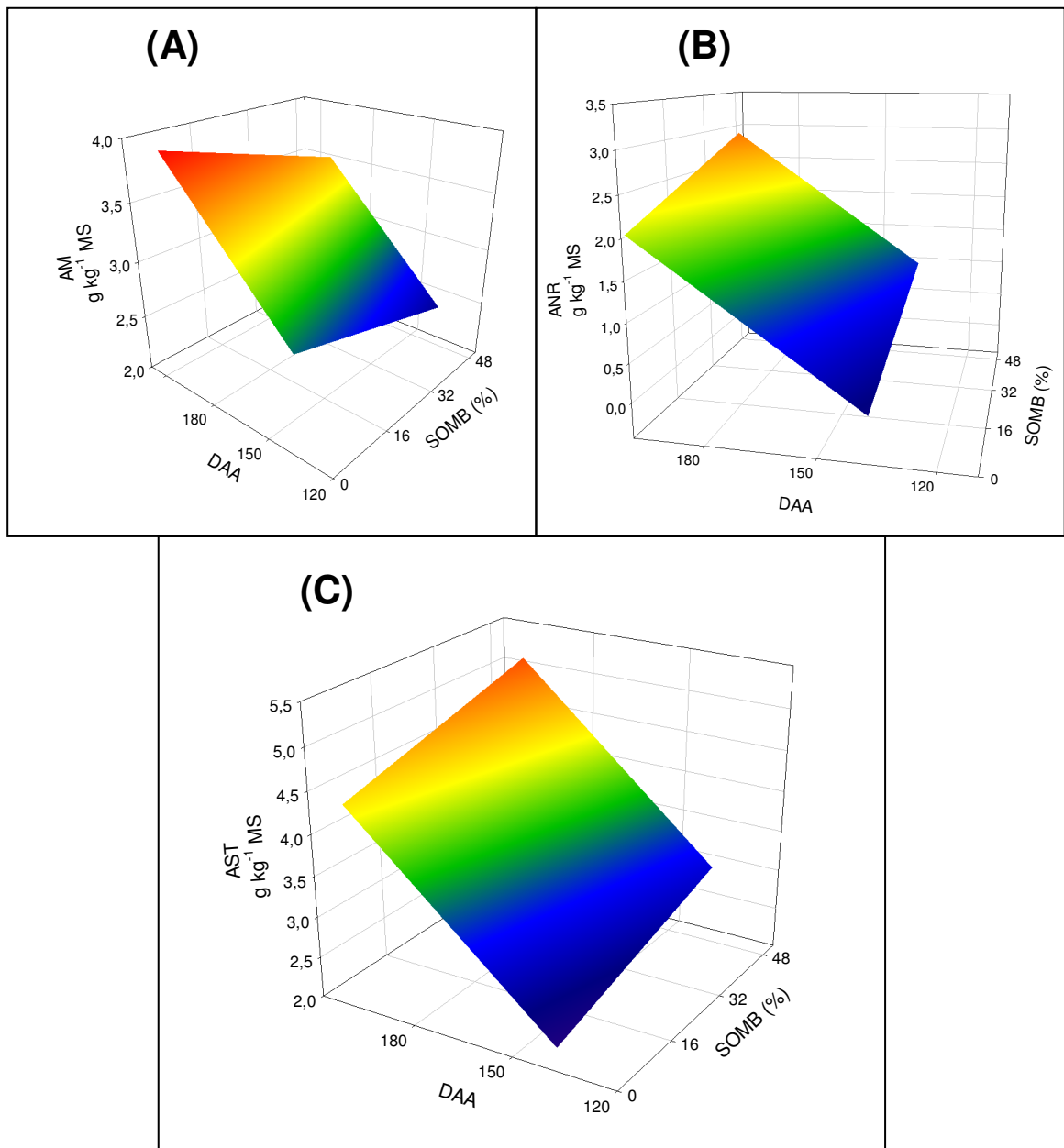


Figura 5 – Teores de Amido (A), ANR (B) e AST (C) em folhas do terço médio do cafeeiro em função do sombreamento e dos dias após a antese.

QUADRO 7. Equações de regressão referente aos níveis de amido (AM), açúcar solúvel total (AST) e açúcar não redutor (ANR) em folhas de café (terço médio) em função dos dias após antese (daa) e do sombreamento (somb).

Variável	Equação de Regressão	R ²
AM	$\hat{Y} = 0,3463 - 0,0097 \text{ somb}^* + 0,1829 \text{ daa}^{**}$	0,536
AST	$\hat{Y} = -0,2484 + 0,0144 \text{ somb}^* + 0,0348 \text{ daa}^{**}$	0,876
ANR	$\hat{Y} = -0,4080 + 0,0176 \text{ somb}^* + 0,03077 \text{ daa}^{**}$	0,692

** e *, significativos a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

Independentemente da época analisada, os níveis de AST e ANR foram superiores nas plantas sob 48% de sombreamento (Figura 5B e 5C). Parece improvável que a redução nos níveis de açúcares nas folhas de plantas com maior intensidade luminosa, esteja relacionada apenas à formação dos frutos, uma vez que as plantas sombreadas a 48% apresentaram maior produção de frutos (Quadro 6). O cafeeiro vegeta espontaneamente em ambiente sombreado e produz poucos frutos, apenas em número suficiente para garantir a perpetuação da espécie (Sylvain, 1955), não havendo, assim, restrição ao crescimento vegetativo. Apesar da produção ser maior nas plantas a 48% de sombreamento, esta foi baixa (Quadro 6), considerando o potencial produtivo da espécie. Acredita-se que as plantas a pleno sol usaram energia produzida pela quebra dos açúcares na formação de novos ramos e folhas, visto que estas plantas apresentaram alta produção (Quadro 6) e depauperamento no ano anterior (2005), e superior à das plantas sombreadas.

A redução do NO_3^- em tecidos vegetais é reconhecidamente um processo que demanda muita energia metabólica. Ao se analisarem conjuntamente os resultados das Figuras 3B, 5B e 5C, observa-se uma relação inversa entre a atividade da RN e os níveis de açúcares. Todo o processo de

redução e assimilação do NO_3^- necessita de energia, poder redutor e esqueletos de carbono. Como a RN está localizada no citoplasma, a fonte primária de poder redutor para a formação de NADH seria proveniente da degradação de açúcares (Beevers e Hageman, 1969). Os carboidratos são importantes também na ativação da enzima RN, pois estimulam a fosfatase que desfosforila vários resíduos de serina da proteína RN (Taiz e Zeiger, 2004).

A energia produzida pela quebra de açúcares pode estar sendo utilizada, em parte, para o processo de assimilação do N. Porém, o ponto máximo de acúmulo de açúcares coincidiu com o ponto de mínima atividade da RN e máximo teor de NO_3^- (Figura 2A, 3B, 5B e 5C). Estes resultados corroboram os obtidos por Carelli et al. (1990), no qual o comportamento também não foi devidamente explicado.

CONCLUSÕES

- Em geral, o ápice do cafeeiro apresentou os menores teores de NO_3^- na fase de granação e maturação do fruto;
- Os teores de NO_3^- em folhas de café foram maiores nas plantas a 48% de sombreamento, no estágio de maturação do fruto;
- Ao longo do desenvolvimento do fruto, independentemente do sombreamento estudado, a ARN foi menor no estágio de maturação do fruto.
- Os teores NORG e NT, nas folhas do ápice, foram maiores no estágio de expansão rápida do fruto;
- Os teores de carboidratos em folhas de cafeeiro aumentaram com o desenvolvimento do fruto, cujo teor de amido foi maior nas plantas a pleno sol, e os teores de ANR e AST foram maiores nas plantas a 48% de sombreamento;
- Os resultados sugerem que o sombreamento influencia não só a fotossíntese, mas também o metabolismo do nitrogênio. Assim sendo, espera-se diferentes respostas ao sombreamento em diferentes disponibilidades de nitrogênio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES J.D., CORDEIRO A.T., RENA A.B. Relações entre fotossíntese, resistência difusiva e variação circadiana da redutase do nitrato em *Coffea arabica* L. In: **Anais** do 12º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Caxambu, Brasil, p.142-145, 1985.

AMARAL J.A.T., DA MATTA F.M., RENA A.B. Effects of fruiting on the growth of arabica coffee trees as related to carbohydrate and nitrogen status and to nitrate reductase activity. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v.13, p.66-74, 2001.

ANDRADE NETTO J.F. **Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Dissertação (Mestrado em Agronomia), 2005.

BACHMANN, M.; McMICHAEL, R.N.; HUBER, J.L. et al. Partial purification and characterization of a calcium – dependent protein kinase and an inhibitor protein required for the activation of spinach leaf nitrate reductase. **Plant Physiology**, v.108, p. 1083-1091, 1995.

BARROS R.S.; MAESTRI M.; MOREIRA R.C. Sources of assimilates for expanding flower buds of coffee. **Turrialba**. v.32, p. 371-377, 1982.

CAMARGO, A.P. & CAMARGO, M.B.P. de. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 60(1), p. 65-68, 2001.

CAMPBELL, W.H. Nitrate reductase structure function and regulation on bridging to gap between biochemistry and physiology. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v.50, p.277-303, 1999.

CANNELL M.G.R. Crop physiological aspects of coffee bean yield: a review. **Journal of Coffee Reserach**. v.5, p.7-20, 1975.

CANNELL M.G.R. Crop physiological aspects of coffee bean yield: a review. **Kenya Coffee**. v. 41, p. 245-253, 1976.

CANNELL M.G.R. Physiology of coffee crop. In: Clifford MN, Wilson KC (eds), *Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage*, pp.109-134. **Croom Helm**, New York, U.S.A, 1985.

CANNELL M.G.R., KIMEU B.S. Uptake and distribution of macro-nutrients in trees of *Coffea arabica* L. in Kenya as affected by seasonal climatic differences and the presence of fruits. **Annual Applied Biology**. v.68, p.213-230, 1971.

CARELLI, M.L.C. **Estudo do processo de redução de nitrato durante o desenvolvimento inicial e no estágio reprodutivo de plantas de café (*Coffea arabica* L.)**. Campinas, Universidade Estadual de Campinas. (Tese de Doutorado), 111p, 1987.

CARELLI M.L.C., FAHL J.I., MAGALHÃES A.C. Assimilação de nitrato durante o desenvolvimento reprodutivo de plantas de café. **Revista Brasileira de Ciência Solo**. v.13, p. 59-64, 1989.

CARELLI M.L.C., FAHL J.I., MAGALHÃES A.C. Redução de nitrato em plantas jovens de café cultivadas em diferentes níveis de luz e de nitrogênio. **Bragantia** v.50, p.27-37, 1990.

CARELLI M.L.C.; FAHL J.I.; TRIVELLIN P.C.O.; QUEIROZ-VOLTAN R.B. Carbon isotope discrimination and gas exchange in *Coffea* species grown under different irradiances regimes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v.11, p.63-68, 1999.

CARELLI M.L.C., FAHL J.I., RAMALHO J.D.C. Aspects of nitrogen metabolism in coffee plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v.18(1), p. 9-21, 2006.

CARVAJAL J.F., ACEVEDO A., LOPEZ C.A. Nutrient uptake by the coffee tree during a yearly cycle. **Turrialba**. v.19, p.13-20, 1969.

CASTILLO, Z.J.; LÓPEZ, A.R. Nota sobre el efecto de la intensidad de la luz en la floración del café. **Cenicafé**. v. 17, p.51-60, 1966.

CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHARDER, M; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitrification of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, n. 1, p. 71-81, 1975.

CLAUSSEN, W. Influence of fruit load and environmental factors on nitrate reductase activity and concentration of nitrate and carbohydrates in leaves of eggplant. (*Solanum melongena*) **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.67, n.1, p.73-80, 1986.

CONAB. **Safra – 2005/2006 final**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/download/safracafe.pdf>>. Acesso em 09 de janeiro de 2007.

CORDEIRO A.T., RENA A.B., MENDES L.F., ALVES J.D., Pereira A.A. Atividade da redutase do nitrato em plantas jovens e adultas de *Coffea arabica* L., à luz e na obscuridade. In: **Annals of the 11° Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Londrina, Brasil, pp.77-79, 1984.

CROCOMO, O.J. Assimilação do nitrogênio pelas plantas. In: FERRI, M.G. (Ed.). **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: EPU, p. 181-209, 1985.

DA MATTA F.M. Fisiologia do cafeeiro em sistemas arborizados. In: MATSUMOTO, S. N. (Org.). **Arborização de Cafezais no Brasil**. Vitória da Conquista: Edições Uesb, p. 85-119, 2004.

DA MATTA F.M., AMARAL J.A.T., RENA A.B. Growth periodicity in trees of *Coffea arabica* L. in relation to nitrogen supply and nitrate reductase activity. **Field Crops Research**. v.60, p. 223-229, 1999.

DAMATTA F.M.; RENA, A.B. Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. In. Zambolim, O estado da arte de tecnologias na produção de café. Viçosa: UFV, Departamento de Fitopatologia. p.93-135, 2002.

FAHL J.I., CARELLI M.L.C., VEGA J., MAGALHÃES A.C. Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica* L.). **Journal of Horticultural Science**. v.69, p.161-169, 1994.

FAHL, J.L.; CARELLI, M.L.C. Influência do sombreamento nas características fisiológicas envolvidas no crescimento de espécies de coffeea. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAFÉ ADENSADO, Londrina, 1994. **Anais**. Londrina: IAPAR. p. 289-290, 1994.

FALEIROS R.R.S., MELO W.J., CARVALHO F., MIRANDA NETO A.T. Atividade da nitrato redutase e desenvolvimento de mudas de *Coffea arabica* L. (café). **Científica**. v. 3, p.277-283, 1975.

FREITAS, R.B.; OLIVEIRA, L.E.M.; DELÚ FILHO, N.; SOARES, A.M. Influência de diferentes níveis de sombreamento no comportamento fisiológico de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência Agrotécnica**., v.27, n.4, p. 804-810, 2003.

GUERRERO, M.G.; VEJA, J.M.; LOSADA, M. The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation. **Annual Review of Plant Physiology**, v.32, p.169-204, 1981.

GUTIÉRREZ, M.V.; MEINZER, F.C.; GRANTZ, D.A. Regulation of transpiration in coffee hedgerows: Covariation of environmental variables and apparent responses of stomata to wind and humidity. **Plant, Cell & Environment**, v. 17, p. 1305-1313, 1994.

HEWITT, E. J.; HUCKLESBY, D.P.; NORTON, B.A. Nitrate metabolism. In: BONNER, J.; VARNER, J.E., (Ed.). **Plant Biochemistry**. New York: Academic Press, v.20, p. 633-681, 1976.

HIPKIN, C.R.; AL CHARBI, A.; ROBERTSON, K.P. Studies on nitrate reductase in British angiosperm. II- variation in nitrate reductase activity in natural populations. **New Phytologist**, v.97, p. 641-651, 1984.

HSIAO, T.C. Plant responses to water deficits, efficiency, and drought resistance. **Agricultural Meteorology**, v.14, p. 59-84, 1979.

HUBER, S.C.; BACHMAN, M.; HUBER, J.L. Post-translational regulation of nitrate reductase activity: a role for Ca^{2+} and 14-3-3 proteins. **Trends in Plant Science**, v.1, p. 432-438, 1996.

JARAMILLO-BOTERO, C. **Avaliação do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo de cafeeiros sob níveis de sombreamento e adubação**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), 2003.

JACKSON, M. L. Nitrogen determinations for soil and plant tissue. In: JACKSON, M. L. (ed.). **Soil chemical analyses**. Englewood Cliffs: Prentice. p.183-204, 1958.

KAISER, W. M.; HUBER, S.C. Post-translation regulation of nitrate reductase: mechanism, physiology relevance and environmental triggers. **Journal of Experimental Botany**, v.52, n.363, p. 1981-1989, 2001.

KUMAR D., TIESZEN L.L. Photosynthesis in *Coffea arabica*. I. Effects of light and temperature. **Experimental Agriculture**. v.16, p.13-19, 1980.

- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 531p., 2004
- LAVIOLA, B.G. **Dinâmica de macronutrientes em folhas, flores e frutos de cafeeiro arábico em três níveis de adubação**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), 2004.
- LEWIS. O.A.M.; WATSON, E.F.; HEWITT, E. J. determination of nitrate reductase activity in barley leaves and roots. **Annals of Botany**, v.49, p.31-37, 1982.
- LILLO C. Light regulation of nitrate reductase in greenleaves of higher plants: Minireview. **Physiology Plant**. v.90, p.616-620, 1994.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ed. Agronômicas Ceres, 251p. 1980.
- MAESTRI, M.; BARROS, R.S.; RENA, A.B. Coffee. In: ALVIM, P.T.; KOZLOWSKI, T.T. (Eds.). **Ecophysiology of tropical crops**. New York: Academic Press. p. 249-278, 1977.
- MAESTRI, M.; BARROS, R.S.; RENA, A.B. Coffee. In: LAST, F.T. (Ed.). **Tree crop ecosystems**. Amsterdam: Elsevier, p. 339-360, 2001.
- MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa: UFV, 451p., 2005.
- MARTINEZ, H. E.P.; CARVALHO. J.G.; SOUZA, R.B. In: Ribeiro, A.C.; Guimarães, P.T.G.; Alvarez V., V.H. (Eds.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 5ª Aproximação**. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais – CFSEMG. Viçosa, 1999. p. 144-168.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2^a ed. New York: Academic Press., 889p., 1995.

MELO, J.T.; GUIMARÃES, D. P. A cultura do café em sistemas consorciados na região do Cerrado. In: **Resumos expandidos do I Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil**. Poços de Caldas-MG. Ed. Embrapa. p. 963-966, 2000.

MCCREADY, R.M.; GUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V.; OWENS, H.S. Determination of starch and amylose in vegetables: applications to peas. **Analytical Chemistry**. n. 22 p.1156-1158, 1950.

MORAIS, H.; MARUR, C. J.; CARAMORI, P. H.; RIBEIRO, A. M. A.; GOMES, J. C. Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guandu e a pleno sol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1131-1137, 2003.

NELSON, N.A. A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**. n.153, p.375-380, 1944.

NETO, E.G.G.; MAGALHÃES, M.M.; LIVRAMENTO, D.E.; ALVES, J.D.; BARTHOLO, G.F.; CARVALHO, G.R.; FRIES, D.D.; LIMA, A.A.; MELO, E.F.; SILVEIRA, N.M.; HENRIQUE, P.C. Teores de carboidratos em folhas de diferentes genótipos de cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 32., 2006, Poços de Caldas, MG. **Anais...Rios de Janeiro: PROCAFÉ**. p.279, 2006.

NUNES, M.A. Environmental effects of stomatal and mesophyll regulation of photosynthesis in coffee leaves. **Photosynthetica**, v. 22, p. 547-553, 1988.

PATEL R.Z. A note on the seasonal variations in starch content of different parts of arabica coffee trees. **East. Afr. Agric. For. J.** n.36, p. 1-4, 1970.

PRIESTLEY, C.A. **Carbohydrate resources within the perennial plant**. Commonwealth Agricultural Bureaux, England. 1962, 116p.

PROVAN, F.; LILLO, C. Phostosynthetic post translation activation of nitrate reductase. **Journal of Plant Physiology**, v. 154, p. 605-609, 1999.

RAMALHO J.C., PONS T.L., GROENEVELD H.W., NUNES M.A. Photosynthetic responses of *Coffea arabica* leaves to a short-term high light exposure in relation to N availability. **Physiologia Plantarum**. v.101, p.229-239, 1997.

RAMALHO J.C., CAMPOS P.S., TEIXEIRA M., NUNES M.A. Nitrogen dependent changes in antioxidant systems and in fatty acid composition of chloroplast membranes from *Coffea arabica* L. plants submitted to high irradiance. **Plant Science**. v.135, p.115-124, 1998.

RAMALHO J.C.; CAMPOS P.S.; QUARTIN V.L.; SILVA M.J.; NUNES M.A. High irradiance impairments on photosynthetic electron transport, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxigenase and N assimilation as a function of N availability in *Coffea arabica* L. plants. **Journal Plant Physiology**. v.154, p. 319-326, 1999.

RAMALHO J.C., PONS T.L., GROENEVELD H.W., AZINHEIRA H.G., NUNES, M.A. Photosynthetic acclimation of high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. **Australian Journal Plant Physiology**. v. 27, p.43-51, 2000.

RENA, A.B. & CARVALHO, C.H.S. Causas abióticas da seca de ramos e morte de raízes em café. In: ZAMBOLIN, L. **Produção integrada de café**. Viçosa: DPF, UFV, p.197-222, 2003.

RENA, A.B.; BARROS, R.S.; MAESTRI, M. Desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. In: ZAMBOLIM L. **Tecnologias de produção de café com qualidade**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitopatologia, p.101-128, 2001.

REIS, A. R.; FURLANI JUNIOR, E.; BENKER, F. M.; PERSEGIL, S.F. Atividade da Enzima Redutase do Nitrato de cafeeiros em produção cultivado em diferentes níveis e sistemas de aplicação de nitrogênio. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4. 2005, Londrina, **Anais...** Brasília: Embrapa Café, 2005. CD-ROM.

ROTH, R.; HALL, L.N.; BRUTNELL, T. P. Bundle sheath defective2, a mutation that disrupts the coordinated development of bundle sheath and mesophyll cells in maize leaf. **The Plant Cell**, v. 8, p. 915-927, 1996.

SAGI, M. e LIPS, H. S. The levels of nitrate reductase and MoCo in annual ryegrass na affected by nitrate and ammonium nutrition. **Plant Science**, v. 135, p. 17-24, 1998.

SHANKAR, N. e SRIVASTAVA, H. S. Effect of glutamine supply on nitrate reductase isoforms in maize seedlings. **Phytochemistry**, v. 47, p. 701-706, 1998.

SOMOGY, M. Notes of sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**. n. 95, p.19-23, 1952.

SYLVAIN PG. Some observations on *Coffea arabica* L in Ethiopia. **Turrialba**, v.5, p.37-53, 1955.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 719p., 2004.

TALEISNIK E., BRICEÑO J.A., CARVAJAL J.F. Variación estacional de la reductase de nitrato em el cafeto. **Turrialba**, v.30, p.330-337, 1980.

TESHDA, A. J.; KUMAR, D. Some aspects of stomatal behaviour in *Coffea arabica* L. I. Effects of soil moisture, soil nitrogen and potassium, and air humidity. **Kenya Coffee**, Nairobi, v. 43, p. 339-343, 1978.

WORMER T.M., EBAGOLE H.E. Visual scoring of starch in *Coffea arabica* L. II. Starch in bearing and non-bearing branches. **Experimental Agriculture**, n. 1, p. 41-53, 1965.

APÊNDICE

Quadro 1A – Quadrados médios referente aos teores de NO_3^- , ARN, NO e NT em folhas de café em três posições da planta, em seis períodos de desenvolvimento do fruto, sob quatro níveis de sombreamento.

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		NO_3	ARN	NO	NT
BLOCO	2	0,00969	0,08149	0,05086	0,09196
SOMBREAMENTO	3	0,00619 ^{ns}	0,05860**	0,13323 ^{ns}	0,11837 ^{ns}
ERRO A	6	0,00275	0,00477	0,02979	0,02534
POSIÇÃO	2	0,02250 ^{ns}	0,06899 ^{ns}	0,12571 ^{ns}	0,04210 ^{ns}
ERRO B	4	0,00551	0,01223	0,15852	0,17126
POSI/SOMB	6	0,00209*	0,09116**	0,03361 ^{ns}	0,04475 ^{ns}
ERRO C	12	0,00066	0,00685	0,02546	0,02435
ÉPOCA	5	0,03613**	5,16851**	0,21547*	0,21998*
ERRO D	10	0,00318	0,01884	0,05555	0,05882
ÉPOCA/SOMB	15	0,00153*	0,07340**	0,04041 ^{ns}	0,04261 ^{ns}
ÉPOCA/POSI	10	0,00571**	0,24114**	0,13463**	0,14548**
ÉPOCA/POSI/SOMB	30	0,00057 ^{ns}	0,05397**	0,04474 ^{ns}	0,04713 ^{ns}
ERRO E	110	0,00081	0,00842	0,05317	0,05433
CV		53,60	19,64	8,02	7,96

** e*, significativos 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

Quadro 2A - Quadrados médios referente ao desdobramento da interação, para concentração de NO_3^- , ARN, NO e NT em folhas de café.

F.V	G.L	QUADRADOS MÉDIOS			
		NO_3	ARN	NO	NT
SOMB	3	0.006196	0.058603	0.133237	0.118376
ÉPOCA / SOMB 1	5	0.005055**	1.483453**	0.095888 ^{ns}	0.100439 ^{ns}
ÉPOCA / SOMB 2	5	0.009847**	1.435325**	0.108519 ^{ns}	0.100737 ^{ns}
ÉPOCA / SOMB 3	5	0.011151**	1.161232**	0.071719 ^{ns}	0.073791 ^{ns}
ÉPOCA / SOMB 4	5	0.014689**	1.308706**	0.060598 ^{ns}	0.072867 ^{ns}
POS / SOMB 1 em E1	2	0.00232 ^{ns}	0.089284**	0.020275 ^{ns}	0.013239 ^{ns}
POS / SOMB 2 em E1	2	2.33E-06 ^{ns}	1.481137**	0.151104 ^{ns}	0.150637 ^{ns}
POS / SOMB 3 em E1	2	2.63E-05 ^{ns}	0.043627**	0.115659 ^{ns}	0.119124 ^{ns}
POS / SOMB 4 em E1	2	1.41E-05 ^{ns}	0.120737**	0.003436 ^{ns}	0.003706 ^{ns}
POS / SOMB 1 em E2	2	3.34E-05 ^{ns}	0.026747*	0.126858 ^{ns}	0.130728 ^{ns}
POS / SOMB 2 em E2	2	9.7E-05 ^{ns}	0.014397 ^{ns}	0.026508 ^{ns}	0.029494 ^{ns}
POS / SOMB 3 em E2	2	0.000149 ^{ns}	0.06326**	0.287904 ^{ns}	0.284262 ^{ns}
POS / SOMB 4 em E2	2	0.00014 ^{ns}	0.053098**	0.023969 ^{ns}	0.027762 ^{ns}
POS / SOMB 1 em E3	2	0.000851 ^{ns}	0.067065**	0.052653 ^{ns}	0.040235 ^{ns}
POS / SOMB 2 em E3	2	0.000645 ^{ns}	0.015103 ^{ns}	0.138425 ^{ns}	0.120706 ^{ns}
POS / SOMB 3 em E3	2	0.001035 ^{ns}	0.062862**	0.112128 ^{ns}	0.092647 ^{ns}
POS / SOMB 4 em E3	2	0.000262 ^{ns}	0.108082**	0.082918 ^{ns}	0.077824 ^{ns}
POS / SOMB 1 em E4	2	0.002107 ^{ns}	0.009965 ^{ns}	0.115627 ^{ns}	0.114971 ^{ns}
POS / SOMB 2 em E4	2	0.00349**	0.032572*	0.00266 ^{ns}	0.004768 ^{ns}
POS / SOMB 3 em E4	2	0.000409 ^{ns}	0.047803**	0.090456 ^{ns}	0.091059 ^{ns}
POS / SOMB 4 em E4	2	0.002654**	0.076996**	0.085827 ^{ns}	0.067236 ^{ns}
POS / SOMB 1 em E5	2	0.005964**	0.000171 ^{ns}	0.000776 ^{ns}	0.010059 ^{ns}
POS / SOMB 2 em E5	2	0.006059**	0.002936 ^{ns}	0.023554 ^{ns}	0.046116 ^{ns}
POS / SOMB 3 em E5	2	0.012355**	0.007689 ^{ns}	0.002432 ^{ns}	0.022765 ^{ns}
POS / SOMB 4 em E5	2	0.014209**	0.006447 ^{ns}	0.000753 ^{ns}	0.010059 ^{ns}
POS / SOMB 1 em E6	2	0.001573 ^{ns}	0.006949 ^{ns}	0.027005 ^{ns}	0.035471 ^{ns}
POS / SOMB 2 em E6	2	0.002222 ^{ns}	0.014835 ^{ns}	0.041006 ^{ns}	0.048538 ^{ns}
POS / SOMB 3 em E6	2	0.005084**	0.000949 ^{ns}	0.009835 ^{ns}	0.02753 ^{ns}
POS / SOMB 4 em E6	2	0.004195**	0.005098 ^{ns}	0.029076 ^{ns}	0.041824 ^{ns}

** e*, significativos 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

Quadro 3A – Quadrados médios referente aos teores de AM, AST, AR e ANR em folhas de café (terço médio) em três períodos de desenvolvimento do fruto, sob quatro níveis de sombreamento.

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		AMIDO	AST	AR	ANR
BLOCO	2	2,4466	1,6405	0,4293	0,3913
SOMBREAMENTO	3	0,6556 ^{ns}	0,8478 ^{ns}	0,08633 ^{ns}	1,3771 ^{ns}
ERRO A	6	3,1943	1,0852	0,2851	1,0467
ÉPOCA	2	6,7653**	14,2751**	0,3013 ^{ns}	10,9637**
ÉPOCA/SOMB	6	0,1510 ^{ns}	0,5975 ^{ns}	0,4583 ^{ns}	1,7877 ^{ns}
ERRO B	16	1,0947	0,9463	0,3250	1,0963
CV		32,774	26,111	25,905	68,670

** e*, significativos 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.