

**YESID ALEJANDRO MARIÑO MACANA**

**EFEITOS DA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA E DE LUZ NO METABOLISMO  
FOTOSSINTÉTICO EM *Coffea arabica***

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  
2012

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

T

M341e  
2012

Mariño Macana, Yesid Alejandro, 1983-

Efeitos da disponibilidade de água e de luz no metabolismo fotossintético em *Coffea arabica* / Yesid Alejandro Mariño Macana. – Viçosa, MG, 2012.  
viii, 36f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 31-36.

1. Café - Fisiologia. 2. Fotossíntese. 3. Café - Efeito do stress. 4. Metabolismo. 5. Café - Sombreamento.

6. *Coffea arabica*. 7. Café - Relações hídricas.

I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 633.73

**YESID ALEJANDRO MARIÑO MACANA**

**EFEITOS DA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA E DE LUZ NO METABOLISMO  
FOTOSSINTÉTICO EM *Coffea arabica***

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: 30 de março de 2012.

---

Paulo Cezar Cavatte

---

Wagner Luiz Araújo

---

Fábio Murilo DaMatta  
(Orientador)

*A meus pais, Bertha e Polo*  
*A meus tios, primos e amigos*  
*Ofereço*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Departamento de Biologia Vegetal e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, por todo suporte, auxílio e, também, pela oportunidade.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Fábio DaMatta, pela oportunidade, incentivo, amizade, orientação e competência exemplar.

Aos Professores Raimundo Barros, Marco Aurélio Pedron, Juraci Oliveira, José Cambraia, Sílvio Nolasco, Miroslava, Marília Ventrella e Edgard Picolli, por ser parte de minha formação no mestrado.

A Sabrina, pelo seu amor e carinho.

Aos integrantes e amigos do grupo café: Paulo César, Kelly, Nélon, Paulo Eduardo, Leandro, Gustavo, Mariela, Alyne, Alice, Lilian, Eduardo Medina, Josimar, Lucas, Rodrigo e Marco Antônio.

A todos os funcionários dos laboratórios que deram apoio para realização das atividades no laboratório e campo.

A todos aqueles que contribuíram para realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	4
3. RESULTADOS	11
4. DISCUSSÃO	25
5. CONCLUSÃO	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

$A$  = Taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$

$AD$  = Água disponível

$AF$  = Área foliar

$AFE$  = Área foliar específica

$BSA$  = Albumina de soro bovino

$Car$  = Carotenóides totais

$CC$  = Capacidade de campo

$Chl$  = Clorofila

$C_i$  = Concentração intercelular de  $\text{CO}_2$

$DH$  = Déficit hídrico

$DRO$  = Diâmetro do ramo ortotrópico

$DTT$  = Ditiotreitól

$E$  = Transpiração

$EA$  = Estado de ativação

$F_0$  = Fluorescência inicial

$F_m$  = Fluorescência máxima

$FSII$  = Fotossistema II

$F_v$  = Fluorescência variável

$F_v/F_m$  = Eficiência fotoquímica máxima do  $FSII$

$F_v/F_0$  = Razão da fluorescência variável e inicial

$F_v'/F_m'$  = Eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do  $FSII$

$g_s$  = Condutância estomática

$K_L$  = Condutância hidráulica foliar

$NPQ$  = Coeficiente de extinção não-fotoquímico

$NTF$  = Número total de folhas

$PGI$  = Fosfoglicose-isomerase

$PMP$  = Ponto de murcha permanente

$PMSF$  = Fenilmetilsulfonil fluoreto

PVPP = Polivinilpolipirrolidona

$q_L$  = Coeficiente de extinção fotoquímico

RFA = Radiação fotossinteticamente ativa

$T_f$  = Temperatura foliar

TTE = Taxa de transporte de elétrons

$V_{\text{cmáx}}$  = Velocidade máxima de carboxilação

Y(II) = Rendimento do FSII

Y(NO) = Rendimento da dissipação constitutiva de energia e da própria fluorescência

Y(NPQ) = Rendimento da dissipação regulada de energia associada ao ciclo das xantofilas

$\Psi_{\text{am}}$  = Potencial hídrico na antemanhã

$\Psi_{\text{md}}$  = Potencial hídrico ao meio-dia

$\delta_e$  = Déficit de pressão de vapor



## RESUMO

MARIÑO, Yesid Alejandro Macana, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2012. **Efeitos da disponibilidade de água e de luz no metabolismo fotossintético em *Coffea arabica*.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta

O presente estudo foi conduzido procurando-se analisar os efeitos da disponibilidade de luz e da água no desempenho fotossintético, nas relações hídricas e no metabolismo do carbono em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho IAC 44' cultivadas sob condições contrastantes de luz (pleno sol e sombra) e de disponibilidade de água no solo (35 e 100 % de água disponível), durante o inverno. Acredita-se que o sombreamento permitiria uma melhor aclimatação do cafeeiro face às condições de inverno na Zona da Mata mineira, onde as temperaturas noturnas são baixas e os dias ensolarados. As plantas cultivadas ao sol apresentaram maior altura, área foliar, número de folhas e diâmetro do ramo ortotrópico em relação àquelas sombreadas, embora a taxa fotossintética ( $A$ ), a concentração de pigmentos e a área foliar específica tenham sido maiores nas plantas à sombra. Verificaram-se, ainda, limitações fotoquímicas (redução na razão entre as fluorescências variável e inicial) e bioquímicas (redução das atividades da rubisco, da sintase de sacarose-fosfato e da pirofosforilase da ADP-glicose, e maior razão amido-sacarose) à fotossíntese. Por sua vez, o déficit hídrico (DH), nos dois ambientes lumínicos, acarretou decréscimos em  $A$ , sendo a diferença entre as plantas de sol e de sombra de 75 e de 55%, respectivamente. Estas mudanças foram acompanhadas por reduções na condutância estomática, na taxa de transpiração e na condutância hidráulica, enquanto os níveis de glicose, frutose, sacarose e aminoácidos foram aumentados. Não houve variações significativas na eficiência quântica do transporte de elétrons do fotossistema II (FSII), no rendimento quântico não fotoquímico, no rendimento quântico da dissipação não regulada de energia, na capacidade fotoquímica do FSII e na taxa de transporte de elétrons sob DH, nos dois ambientes lumínicos. Enzimas-chave envolvidas no metabolismo do carbono, como a cinase da frutose-6-fosfato dependente de ATP e a fosfatase da frutose-1-6-bisfosfato também não variaram significativamente, enquanto as atividades das invertases ácida e alcalina aumentaram, em resposta ao DH, independentemente dos ambientes lumínicos.

## ABSTRACT

MARIÑO, Yesid Alejandro Macana, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2012. **The effects of water and light availability on the photosynthetic metabolism in *Coffea arabica***  
Adviser: Fábio Murilo DaMatta.

This study aimed to explore the effects of water and light availability on photosynthesis, water relations and carbon metabolism in *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho IAC 44' plants subjected to a combination of contrasting light (shade and full sun) conditions combined with two levels of available soil water (drought and field capacity, here defined as 30% and 100% available soil water, respectively), under winter conditions. It was hypothesized that shading would allow a better acclimation of coffee plants in response to winter conditions in southeastern Brazil, where the nights are relatively cool followed by sunny, warm days. Compared to shade grown plants, sun-grown plants were taller with larger leaf area and stem diameter. In contrast, sun-grown individuals showed lower photosynthetic rate ( $A$ ), chlorophyll levels and specific leaf area. The decrease in the variable-to-initial chlorophyll fluorescence ratio suggests that photochemical events played a role in limiting photosynthesis, whilst lower rubisco, sucrose-phosphate synthase and ADP-glucose pyrophosphorylase activities are indicative of biochemical limitations to the photosynthetic apparatus. Increased starch-to-sucrose ratio was also detected. Decreases in photosynthetic rates were found in droughted plants grown in both the shade (55%) and full sun (75%). These changes were accompanied by decreases in stomatal conductance, transpiration rate and hydraulic conductance, while the levels of glucose, fructose, sucrose and amino acids increased. There were no differences in the quantum efficiency of electron transport by photosystem II (PSII), non-photochemical quenching, non-regulated non-photochemical energy loss in PSII, photochemical quenching and electron transport rate under water deficit in sun and shade plants. Key enzymes associated with carbon metabolism, such as phosphofructokinase and fructose-1,6-bisphosphatase did not differ significantly in response to varying light and water availabilities.

## 1. INTRODUÇÃO

O café é considerado a principal mercadoria no mercado agrícola mundial, gerando, anualmente, mais de 90 bilhões de dólares (DaMatta *et al.*, 2007). Atualmente, a produção mundial de café é de aproximadamente 136 milhões de sacas (60 kg), sendo o Brasil, maior produtor mundial, responsável por 36% da produção mundial (USDA, 2011). Duas espécies, dentre mais de 100 do gênero *Coffea*, são comercialmente importantes: *C. arabica* L., que responde por 62% do café produzido, e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner, que responde pelo restante (Fassio e Silva, 2007).

Nativo das regiões da África, o café evoluiu como espécie de sub-bosque. Por essa razão, as primeiras plantações se estabeleceram sob sombreamento, para simular o habitat natural do cafeeiro (DaMatta *et al.*, 2007). Em muitas situações, no entanto, as plantações de café a plena exposição solar podem apresentar uma produtividade superior à daquelas sombreadas; como consequência, o sombreamento foi abandonado como uma prática cultural regular em muitas regiões no mundo, incluindo o sudeste do Brasil (DaMatta, 2004a; DaMatta e Ramalho, 2006; DaMatta e Rodriguez, 2007). Em todo o caso, tem-se observado um interesse na reimplantação do sombreamento em cafezais, particularmente em áreas marginais que apresentam grandes oscilações de temperaturas e ocorrência de déficit hídrico, porque o sombreamento está associado à conservação de recursos do ambiente, além de permitir menor uso de insumos para uma produção sustentável de café (DaMatta e Rena, 2002).

Em diversos países produtores de café, o déficit hídrico é considerado como a maior limitação ambiental à produção do cafeeiro. Em várias principais regiões cafeeiras, normalmente essa limitação está frequentemente associada com altas temperaturas diurnas e irradiâncias e baixa temperatura noturna (DaMatta, 2004b) e, portanto, a seca deve ser considerada como um estresse multidimensional. O efeito combinado dessas condições estressantes usualmente acarreta decréscimos da taxa de fotossíntese do cafeeiro, de modo que a intensidade da irradiância pode também exceder largamente àquela necessária para saturar a fotossíntese (DaMatta e Rena, 2002), o que pode resultar em fotoinibição da fotossíntese (Mohotti e Lawlor, 2002). O excesso de energia luminosa não utilizado para a fixação de CO<sub>2</sub>, no ciclo de Calvin,

deve ser dissipado, para evitar a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio potencialmente capazes de resultar em danos fotooxidativos (Pinheiro *et al.*, 2004). Em plantas adultas de *C. arabica*, Dias *et al.* (2007) encontraram aumentos na atividade da dismutase do superóxido (SOD) como um mecanismo importante de defesa contra o estresse oxidativo em folhas localizadas nos estratos superiores do dossel. Por outro lado, à sombra, a menor incidência de radiação solar tende a acarretar um menor déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera (DaMatta, 2004a), podendo minimizar os impactos negativos do déficit hídrico sobre a fotossíntese e a ocorrência de danos oxidativos (DaMatta e Rena, 2002; DaMatta, 2004a). Em todo o caso, Cavatte *et al.* (2012), recentemente, avaliaram uma gama de características morfológicas e fisiológicas, e sugeriram que os efeitos da interação luz  $\times$  água são independentes no cafeeiro. Essas informações sugerem que o uso do sombreamento, para aliviar os impactos da seca, na cultura do café, deve ser considerado com cautela.

Em café, estudos do metabolismo de carboidratos, em diferentes condições hídricas ou luminosas, são escassos. Em condições de verão, DaMatta *et al.* (1997) observaram, em *C. arabica* cv. ‘Catuaí Vermelho’, menor acúmulo de amido e um incremento na concentração de açúcares solúveis sob déficit hídrico severo. O decréscimo da taxa de fotossíntese nessas condições, provavelmente, foi acarretado por limitações não estomáticas. No entanto, Praxedes *et al.* (2006) não observaram alterações nos níveis de açúcares solúveis em três de quatro clones de *C. canephora* cv. ‘Conilon’ sob estresse hídrico severo, imposto lentamente, sugerindo que a exportação de assimilados foi reduzida pela menor demanda do dreno. Adicionalmente, aqueles autores encontraram um decréscimo na sintase da sacarose (SuSy) em paralelo à inibição na atividade da sintase da sacarose-fosfato (SPS). Ronchi (2005) observou, em plantas de *C. canephora*, cultivadas em vasos pequenos, aumentos nos níveis foliares de hexoses e decréscimos nos níveis de sacarose e amido, sob estresse hídrico severo, imposto rapidamente. Adicionalmente, as atividades de enzimas-chave do metabolismo do carbono foram pouco ou nada afetadas pela severidade do déficit. O decréscimo na taxa fotossintética foi devido à retroinibição da fotossíntese pela redução da força-dreno, associada ao elevado grau de restrição radicular. No entanto, Batista *et al.* (2012) sugeriram, que as variações diurnas na taxa fotossintética pela redução do dreno (em ramos anelados) são consequência de limitações difusivas em vez de retroinibição por acúmulo de produtos finais. Em todo o caso, sob certas

condições, como déficit hídrico e temperaturas elevadas, o metabolismo de carboidratos em café pode ser afetado de maneira independente, levando a alterações nos níveis foliares de açúcares solúveis e de amido, que podem estar ou não associada a alterações na atividade das enzimas do metabolismo do carbono.

O cafeeiro, em condições de campo, na estação seca e fria, frequentemente está submetido a condições de déficit hídrico e luminoso, porém nenhuma caracterização dos mecanismos bioquímicos associados ao metabolismo do carbono sob tais condições tem sido levada a termo. Ademais, não há informações disponíveis dos efeitos combinados da seca e da disponibilidade de luz sobre a fisiologia do cafeeiro nas condições do inverno da Zona da Mata mineira, quando as temperaturas são relativamente baixas (especialmente as temperaturas noturnas) e os dias são ensolarados, fatos que provavelmente explicam, pelo menos em grande parte, as taxas negligenciáveis de crescimento vegetativo e as baixas taxas de fotossíntese em café (Silva *et al.*, 2004). Hipotetiza-se, aqui, que o sombreamento, ao reduzir os efeitos negativos do excesso de energia e as taxas de consumo de água, permitiria uma melhor aclimação do cafeeiro ao déficit hídrico nas condições do inverno. Nesse contexto, pretendeu-se, neste estudo, analisar o desempenho fotossintético, as relações hídricas e o metabolismo do carbono em plantas cultivadas sob ambientes lumínicos distintos e submetidas a diferentes disponibilidades de água.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Aspectos gerais

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°54'W, 650 m altitude), em Minas Gerais. Foram utilizadas plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho IAC 44', propagadas por semente, com três pares de folhas, e plantadas em vasos de polipropileno com capacidade de 8 L, contendo uma mistura de solo, esterco bovino e areia (3:1:1 v/v/v). As plantas foram cultivadas a pleno sol (fenótipos de sol) e em um ambiente sombreado, i.e., 15% da radiação solar, empregando-se, para tal, telas de poliolefinas (fenótipos de sombra). As plantas foram adubadas de acordo com análise de solo e recomendações técnicas usuais para a cultura. As plantas foram irrigadas periodicamente para manter a umidade do solo próxima à capacidade de campo (CC). Ao atingirem cerca de seis meses, as plantas de cada tratamento lumínicos, que já apresentavam diferenças típicas de plantas de sol e de sombra, foram submetidas a regimes hídricos diferenciais: plantas-controle, isto é, plantas permanentemente irrigadas (100% de água disponível no solo), e plantas sob déficit hídrico (DH), isto é, plantas submetidas à desidratação imposta pela suspensão da irrigação, até que a umidade disponível no solo alcançasse 35% (conforme descrito abaixo). As plantas foram submetidas a cada um dos regimes hídricos por 76 dias, quando foram analisadas.

A água disponível (AD) foi calculada segundo estudo prévio dos valores de umidade volumétrica na curva de retenção de água no solo para CC (determinada na tensão de -0,010 MPa) e para o ponto de murcha permanente (PMP) (determinado na tensão de -1,5 MPa), utilizando-se da seguinte expressão:  $AD = CC - PMP$ . Previamente, o peso de todos os vasos foi padronizado. Posteriormente, procedeu-se à elevação do teor de umidade do substrato até atingir CC, determinada pela curva de retenção, com posterior pesagem dos vasos. Uma vez estabelecido o peso dos vasos na CC e, considerando-se a quantidade de AD, foi estabelecido o peso dos vasos com 35% de AD. O estabelecimento e o controle dos níveis de umidade do substrato em cada tratamento foram realizados pelo acompanhamento do peso dos vasos a cada três dias. Segundo a curva de retenção de umidade, 35% de AD corresponderam ao potencial

hídrico na antemanhã ( $\Psi_{am}$ ) de, aproximadamente, -2 MPa, valor que representa déficit hídrico moderado em café (Praxedes *et al.*, 2006).

## 2.2 Parâmetros agrometereológicos

A radiação fotossinteticamente ativa (RFA), em cada ambiente lumínico, foi medida com um sensor quântico (LI-190SA, Li-Cor Bioscience Inc., Lincoln, EUA). A temperatura ao sol foi medida com um sensor (LI-1400-102, Li-Cor Bioscience Inc., Lincoln, EUA). Todos os sensores (LI-Cor) foram conectados a um sistema de aquisição de dados (LI-1400, LI-Cor, Lincoln, EUA), coletando-se os dados a cada minuto e armazenando-se o valor médio a cada 5 min.

## 2.3 Características morfológicas

Os seguintes caracteres morfológicos da parte aérea foram avaliados: (i) a altura da planta, medida do colo ao ápice do ramo ortotrópico; (ii) o número total de folhas (NTF); (iii) a área foliar total (AF), medida a partir do comprimento e largura de cada folha, conforme Antunes *et al.* (2008); e (iv) o diâmetro do ramo ortotrópico (DRO), medido a 1 cm da superfície do solo.

## 2.4 Relações hídricas

**Potencial hídrico:** O potencial hídrico foi determinado em folhas individuais, utilizando-se uma bomba de pressão tipo Scholander, na antemanhã ( $\Psi_{am}$ ) e ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ).

**Transpiração:** A transpiração ( $E$ ) foi estimada por gravimetria, mediante a diferença do peso dos vasos ( $\Delta PV$ ) na antemanhã e ao meio-dia, conforme Nagakura *et al.* (2004). Este valor foi dividido pela AF, pelo peso molecular da água (PM) e pelo intervalo de tempo ( $\Delta_t$ ) entre a pesagem dos vasos. Vasos contendo a mesma quantidade de substrato, cobertos com plástico, porém sem plantas, foram utilizados para estimar-se a quantidade de água perdida por evaporação (EV). O cálculo do  $E$  foi feito utilizando-se a seguinte fórmula:

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

**Condutância hidráulica:** A condutância hidráulica aparente entre o solo e a folha ( $K_L$ ) foi estimada a partir da transpiração das plantas no período entre a antemanhã e o meio-dia ( $E$ ), e a diferença de potencial hídrico ( $\Delta\Psi_w$ ) [variação do potencial hídrico entre a antemanhã e o meio-dia ( $\Psi_{am} - \Psi_{md}$ )], observada nesse intervalo. O cálculo do  $K_L$  foi feito utilizando-se a fórmula:

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

## 2.5 Trocas gasosas

A taxa de fotossíntese líquida ( $A$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ), a razão entre as concentrações interna e externa de  $CO_2$  ( $C_i/C_a$ ), a temperatura foliar ( $T_f$ ) e o déficit de pressão de vapor ( $\delta_e$ ) foram medidos entre as 09:00 e 11:00 h, com um analisador portátil de gás a infravermelho (LI-6400, Li-Cor Biosciences Inc., Lincoln, EUA). As medições foram realizadas sob condições ambientes de concentração de  $CO_2$ , temperatura e umidade, sob irradiância de 200 e 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Essas intensidades corresponderam aproximadamente à irradiância interceptada pelas folhas à sombra e ao sol, respectivamente. No mesmo horário, foram feitas curvas de resposta de  $A$  em função de  $C_i$  (curvas  $A/C_i$ ), sob 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A partir da curva  $A/C_i$ , foi calculada a taxa de carboxilação máxima ( $V_{cmax}$ ).

## 2.6 Fluorescência da clorofila *a*

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram determinados nas mesmas folhas utilizadas para as medições de trocas gasosas, usando-se um fluorômetro portátil modulado (MINI-PAM Walz, Effeltrich, Alemanha). Tecidos foliares previamente aclimatados ao escuro, por 30 min, foram excitados por luz vermelha modulada de baixa intensidade (0,03  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), para obtenção da fluorescência mínima ( $F_0$ ). Em seguida, foi aplicado um pulso de luz actínica saturante (3000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), durante 0,8 s, para estimar-se a fluorescência máxima ( $F_m$ ), a partir das quais foram calculadas a razão  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$  e a razão  $F_v/F_0 = (F_m - F_0)/F_0$ . As folhas foram aclimatadas à luz actínica (1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) durante 40 s, a fim de se obter a fluorescência transiente ( $F_s$ ) e, em seguida, foi aplicado um pulso de luz saturante para estimar-se a fluorescência máxima adaptada à luz ( $F_m'$ ). O valor da fluorescência mínima adaptada à luz ( $F_0'$ ) foi calculado segundo Oxborough e Baker (1997). Com esses parâmetros, calcularam-se a



eficiência quântica do transporte de elétrons do FSII Y(II), o rendimento quântico não fotoquímico Y(NPQ), o rendimento quântico da dissipação não regulada de energia Y(NO), conforme descrito em Kramer *et al.* (2004), e a taxa de transporte de elétrons (TTE), conforme descrito em DaMatta *et al.* (2002). As medidas foram feitas imediatamente após a avaliação das trocas gasosas e também na antemanhã (somente  $F_0$  e  $F_m$ )

## **2.7 Extração e determinação de carboidratos, aminoácidos e pigmentos**

Nas mesmas folhas utilizadas para a avaliação das trocas gasosas, discos foliares foram coletados por volta das 11:00 h, congelados em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Os tecidos foliares foram liofilizados a  $-48^{\circ}\text{C}$  e macerados em um disruptor celular com auxílio de esferas de metal de 3,2 mm (Mini-Bead beater-96, Bio Spec Products, Bartlesville, OK, EUA). Tomaram-se 10 mg de tecido em pó, ao qual se adicionou 1 mL de metanol 100% ; a mistura foi incubada ( $70^{\circ}\text{C}$ , 30 min) e posteriormente centrifugada (13000 g, 5 min). Na fração solúvel em metanol, foram determinados os teores de sacarose, glicose e frutose (Praxedes *et al.*, 2006) e aminoácidos livres totais (DaMatta *et al.*, 1999); na fração insolúvel, foi determinada, enzimaticamente, a concentração de amido (Praxedes *et al.*, 2006).

As concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e de carotenóides foram determinadas segundo Lichthenthaler (1987).

## **2.8 Extração e determinação das atividades enzimáticas**

### **2.8.1 Preparo dos extratos enzimáticos**

Foram utilizados 10 discos de 12 mm de diâmetro por repetição. Os discos foram triturados com 20 mg de PVPP e 500  $\mu\text{L}$  de tampão de extração, conforme Geigenberger e Stitt (1993): HEPES-KOH (pH 7,4)  $59\text{ mol m}^{-3}$ ,  $\text{MgCl}_2$   $5\text{ mol m}^{-3}$ , EDTA  $1\text{ mol m}^{-3}$ , EGTA  $1\text{ mol m}^{-3}$ ,  $\beta$ -mercaptoetanol  $10\text{ mol m}^{-3}$ , benzamidina  $2\text{ mol m}^{-3}$ , ácido- $\epsilon$ -amino-*n*-capróico  $2\text{ mol m}^{-3}$ , PMSF  $0,5\text{ mol m}^{-3}$ , BSA 0,1% (p/v), glicerol 10% (v/v) e Triton X-100 0,1% (v/v). O extrato obtido foi centrifugado a 15000 g, por 15 min, a  $4^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante obtido foi armazenado a -

80°C. O volume de extrato utilizado nas reações enzimáticas foi determinado de acordo com a linearidade da resposta ao volume do extrato.

### **2.8.2 Carboxilase/oxigenase da ribulose-1,5-bisfosfato (Rubisco; E.C 4.1.1.39)**

As atividades inicial ( $V_{inicial}$ ) e total ( $V_{total}$ ) da Rubisco foram determinadas acompanhando-se a oxidação do NADH, a 340 nm, num meio contendo Bicina 100 mol m<sup>-3</sup>, EDTA 1 mol m<sup>-3</sup>, MgCl<sub>2</sub> 15 mol m<sup>-3</sup>, DTT 10 mol m<sup>-3</sup>, NaHCO<sub>3</sub> 5 mol m<sup>-3</sup>, NADH 0,5 mol m<sup>-3</sup>, ATP 2 mol m<sup>-3</sup>, cinase do 3-fosfoglicerato 3U mL<sup>-1</sup>, desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato (GAPDH) 12 U mL<sup>-1</sup> e cinase da fosfocreatina 0,6 U mL<sup>-1</sup> (Sharkey *et al.*, 1991). O estado de ativação da rubisco foi calculado como a razão entre as atividades inicial e total (%).

### **2.8.3 Sintase da sacarose-fosfato (SPS; E.C. 2.4.1.14)**

A atividade máxima ( $V_{max}$ ) da SPS foi determinada segundo Huber *et al.* (1989), na direção de formação de sacarose-fosfato, em um volume final de reação de 70 µL. A mistura de reação continha 30 µL de extrato e tampão de reação contendo HEPES-NaOH 50 mol m<sup>-3</sup> (pH 7,4), MgCl<sub>2</sub> 12 mol m<sup>-3</sup>, DTT 1 mol m<sup>-3</sup>, UDP 6 mol m<sup>-3</sup>, frutose-6-fosfato (F6P) 12 mol m<sup>-3</sup> e glicose-6-fosfato (G6P) 36 mol m<sup>-3</sup>. A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático, mantida à temperatura de 25°C, por 60 min, e paralisada com 70 µL de KOH a 30% (p/v). Posteriormente, foi adicionado 1,0 mL de uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 28 N, com antrona a 0,14%, prosseguindo-se a reação por 20 min, a 40°C, determinando-se, então, a concentração de sacarose, a 620 nm.

A atividade seletiva ( $V_{sel}$ ) da SPS foi determinada de forma semelhante a  $V_{max}$ , à exceção de que foram utilizadas concentrações finais de F6P 2 mol m<sup>-3</sup>, G6P 6 mol m<sup>-3</sup> e Pi (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 10 mol m<sup>-3</sup>.

### **2.8.4 Fosfatase da frutose-1,6-bifosfato (FBPase; E.C. 3.1.3.11)**

A atividade da FBPase foi determinada na direção da formação de F6P, em microplaca de ELISA, em volume final de 300 µL, a 340 nm (Sharkey *et al.*, 1991). A mistura de reação continha 20 µL do extrato, tampão de reação contendo HEPES-NaOH 20 mol m<sup>-3</sup> (pH 7,0),

MgCl<sub>2</sub> 5 mol m<sup>-3</sup>, EDTA 0,5 mol m<sup>-3</sup>, KCl 100 mol m<sup>-3</sup>, NAD<sup>+</sup> 0,5 mol m<sup>-3</sup>, PGI 0,25 U mL<sup>-1</sup>, desidrogenase da G6P 0,25 U mL<sup>-1</sup>. A reação foi iniciada pela adição de frutose-1,6-bisfosfato (FBP) 300 mol m<sup>-3</sup>.

#### **2.8.5 Invertase ácida (EC. 3.2.1.26) e alcalina (EC. 3.2.1.26)**

A atividade dessa enzima foi determinada em reação acoplada à degradação da sacarose, mediante a quantidade de glicose liberada (Zrenner *et al.*, 1995).

Para a determinação da atividade da invertase ácida, a mistura de reação (100 µL) continha tampão acetato de sódio 100 mol m<sup>-3</sup> (pH 4,6) e sacarose 100 mol m<sup>-3</sup>. A reação foi iniciada pela adição de 10 µL do extrato, mantida em banho-maria, por 60 min, a 37°C, neutralizada pela adição de 10 µL de tampão fosfato de sódio 1M (pH 7,2) e, em seguida, paralisada em água fervente, por 3 min. Para a determinação dos teores da glicose liberada, utilizou-se o método descrito no item 2.7.

Para a determinação da atividade da invertase alcalina, a mistura de reação (100 µL) continha tampão HEPES-KOH (pH 7,5) 100 mol m<sup>-3</sup> e sacarose 100 mol m<sup>-3</sup>. A reação foi iniciada pela adição de 20 µL do extrato, mantida em banho-maria, por 60 min, a 37°C, e interrompida por fervura, durante 5 min. Em seguida, a mistura foi centrifugada; tomaram-se 50 µL do sobrenadante para determinação dos teores da glicose liberada.

#### **2.8.6 Sintase da sacarose (SuSy; E.C. 2.4.1.13)**

A atividade da SuSy foi determinada em uma reação acoplada na direção da degradação da sacarose, via quantidade de UDP-glicose liberada (Zrenner *et al.*, 1995), a 30°C, e registrada a 340 nm, em um leitor de ELISA. Na primeira reação (degradação de sacarose e formação de UDPG), a mistura de reação (100 µL) continha 5 µL do extrato, tampão contendo HEPES-KOH 20 mol m<sup>-3</sup> (pH 7,0), sacarose 400 mol m<sup>-3</sup> e UDP 4 mol m<sup>-3</sup>, sendo a mistura incubada a 30°C, por 60 min. A reação foi interrompida a 100°C, por 3 min. A segunda reação (determinação da concentração de UDPG) foi realizada em um volume de reação de 300 µL, contendo tampão

glicina  $200 \text{ mol m}^{-3}$  (pH 8,9),  $\text{MgCl}_2$   $5 \text{ mol m}^{-3}$  e  $\text{NAD}^+$   $2 \text{ mol m}^{-3}$ . A reação foi iniciada pela adição da desidrogenase de UDP-glicose, à quantidade final de 0,005 U por reação.

### **2.8.7 Pirofosforilase da ADP-glicose (AGPase; E.C. 2.7.7.27)**

A atividade da AGPase foi determinada na direção da formação de G1P, em reação acoplada à redução do  $\text{NAD}^+$ , em microplaca de ELISA, a 340 nm (Tiessen *et al.*, 2002). A mistura de reação continha 20  $\mu\text{L}$  de extrato, tampão de reação contendo HEPES-NaOH  $80 \text{ mol m}^{-3}$  (pH 7,4),  $\text{MgCl}_2$   $10 \text{ mol m}^{-3}$ , glicose-1,6-bisfosfato  $10 \text{ mol m}^{-3}$ , ácido 3-fosfoglicérico  $10 \text{ mol m}^{-3}$ ,  $\text{NAD}^+$   $1 \text{ mol m}^{-3}$ , ADP-glicose  $1 \text{ mol m}^{-3}$ , NaF  $1 \text{ U mL}^{-1}$ , fosfoglicomutase  $1 \text{ U mL}^{-1}$  e desidrogenase da G6P (*Leuconostoc mesenteroides*)  $2,5 \text{ U mL}^{-1}$ . A reação foi iniciada pela adição de pirofosfato de sódio 1,5 mM, em um volume final de 300  $\mu\text{L}$ .

### **2.8.8 Cinase da frutose-6-fosfato dependente de ATP (ATP-PFK; E.C. 2.1.7.11)**

A atividade da ATP-PFK foi determinada acompanhando-se a oxidação do NADH, segundo Burell *et al.* (1994), em volume final de 300  $\mu\text{L}$ , a 340 nm. A mistura de reação continha 15  $\mu\text{L}$  do extrato, tampão de reação contendo Tris-HCL  $100 \text{ mol m}^{-3}$  (pH 8,0),  $\text{MgCl}_2$   $5 \text{ mol m}^{-3}$ , ATP  $1 \text{ mol m}^{-3}$ , NADH  $0,1 \text{ mol m}^{-3}$ , aldolase  $10 \text{ U mL}^{-1}$ , isomerase de triose-fosfato  $1,8 \text{ U mL}^{-1}$ , desidrogenase do glicerol-3-fosfato  $1,8 \text{ U mL}^{-1}$ . A reação foi iniciada com a adição de F6P à concentração final de  $5 \text{ mol m}^{-3}$ .

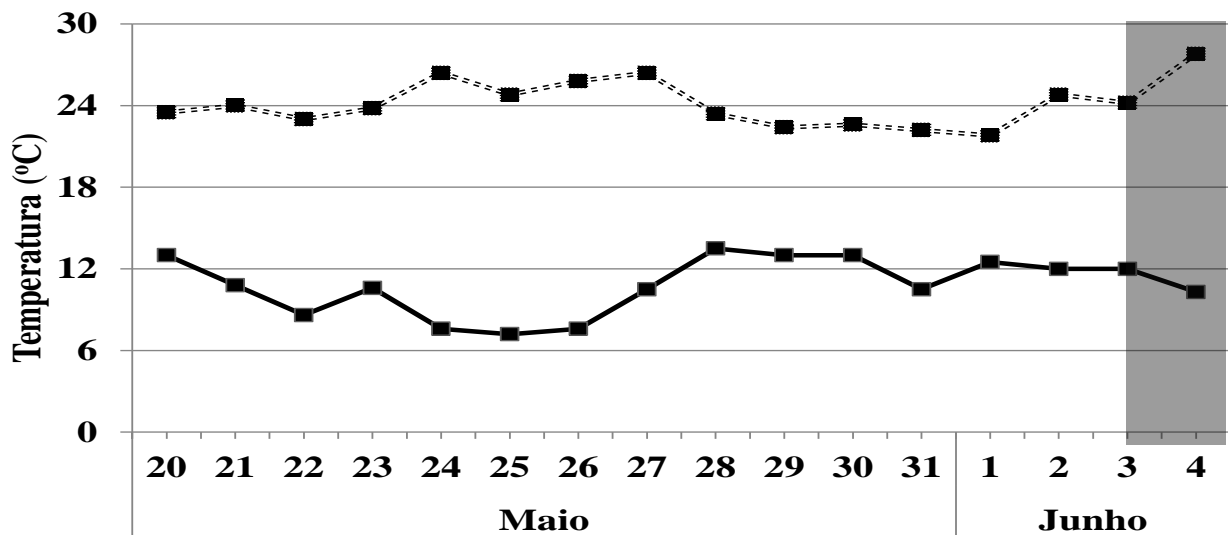
## **2.9 Estatística**

Cada unidade experimental foi composta por uma planta por vaso. À exceção dos parâmetros fotossintéticos e de fluorescência, que foram tomados em blocos, as demais variáveis foram submetidas à análise de variância segundo delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, em um esquema fatorial 2x2 (dois níveis de água x 2 níveis de irradiância). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas entre si pelo teste *F*, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sisvar 5.1 Build 7.2.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Parâmetros agrometeorológicos

A média da RFA foi de  $31,18 \pm 1,7 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  ao sol (plena exposição solar) e de  $3,15 \pm 0,1 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  no ambiente à sombra, entre janeiro e junho de 2011. Nos dias de avaliação as temperaturas mínima e a máxima foram, respectivamente, 10,3 e 27,8 °C, no ambiente ao sol (Figura 1).



**Figura 1.** Valores máximos (linha tracejada) e mínimos (linha contínua) da temperatura do ar diária entre os dias 20 de maio e 4 de junho de 2011, em Viçosa. A marcação em cinza indica os dias das avaliações e das coletas.

#### 3.2 Características morfológicas

As variáveis altura, AF, DRO e NTF diferiram significativamente entre as plantas dos dois ambientes lumínicos dentro de um mesmo regime hídrico (Tabela 1), sendo que as plantas ao sol exibiram, em relação àquelas à sombra, maior altura (15%), AF (110%), DRO (44%) e NTF (175%). Ao contrário, as plantas à sombra tiveram maior AFE (37%) que as plantas ao sol. Em relação aos regimes hídricos em um mesmo ambiente lumínico, nas plantas ao sol, o DH acarretou decréscimo em AF (29%), DRO (17%) e NTF (23%), porém sem variações significativas na altura e em AFE (Tabela 1). Nas plantas à sombra, não se observaram

diferenças nas características morfológicas avaliadas tanto sob CC e DH, exceto AFE, que foi maior à CC (8%).

**Tabela 1.** Características morfológicas em plantas de *Coffea arabica* L. cv. ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)].

Parâmetros	Sombra		Sol	
	CC	DH	CC	DH
Altura (cm)	32 ± 0,5 <sup>b</sup>	31 ± 0,5 <sup>b</sup>	37 ± 0,8 <sup>a</sup>	34,5 ± 0,5 <sup>a</sup>
Área foliar (m <sup>2</sup> )	0,2 ± 0,005 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,006 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,01 <sup>a*</sup>	0,3 ± 0,002 <sup>a</sup>
Diâmetro do ramo ortotrópico (cm)	0,6 ± 0,006 <sup>b</sup>	0,6 ± 0,006 <sup>b</sup>	0,8 ± 0,02 <sup>a*</sup>	0,7 ± 0,01 <sup>a</sup>
Número total de folhas	24 ± 1 <sup>b</sup>	25 ± 1 <sup>b</sup>	66 ± 5 <sup>a*</sup>	51 ± 3 <sup>a</sup>
Area foliar específica (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	18,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	16,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	13,5 ± 0,5 <sup>b</sup>	13,6 ± 0,1 <sup>b</sup>

Letras diferentes denotam diferenças significativas entre as médias dos níveis de irradiância dentro de um mesmo regime hídrico. Os asteriscos (\*) denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos hídricos, para um mesmo nível de irradiância. As médias foram comparadas entre si pelo teste *F* ( $P \leq 0,05$ ). Os valores representam a média ± erro-padrão ( $n = 6$ ).

### 3.3 Relações Hídricas

As plantas foram submetidas à desidratação por 76 dias, quando o potencial hídrico na antemanhã ( $\Psi_{am}$ ) atingiu -2,1 MPa à sombra e -2,0 MPa ao sol. Nas plantas irrigadas, o potencial hídrico ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ) não variou significativamente entre as plantas dos dois ambientes lumínicos (Tabela 2). Em contraste, nas plantas sob DH,  $\Psi_{md}$  foi ligeiramente mais negativo à sombra. Sob disponibilidade hídrica adequada, os valores de  $K_L$  e  $E$  foram maiores em relação aos das plantas sob DH nos dois ambientes lumínicos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Valores médios do potencial hídrico na antemanhã ( $\Psi_{am}$ ) e ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ), taxa de transpiração ( $E$ ) e condutância hidráulica ( $K_L$ ) em plantas de *Coffea arabica* L. cv. ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)].

Parâmetros	Sombra		Sol	
	CC	DH	CC	DH
$\Psi_{am}$ (MPa)	$-0,2 \pm 0,001^b$	$-2,1 \pm 0,05^{a*}$	$-0,02 \pm 0,002^b$	$-2,0 \pm 0,04^{a*}$
$\Psi_{md}$ (MPa)	$-0,3 \pm 0,026^b$	$-2,7 \pm 0,04^{a*}$	$-0,4 \pm 0,03^b$	$-2,3 \pm 0,071^b$
$E$ (mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	$0,3 \pm 0,006^{a*}$	$0,1 \pm 0,005^b$	$0,4 \pm 0,02^{a*}$	$0,2 \pm 0,03^a$
$K_L$ (mmol H <sub>2</sub> O MPa <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	$1,1 \pm 0,10^{a*}$	$0,2 \pm 0,003^b$	$1,0 \pm 0,13^{a*}$	$0,4 \pm 0,02^b$

Estatística conforme Tabela 1.

### 3.4 Trocas gasosas

Em geral, as plantas irrigadas à sombra apresentam valores de  $A$  39 e 43% superiores aos das plantas ao sol, sob irradiâncias de 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 3). Nas plantas à sombra sob DH, houve decréscimos em  $A$  de 55%, sob 200  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , e 63%, sob 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , quando comparadas com as plantas irrigadas. Por outro lado, maiores decréscimos de  $A$  foram observados sob DH nas plantas ao sol, 67 e 75% sob 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente.

Não houve diferenças em  $g_s$  nas plantas irrigadas nos dois ambientes lumínicos, sob 200  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Contrariamente, à CC,  $g_s$ , sob 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , foi 32% superior nas plantas à sombra comparadas com as plantas ao sol. Sob DH, as plantas à sombra apresentaram uma redução de 74 e 77%, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente, em relação às plantas à CC. Sob DH, maiores reduções em  $g_s$  foram observadas nas plantas ao sol, 82 e 84%, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente.

Sob disponibilidade hídrica adequada, a razão  $C_i/C_a$  foi 17% maior nas plantas ao sol comparadas com as plantas à sombra, sob 200  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , não havendo diferenças sob 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Sob DH, as plantas à sombra apresentaram uma redução na razão  $C_i/C_a$  de 33 e 36%, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente. Nesse mesmo regime

hídrico, menores reduções na razão  $C_i/C_a$  foram observadas nas plantas ao sol, 26 e 17%, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 3).

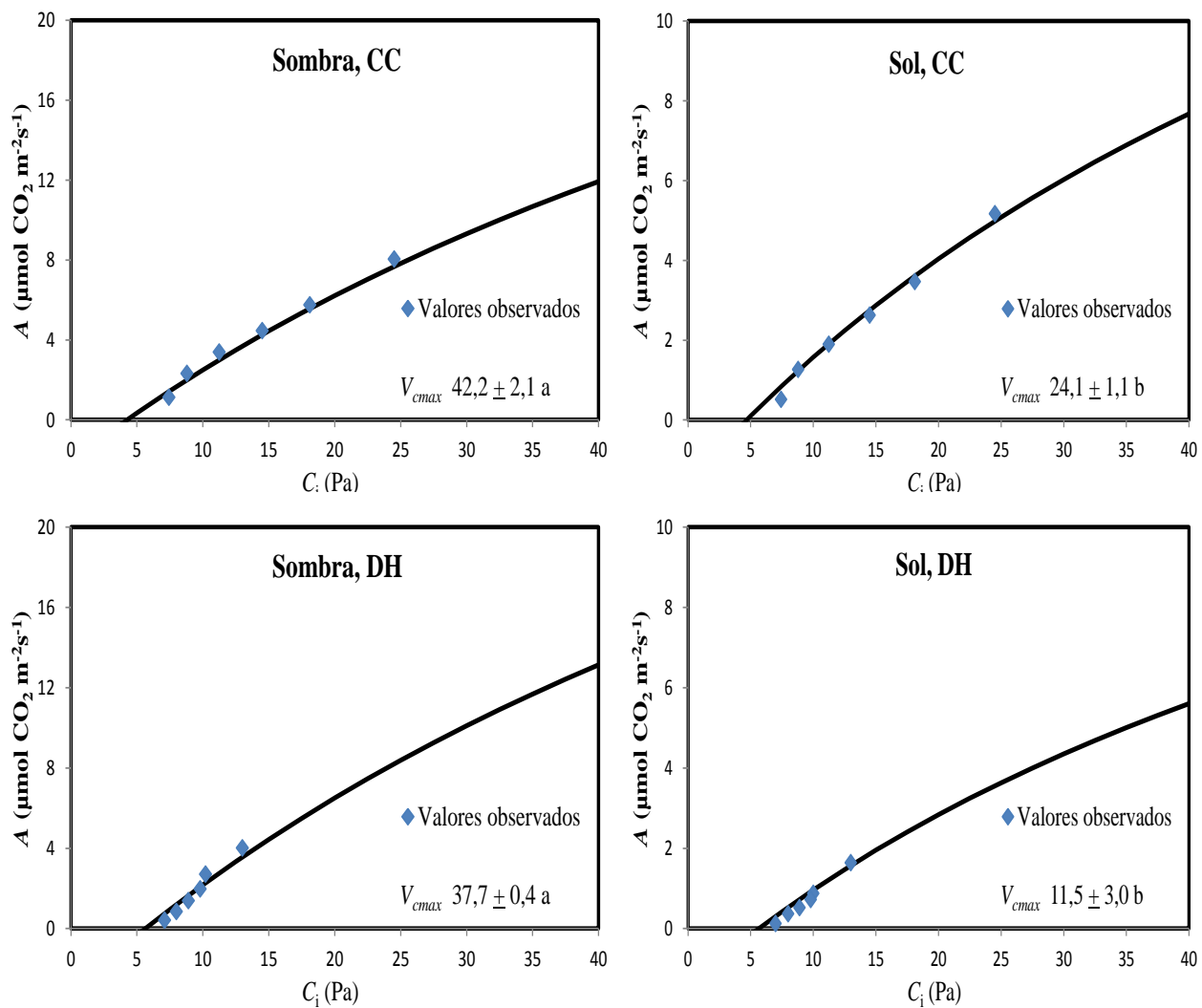
**Tabela 3.** Taxa de assimilação líquida de carbono ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), razão entre a concentração interna e ambiente de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ), temperatura foliar ( $T_f$ ) e déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera ( $\delta_e$ ), sob 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , em plantas de *Coffea arabica* L. cv. ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)].

Parâmetros	Sombra		Sol	
	CC	DH	CC	DH
200 $\mu\text{mol}$ fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$				
$A$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	5,1 $\pm$ 0,3 <sup>a*</sup>	2,3 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	3,6 $\pm$ 0,3 <sup>b*</sup>	1,2 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
$g_s$ ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	66,1 $\pm$ 7,8 <sup>a*</sup>	17 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	65,6 $\pm$ 4,6 <sup>a*</sup>	11,7 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>
$C_i/C_a$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ )	0,63 $\pm$ 0,02 <sup>b*</sup>	0,42 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,74 $\pm$ 0,03 <sup>a*</sup>	0,55 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>
$T_f$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	26,1 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	26,4 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	24,3 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	26,2 $\pm$ 0,6 <sup>a*</sup>
$\delta_e$ (kPa)	1,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,1 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	1,6 $\pm$ 0,1 <sup>a*</sup>
1000 $\mu\text{mol}$ fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$				
$A$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	7,0 $\pm$ 0,4 <sup>a*</sup>	2,6 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	4,5 $\pm$ 0,2 <sup>b*</sup>	1,1 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>
$g_s$ ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	77,2 $\pm$ 8,4 <sup>a*</sup>	17,9 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	58,4 $\pm$ 4,5 <sup>b*</sup>	9,7 $\pm$ 1 <sup>b</sup>
$C_i/C_a$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ )	0,56 $\pm$ 0,02 <sup>a*</sup>	0,36 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,60 $\pm$ 0,02 <sup>a*</sup>	0,50 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
$T_f$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	27,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	27,6 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	25,8 $\pm$ 0,2 <sup>a*</sup>	28,1 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>
$\delta_e$ (kPa)	1,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,2 $\pm$ 0,03 <sup>a*</sup>	1,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>

Estatística conforme Tabela 1.

À CC, a  $T_f$  foi 7 e 5% maior nas plantas à sombra, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente, em relação às plantas ao sol. Nessa mesma disponibilidade hídrica,  $\delta_e$  foi 45 e 33% maior nas plantas à sombra, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente, em relação às plantas ao sol (Tabela 3). As respostas de  $A$  em função de  $C_i$  nas plantas irrigadas nos dois ambientes lumínicos diferiram em relação às das plantas sob DH (Figura 2): a velocidade máxima de carboxilação ( $V_{\text{cmax}}$ ), à CC, foi 88% maior nas plantas à sombra em relação às plantas ao sol; sob DH, não se encontraram diferenças significativas em  $V_{\text{cmax}}$  nas plantas à sombra, mas houve um decréscimo de 55% nesse parâmetro nas plantas ao sol (Figura 2).





**Figura 2** Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) em função da concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) em plantas de *Coffea arabica* L. cv. ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)]. As médias da taxa de carboxilação máxima [ $V_{cmax}$ ,  $\mu\text{mol} (\text{CO}_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ] não diferiram significativamente entre os regimes hídricos, dentro de um mesmo nível de irradiância ( $P > 0,05$ ). Letras diferentes denotam diferenças entre as médias dos níveis de irradiância, dentro de um mesmo regime hídrico, pelo teste  $F$  ( $P \leq 0,05$ ). Os valores representam a média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 5$ ).

### 3.5 Parâmetros de fluorescência e pigmentos fotossintéticos

Os parâmetros de fluorescência não foram afetados pelos regimes hídricos, em contraste com o que se observou em função da disponibilidade de luz. Sob disponibilidade hídrica adequada, observou-se um decréscimo na razão  $F_v/F_m$  nas plantas ao sol, comparadas com as plantas à sombra, de 6,4 e 21,5%, na antemanhã e ao meio-dia, respectivamente. Do mesmo modo, nesse regime hídrico, comparado com as plantas à sombra, houve um decréscimo na razão  $F_v/F_0$  nas plantas ao sol, de 24 e 50% na antemanhã e ao meio-dia, respectivamente (Tabela 4).

**Tabela 4.** Valores médios dos parâmetros de fluorescência na antemanhã e ao meio-dia, em plantas de *Coffea arabica* L. cv. ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)]. Abreviaturas: Fluorescência mínima ( $F_0$ ) fluorescência máxima ( $F_m$ ), razão entre a fluorescência variável e máxima ( $F_v/F_m$ ) e razão entre fluorescência variável e inicial ( $F_v/F_0$ ).

Parâmetros	Sombra		Sol	
	CC	DH	CC	DH
	Antemanhã			
$F_0$	352 ± 4,8 <sup>b</sup>	345 ± 6,8 <sup>b</sup>	391 ± 1,2 <sup>a</sup>	388 ± 11,8 <sup>a</sup>
$F_m$	1715 ± 16,6 <sup>a</sup>	1788 ± 23,9 <sup>a</sup>	1550 ± 80,9 <sup>a</sup>	1435 ± 42 <sup>b</sup>
$F_v/F_m$	0,79 ± 0,003 <sup>a</sup>	0,81 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,74 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,73 ± 0,01 <sup>b</sup>
$F_v/F_0$	3,88 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,19 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,95 ± 0,2 <sup>b</sup>	2,72 ± 0,15 <sup>b</sup>
	Meio-dia			
$F_0$	844 ± 2 <sup>b</sup>	821 ± 17,1 <sup>b</sup>	967 ± 22,9 <sup>b</sup>	1007 ± 48,2 <sup>a</sup>
$F_m$	4092 ± 92,7 <sup>a</sup>	4291 ± 73,6 <sup>a</sup>	2837 ± 120,5 <sup>b</sup>	2971 ± 90,2 <sup>b</sup>
$F_v/F_m$	0,79 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,80 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,65 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,65 ± 0,01 <sup>b</sup>
$F_v/F_0$	3,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,92 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,97 ± 0,1 <sup>b</sup>

Estatística conforme Tabela 1.

Sob DH, não foram observadas alterações em Y(II), Y(NPQ) Y(NO),  $q_L$  e TTE nas plantas dos dois ambientes lumínicos. À CC, comparadas com as plantas à sombra, as plantas ao sol exibiram uma redução em Y(II) de 21 e 40%, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente. Igualmente, nesse regime hídrico, as plantas ao sol apresentaram decréscimo

em TTE, de 24 e 61%, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente, em rela\u00e7\u00e3o \u00e0s plantas sombreadas (Tabela 5).

**Tabela 5.** Valores m\u00e9dios dos par\u00e2metros de fluoresc\u00eancia, sob 200 e 1000  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , em plantas de *Coffea arabica* L. cv. ‘Catua\u00ed Vermelho IAC 44’ submetidas \u00e0 combina\u00e7\u00e3o de condi\u00e7\u00f5es contrastantes de [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e \u00e1gua [capacidade de campo (CC; 100% da \u00e1gua dispon\u00edvel) e d\u00e9ficit h\u00eddrico (DH; 35% da \u00e1gua dispon\u00edvel)]. Abreviaturas: Efici\u00eancia qu\u00e2ntica do transporte de el\u00e9trons do FSII Y(II), rendimento qu\u00e2ntico n\u00e3o fotoqu\u00edmico Y(NPQ) rendimento qu\u00e2ntico da dissipac\u00e3o n\u00e3o regulada Y(NO), capacidade fotoqu\u00edmica do FSII ( $q_L$ ) e taxa de transporte de el\u00e9trons (TTE).

Par\u00e2metros	Sombra		Sol	
	CC	DH	CC	DH
<b>200 <math>\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}</math></b>				
Y(II)	0,29 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,26 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,24 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,19 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
Y(NPQ)	0,38 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,47 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,46 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,52 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
Y(NO)	0,33 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,28 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,29 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
$q_L$	0,23 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,23 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,27 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,25 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
TTE ( $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	31 $\pm$ 2,15 <sup>a</sup>	27 $\pm$ 0,98 <sup>a</sup>	25 $\pm$ 1,34 <sup>b</sup>	20 $\pm$ 1,12 <sup>b</sup>
<b>1000 <math>\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}</math></b>				
Y(II)	0,07 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,07 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,05 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,04 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>
Y(NPQ)	0,60 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,65 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,64 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,66 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
Y(NO)	0,32 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,28 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,31 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
$q_L$	0,06 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,06 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,06 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,06 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
TTE ( $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	32 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	32 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	23 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	19 $\pm$ 1,2 <sup>b</sup>

Estat\u00edstica conforme Tabela 1.

\u00c0 CC, comparadas com as plantas ao sol, as plantas \u00e0 sombra exibiram maiores concentra\u00e7\u00f5es (em base de massa) de clorofilas (71%) e caroten\u00f3ides (58%) (Tabela 6). A raz\u00e3o Chl/Car foi superior (23%) nas plantas \u00e0 sombra. N\u00e3o houve varia\u00e7\u00f5es significativas nas concentra\u00e7\u00f5es de pigmentos em base de \u00e1rea e na raz\u00e3o Chl *a/b* entre os tratamentos. As concentra\u00e7\u00f5es dos pigmentos, independentemente da base de express\u00e3o, n\u00e3o foram influenciadas pelos regimes h\u00eddricos em cada ambiente lum\u00ednico, exceto a concentra\u00e7\u00e3o de caroten\u00f3ides (em base de massa), sendo superior (43%) nas plantas \u00e0 sombra.

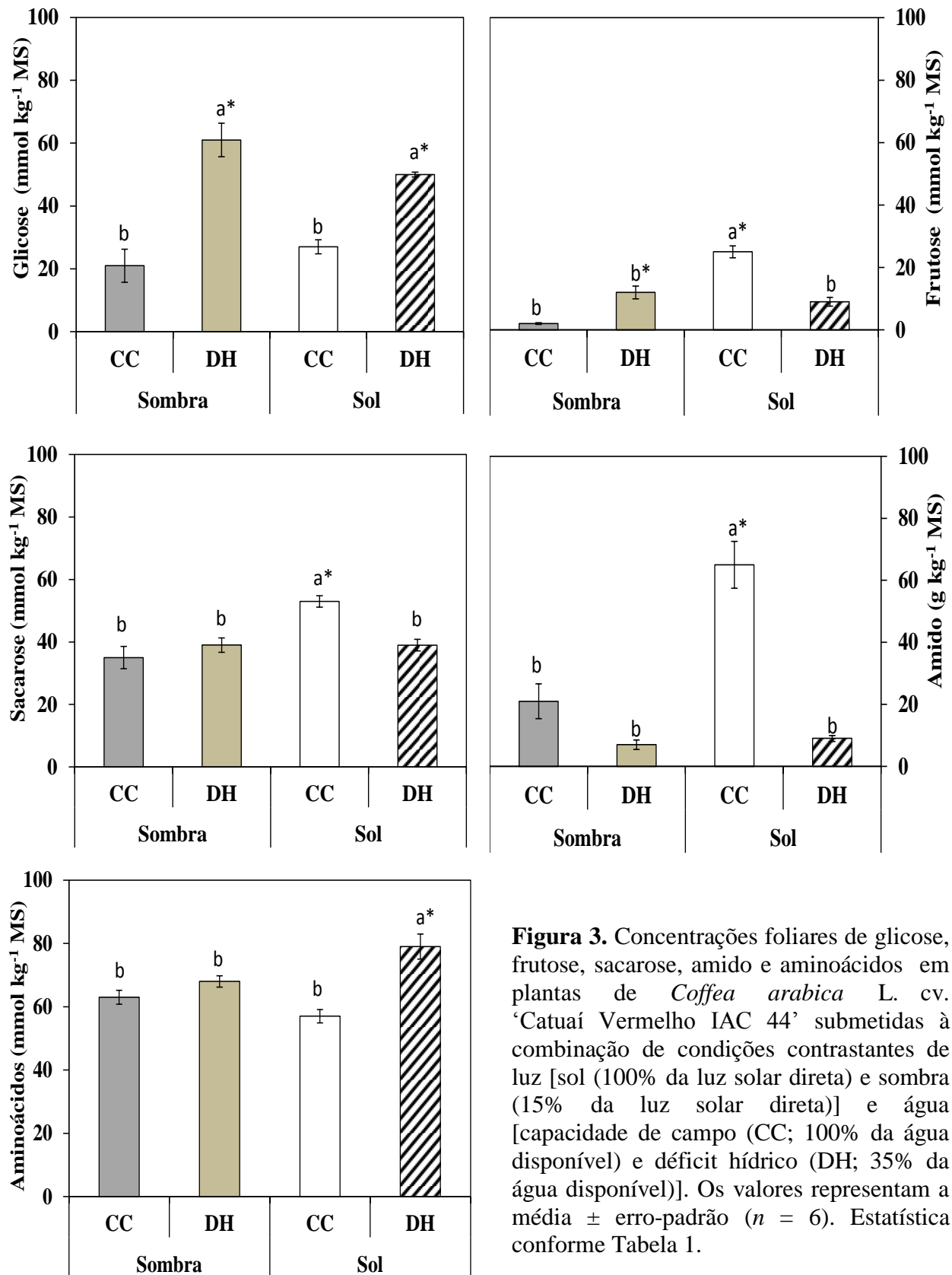
**Tabela 6.** Concentração foliar de clorofilas (Chl) e carotenoides (Car) em plantas de *Coffea arabica* L. cv. ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)].

Parâmetros	Sombra		Sol	
	CC	DH	CC	DH
Chl (a + b) (g kg <sup>-1</sup> MS)	8,9 ± 0,8 <sup>a</sup>	9,7 ± 0,7 <sup>a</sup>	5,2 ± 0,39 <sup>b</sup>	6,1 ± 0,8 <sup>b</sup>
Chl (a + b) (g m <sup>-2</sup> )	0,5 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,05 <sup>a</sup>
Car (g kg <sup>-1</sup> MS)	1,4 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,10 <sup>b</sup>	1,3 ± 0,09 <sup>a</sup>
Car (g m <sup>-2</sup> )	0,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>
Chl a/b	2,3 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>a</sup>
Chl/Car	6,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,3 <sup>b</sup>

Estatística conforme Tabela 1.

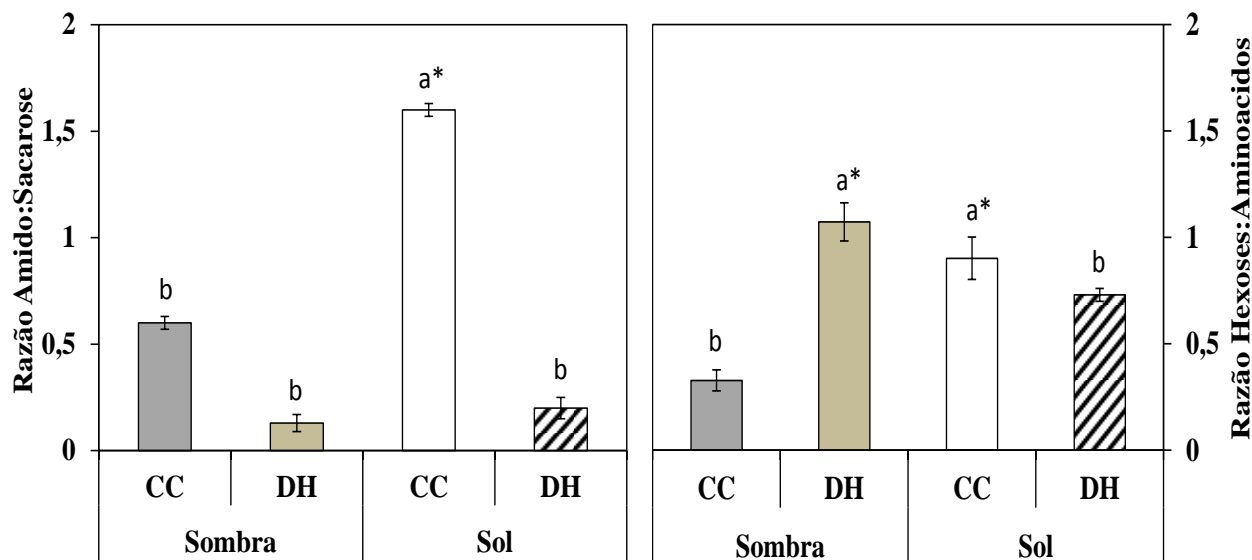
### 3.6 Concentrações de carboidratos e aminoácidos

Sob disponibilidade hídrica adequada, não houve diferenças significativas nas concentrações foliares de glicose, sacarose e aminoácidos (Figura 3) nas plantas nos dois ambientes lumínicos. Por outro lado, as concentrações de frutose e amido foram marcadamente superiores nas plantas ao sol em relação às das plantas à sombra. Em relação aos regimes hídricos em um mesmo ambiente lumínico, nas plantas à sombra sob DH, em relação às plantas ao sol, observaram-se aumentos significativos nas concentrações de glicose (67%), frutose (84%) e sacarose (34%), sem diferenças significativas nos teores de amido e aminoácidos. Nas plantas ao sol observou-se aumento na concentração de glicose (22%) e de aminoácidos (39%), e reduções nos teores de frutose (64%) e amido (87%), sem diferenças no teor de sacarose.



**Figura 3.** Concentrações foliares de glicose, frutose, sacarose, amido e aminoácidos em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho IAC 44' submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)]. Os valores representam a média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 6$ ). Estatística conforme Tabela 1.

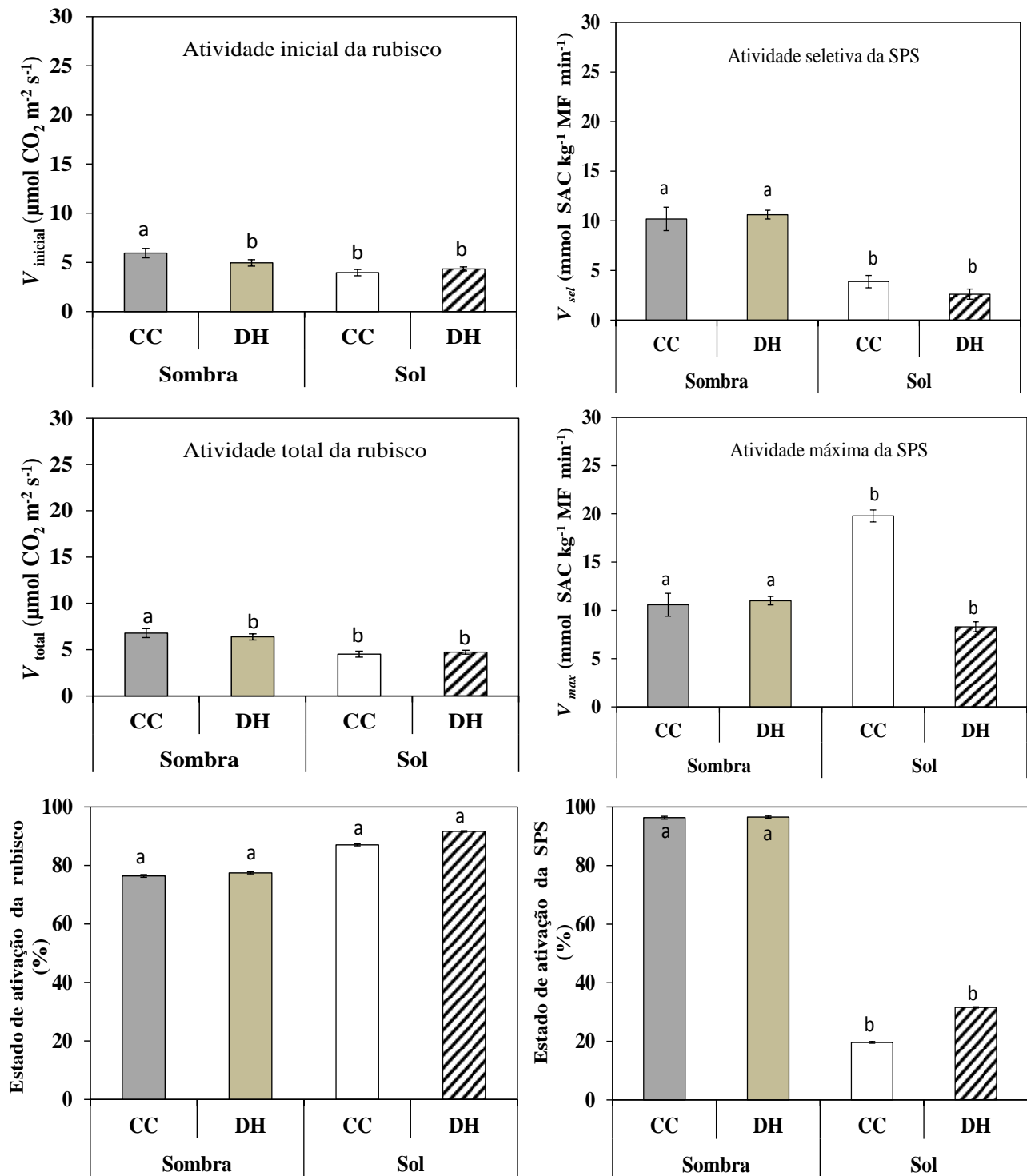
Sob DH, houve um decréscimo de 79 e 88% na razão amido: sacarose nas plantas ao sol e à sombra, respectivamente, em relação à CC. Nas plantas sob DH, não se encontraram diferenças significativas na razão hexoses: aminoácidos nas plantas ao sol, mas houve um aumento de 234% dessa razão nas plantas à sombra, quando comparadas com as plantas irrigadas. Por outro lado, comparadas com as plantas à sombra, as plantas ao sol exibiram aumentos de 166% na razão amido: sacarose, e de 181% na razão hexoses: aminoácidos, sob plena irrigação (Figura 4).



**Figura 4.** Razões amido:sacarose e hexose:aminoácidos em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho IAC 44' submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)]. Os valores representam a média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 6$ ). Estatística conforme Tabela 1.

### 3.7 Enzimas do metabolismo de carboidratos

A atividade inicial ( $V_{inicial}$ ), a atividade total ( $V_{total}$ ) e o estado de ativação (EA) da Rubisco foram similares entre as plantas de cada regime hídrico dentro de um mesmo ambiente lumínico (Figura 5). À CC, comparadas com as plantas ao sol, as plantas à sombra apresentaram tendência de maiores  $V_{inicial}$  e  $V_{total}$ , mas sem alteração proporcional em EA da Rubisco.



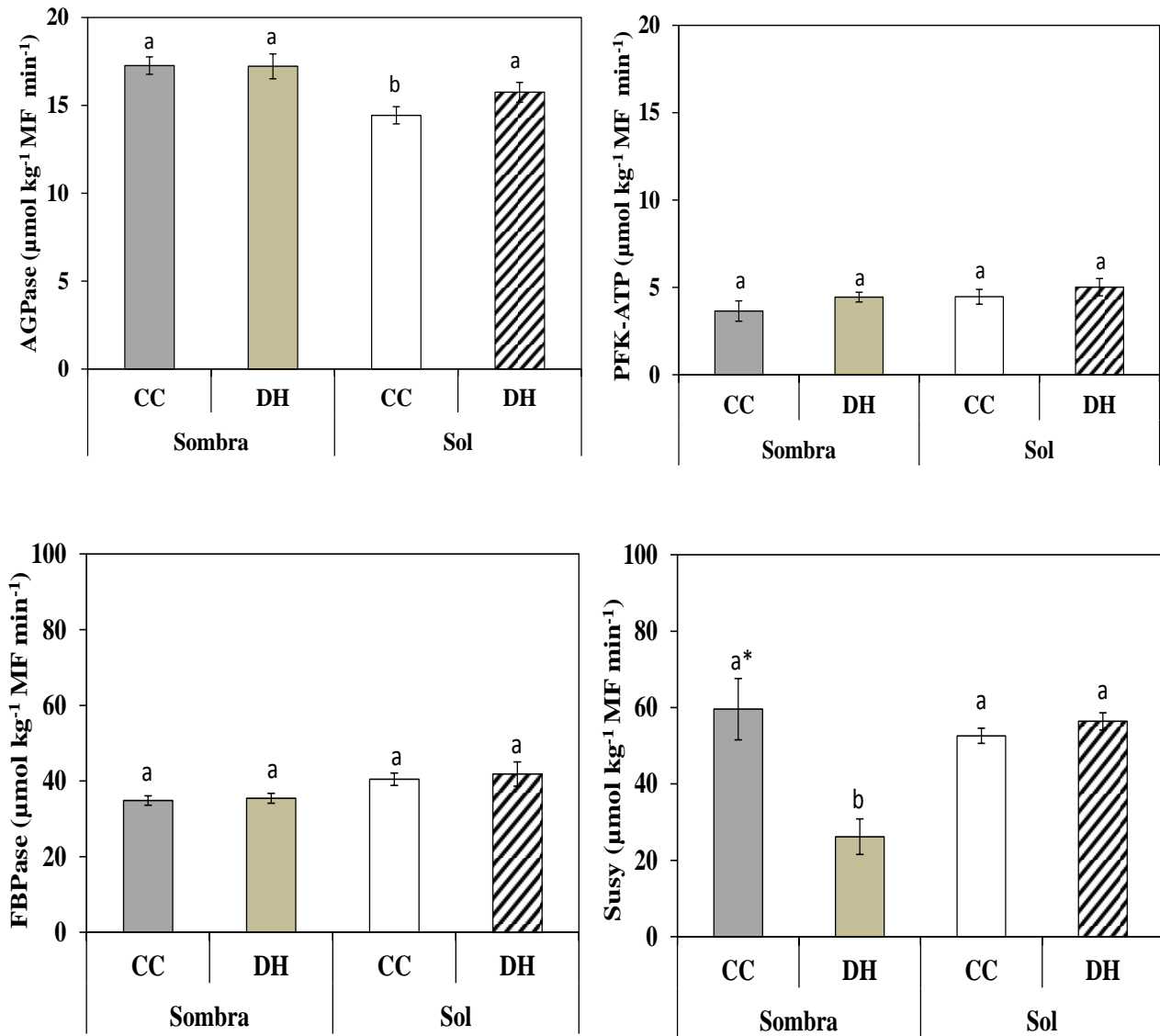
**Figura 5** Atividade das enzimas rubisco e sintase da sacarose-fosfato (SPS) e seus estados de ativação em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho IAC 44' submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)]. Os valores representam a média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 6$ ). Estatística conforme Tabela 1.

A atividade catalítica seletiva ( $V_{sel}$ ) da SPS, sob disponibilidade hídrica adequada, foi maior nas plantas à sombra, em contraste com a atividade catalítica máxima ( $V_{max}$ ), que foi maior nas plantas ao sol. Sob DH, observou-se uma redução em  $V_{max}$ , somente nas plantas ao sol, ao contrário de  $V_{sel}$ , cujos valores não se alteraram nas plantas de nenhum dos dois ambientes lumínicos. Observou-se um decréscimo significativo em EA da SPS nas plantas ao sol, comparadas com as plantas à sombra (Figura 5).

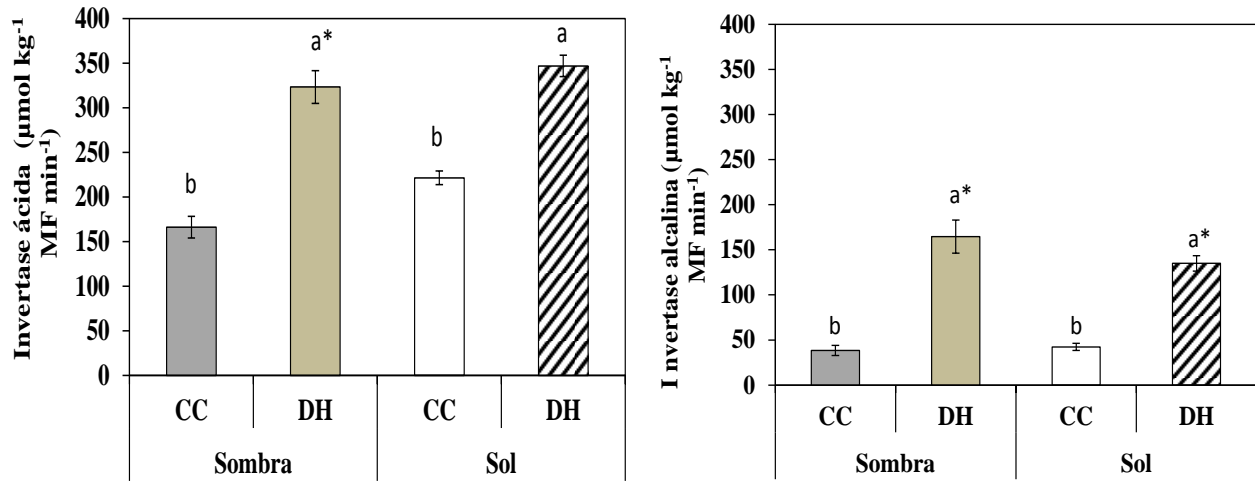
Independentemente do ambiente lumínico, não foram verificadas diferenças significativas na atividade da SuSy nas plantas irrigadas. Em relação aos regimes hídricos em um mesmo ambiente lumínico, nas plantas à sombra, o DH acarretou decréscimo na atividade da SuSy de 117%, sem alterações significativas nas plantas ao sol (Figura 6). Sob disponibilidade hídrica adequada, comparadas com as plantas à sombra, nas plantas ao sol houve um decréscimo de 21% na atividade da AGPase. Sob DH, não houve diferenças significativas na atividade da AGPase nas plantas nos dois ambientes lumínicos (Figura 6). A atividade da FBPase (enzima-chave na biossíntese de sacarose) e a atividade da PFK-ATP (enzima descrita como o principal ponto de controle de todo o fluxo glicolítico) não responderam a quaisquer dos tratamentos aplicados (Figura 6).

Nas plantas irrigadas, a atividade da invertase ácida foi 33% maior nas plantas ao sol em relação à das plantas à sombra, enquanto a atividade da invertase alcalina se manteve inalterada, independentemente da disponibilidade de luz. Nas plantas à sombra, comparando-se os tratamentos hídricos, observou-se um aumento da atividade da invertase ácida (95%) e da invertase alcalina (331%) sob DH. Resultados semelhantes foram observados sob DH nas plantas ao sol, apresentando um aumento de 56 e 221% na atividade das invertases ácida e alcalina, respectivamente (Figura 7).





**Figura 6.** Atividades das enzimas fosfatase da frutose-1,6-bifosfato (FBPase), sintase da sacarose (SuSy), pirofosforilase da ADP-glicose (AGPase) e fosfofrutocinase dependente de ATP (PFK-ATP) em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuai Vermelho IAC 44' submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)]. Os valores representam a média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 6$ ). Estatística conforme Tabela 1.



**Figura 7.** Atividade da invertase ácida e invertase alcalina em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho IAC 44' submetidas à combinação de condições contrastantes de luz [sol (100% da luz solar direta) e sombra (15% da luz solar direta)] e água [capacidade de campo (CC; 100% da água disponível) e déficit hídrico (DH; 35% da água disponível)]. Os valores representam a média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 6$ ). Estatística conforme Tabela 1.

#### 4. DISCUSSÃO

De modo geral, os valores de fotossíntese diferiram significativamente em relação aos ambientes lumínicos e hídricos (Tabela 3). As reduções nos valores de  $A$  sob déficit hídrico, em maior extensão nas plantas a pleno sol que à sombra, comparadas com as plantas irrigadas, foram acompanhadas com reduções em  $g_s$ , e na razão  $C_i/C_a$ , indicando que a fotossíntese foi limitada pelo fechamento estomático. Estas observações são comparáveis com as apresentadas por DaMatta *et al.* 1997 e Oliveira (2009) para *C. arabica* cv. ‘Catuaí Vermelho’. Os decréscimos de  $A$  nas plantas cultivadas a pleno sol, comparadas com as plantas à sombra, sob disponibilidade hídrica adequada, foram também acompanhados de reduções em  $g_s$ , sem alterações na razão  $C_i/C_a$  (Tabela 3), o que pode sugerir a ocorrência de limitações não-estomáticas à fotossíntese. Os valores apresentados da razão  $F_v/F_m$  na antemanhã nas plantas à sombra estiveram dentro de uma faixa ótima (0,79-0,81), relatada por Björkman e Demmig (1987). Os decréscimos nas razões  $F_v/F_m$  e especialmente na razão  $F_v/F_0$  (Tabela 4) nas plantas ao sol, sob disponibilidade hídrica adequada, sugere que danos fotoinibitórios nos centros de reação no FSII também podem ter afetado o desempenho fotossintético. Registre-se que a razão  $F_v/F_0$  é um indicador mais sensível para estimar a fotoinibição que a razão  $F_v/F_m$  (Lima *et al.*, 1999; Maxwell e Johnson, 2000); portanto, os decréscimos substanciais naquela razão indicam ocorrência de fotoinibição crônica, isto é, limitações fotoquímicas à fotossíntese. Resultados semelhantes foram relatados por DaMatta *et al.* (1997) e Pompelli *et al.* (2010) para plantas de *C. arabica* cv. ‘Catuaí Vermelho’ cultivadas em vasos sob condições de inverno. Reduções persistentes na eficiência do FSII têm sido atribuídas à retenção de componentes do ciclo das xantofilas, os quais poderiam participar ativamente na dissipação de energia de excitação e, desse modo, proteger o FSII de sobre-excitação e fotodanos (Gilmore 1997). Segundo García-Plazaola *et al.* (1999), essa resposta não seria restrita a condições extremas de inverno, mas poderia ser provavelmente uma resposta geral de árvores sempre-verdes mesmo em regiões com invernos amenos, como em Viçosa.

Os maiores valores da razão  $C_i/C_a$  em plantas cultivadas a pleno sol em comparação com as plantas à sombra, sob  $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , em paralelo com decréscimos (ainda que modestos) das atividades inicial e total da rubisco, sugerem, em adi\u00e7\u00e3o, que a fotoss\u00edntese

também foi limitada por fatores bioquímicos. Adicionalmente, a taxa máxima de carboxilação da rubisco em base de área ( $V_{\text{cmax,a}}$ ) foi significativamente maior nas plantas à sombra em comparação com as plantas a pleno sol, independentemente da disponibilidade hídrica. Tomados em conjunto, estes dados contrastam com os resultados obtidos por Cavatte *et al.* (2012) que, em condições de verão, encontraram valores de fotossíntese maiores em plantas cultivadas a pleno sol em comparação com as plantas à sombra. Contudo, baixas taxas de fotossíntese no cafeeiro, em plantas a pleno sol sob disponibilidade hídrica adequada, já haviam sido demonstradas em condições do inverno no sudeste Brasileiro (DaMatta *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 2004; Chaves *et al.*, 2008).

As variáveis altura, AF, DRO e NF foram maiores nas plantas ao sol sob disponibilidade hídrica adequada, comparadas com as plantas à sombra (Tabela 1). Salienta-se que a avaliação dos parâmetros fotossintéticos e morfológicos ocorreu em junho, período onde as taxas de crescimento do cafeeiro e de fotossíntese são relativamente baixas em plantas a pleno sol (Barros e Maestri, 1974; DaMatta *et al.*, 1999, Silva *et al.*, 2004). Entretanto, a presumível maior biomassa das plantas a pleno sol, a julgar-se pelas variáveis morfológicas analisadas, fortemente indica que, no longo prazo, a fotossíntese seja maior nas plantas ao sol que à sombra (DaMatta, 2004a). Nesse contexto, apesar de os presentes dados indicarem que o sombreamento possa proteger a maquinaria fotossintética durante o inverno, o seu uso deve ser encarado com cautela ao longo das outras estações.

As concentrações médias dos pigmentos fotossintéticos, em base de massa, diferiram entre as plantas nos dois ambientes lumínicos, mas não foram influenciadas pelos regimes hídricos. Adicionalmente, aumentos em AFE foram traduzidos em incrementos da concentração de pigmentos em base de massa, conforme observado nas plantas à sombra, fato também relatado anteriormente (Martins, 2011; Cavatte *et al.*, 2012). Tais efeitos seguem o comportamento geralmente observado em plantas lenhosas, em que a estratégia de aclimatação do cafeeiro à sombra parece governada, principalmente, por alterações em AFE. Assim, folhas de sombra aumentariam a AFE e a concentração de pigmentos para aumentar sua capacidade de absorção de luz (Sack e Grubb, 2002; Feng *et al.*, 2004).

A variação na disponibilidade de umidade do solo durante o experimento foi a mesma em ambos os tratamentos de luz, sem diferenças em  $\Psi_{am}$  nos dois regime lumínicos, com a redução de AD. Respostas contrastantes foram obtidas por Cavatte *et al.* (2012), sob reduzida disponibilidade hídrica; esses autores observaram uma habilidade ligeiramente superior nas plantas ao sol em relação àquelas à sombra em termos de manutenção da hidratação de seus tecidos. Por outro lado, observaram-se, sob DH, decréscimos de  $E$  nos dois ambientes lumínicos (Tabela 2), acompanhados com decréscimos em  $g_s$ , o que sugere que *C. arabica* apresenta um eficiente controle estomático da taxa da transpiração sob condições de déficit hídrico (DaMatta 2004b). As reduções de  $K_L$ , sob DH, independentemente do ambiente lumínicos, correlacionam-se com as reduções de  $E$ . Salienta-se que  $E$  seria limitada por  $K_L$  (Tausend *et al.*, 2000). Essas respostas são similares aos resultados obtidos por Cavatte *et al.* (2012), o que pode traduzir em preservação da umidade do solo por mais tempo, dado que as plantas retiram a água do solo com uma menor intensidade devido à menor tensão transpiratória, limitada pelo fechamento estomático.

A concentração de amido marcadamente superior, sem alteração na concentração de sacarose, nas plantas a pleno sol em comparação com as plantas à sombra (Figura 3), foi acompanhada de decréscimos em  $A$  e pode, possivelmente, estar associada à retroinibição da fotossíntese pela baixa demanda dos drenos em termos de consumo de carboidratos. Estes resultados são consistentes com os encontrados por DaMatta *et al.* (1997) em *C. arabica* cv. ‘Catuaí Vermelho’ em condições de inverno. A redução do crescimento nas plantas ao sol pode gerar uma redução da força do dreno, acarretando acúmulo de carboidratos que, por seu turno, leva à redução da taxa de assimilação líquida de  $CO_2$ . Em todo caso, o acúmulo de amido ocorreu em paralelo a um decréscimo na atividade da AGPase (Figura 6), enzima-chave da biossíntese de amido, nas plantas a pleno sol. Consistente com essa afirmação, a fotossíntese e a atividade relacionada a enzimas-chave do metabolismo do carbono (AGPase) deveriam diminuir, na medida em que os produtos finais se acumulam. Sugere-se que um acúmulo de amido poderia formar grandes grãos que, por sua vez, podem diminuir a atividade inicial da rubisco (Grub e Mächler, 1990). Além disso, o desvio da fixação de  $CO_2$  para a síntese de amido pode levar a uma inibição da síntese de sacarose, que limitaria a fotossíntese pela restrição da reciclagem de fosfato para os cloroplastos (Goldschmidt e Huber, 1992). Contudo, o decréscimo da atividade

da SPS, nas plantas ao sol (Figura 5), comparadas com as plantas à sombra sob disponibilidade hídrica adequada, não foi acompanhado de alterações na atividade da FBPase (Figura 6); assim, não se pode afirmar que uma potencial retroinibição negativa da fotossíntese tenha se manifestado por acúmulo de sacarose.

Os aumentos dos níveis de glicose nos dois ambientes de luz, sob disponibilidade hídrica reduzida, comparados aos das plantas irrigadas, provavelmente ocorreram em função da degradação de amido (Figura 3). De fato, observa-se incremento no nível da razão hexoses:aminoácidos nas plantas à sombra sob DH (Figura 4), em detrimento à razão amido:sacarose, neste tratamento. Em plantas submetidas a estresse hídrico tem-se descrito que pode ocorrer degradação de amido (Quick *et al.*, 1989) como forma de aumentar os níveis de açúcares. Adicionalmente, os aumentos dos níveis de glicose, frutose e sacarose verificados em plantas sombreadas, sob disponibilidade hídrica reduzida, associado com o aumento na concentração de aminoácidos, sob déficit hídrico em plantas ao sol, são uma resposta do café ao déficit hídrico, o que pode estar associado com o mecanismo de ajuste osmótico (DaMatta *et al.*, 1997; Lawlor e Cornic, 2002; Praxedes *et al.*, 2006; Taiz e Zeiger, 2006). O ajuste osmótico é dependente, dentre outros fatores, da severidade do déficit hídrico e, principalmente, de sua taxa de imposição (Blum, 1996). Neste experimento, a lenta redução no *status* hídrico das plantas, especialmente à sombra, permitiria a ocorrência do ajuste, para evitar desidratação (Lawlor e Cornic, 2002), o que certamente contribuiria para evitar decréscimos adicionais em A.

De modo geral, o metabolismo de carboidratos, em resposta à seca, foi afetado pela imposição do déficit hídrico. A atividade da SPS, enzima-chave na síntese da sacarose, não foi afetada pelo déficit hídrico. Este resultado é consistente com o encontrado por Ronchi (2005) em plantas de *C. canephora* cultivadas em vasos, sob déficit hídrico moderado. Por sua vez, os valores obtidos para as atividades tanto das invertases ácida como da alcalina, foram similares àqueles encontradas por Praxedes *et al.* (2006) em clones de *C. canephora* susceptíveis e tolerantes à seca, sob DH. O teor de sacarose nas plantas pode ser influenciado pelo aumento das atividades das invertases, o que poderia explicar a tendência de aumento de glicose sob disponibilidade hídrica reduzida (Praxedes *et al.*, 2006). Diferentemente do esperado, o decréscimo na atividade da SuSy, sob déficit hídrico, nas plantas à sombra (Figura 6), contrasta

com os resultados observados por Ronchi (2005), que encontrou aumento da atividade dessa enzima em plantas de *C. canephora* submetidas a déficit hídrico. Possivelmente a atividade da SuSy não deve ter um papel de destaque no aumento no nível das hexoses, uma vez que as concentrações de sacarose não foram alteradas. Sob condições de seca, a atividade das enzimas que degradam a sacarose, como a invertase ácida e SuSy, aumentam (Pelleschi *et al.*, 1997; Lawlor e Cornic, 2002).

Não se observaram diferenças significativas nas atividades das invertases alcalina e ácida e da Susy comparando-se as plantas ao sol e à sombra, sob disponibilidade hídrica adequada (Figura 7). Possivelmente, a contribuição da atividade dessas enzimas seja baixa em relação ao nível de hexoses, uma vez que as concentrações de sacarose não foram alteradas. A enzima PFK-ATP, importante no metabolismo de carboidratos por catalisar uma reação na interface entre o metabolismo de hexoses e trioses, com função regulatória no fluxo glicolítico, não se alterou em resposta aos tratamentos (Figura 6), o que sugere, circunstancialmente, que não houve variações no *status* do fluxo de carbono e de fosfato dentro e fora do plastídio entre os diferentes tratamentos e/ou não ocorreram alterações na razão fosfoenolpiruvato/fosfato inorgânico, condição premente para conectar a atividade enzimática ao *status* do produto final da via glicolítica (Buchanan *et al.*, 2000).

## 5. CONCLUSÃO

Plantas cultivadas a pleno sol, independentemente da disponibilidade hídrica, apresentaram decréscimos nas taxas de fotossíntese associados a: i) limitações difusivas, devido às baixas condutâncias estomáticas; ii) limitações fotoquímicas, devido à fotoinibição crônica; e iii) limitações bioquímicas, associadas a decréscimos na atividade da rubisco e possivelmente à retroinibição da fotossíntese por acúmulo de amido, pela menor demanda do dreno. O sombreamento intenso permitiu uma melhor aclimação do cafeeiro ao déficit hídrico, permitindo uma proteção contra os efeitos das baixas temperaturas noturnas e reduzindo os efeitos negativos do excesso de energia pelos dias ensolarados, condições características do inverno da Zona da Mata mineira, em consonância com a hipótese deste estudo. Apesar de os presentes dados indicarem que o sombreamento possa, de fato, proteger a maquinaria fotossintética do cafeeiro durante o inverno, a sombra deve ser prejudicial para o desempenho fotossintético global do cafeeiro no longo prazo, especialmente porque as plantas ao sol devem ter acumulado biomassa em extensão bem superior em comparação com as plantas à sombra. Isso deve ser reflexo do maior potencial de fotossíntese e de crescimento do cafeeiro ao sol, durante a sua fase de crescimento ativo. Portanto, qualquer recomendação de adoção do sombreamento como uma prática de manejo visando à maximização da produção do cafeeiro deve ser encarada com cautela.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

Barros RS, Maestri M (1974) Influência dos fatores climáticos sobre a periodicidade do crescimento vegetativo do café (*Coffea arabica* L.) *Revista Ceres* 21: 268-279.

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

Björkman O, Demming B (1987) Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origin. *Planta* 170: 489-504.

Blum A (1996) Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation* 20: 135-148.

Buchanan BB, W Gruissem, Jones RL (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiology. Rockville, 1367 p.

Burrell MM, Mooney PJ, Blundy M, Carter D, Wilson F, Green J, Blundy K, Rees TA (1994) Genetic manipulation of 6-phosphofructokinase in potato tubers. *Planta* 194: 95-101.

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

Chaves ARM, Ten-Caten A, Pinheiro H A, Ribeiro A DaMatta F (2008) Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. *Trees* 22: 351-361.

DaMatta FM, Maestri M, Barros RS (1997) Photosynthetic performance of two coffee species under drought. *Photosynthetica* 34: 257-264.

DaMatta FM, Amaral JAT, Rena AB (1999) Growth periodicity in trees of *Coffea arabica* L. in relation to nitrogen supply and nitrate reductase activity. *Field Crops Research* 60: 223-229.

DaMatta FM, Rena AB (2002) Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. In: Zambolim L (ed). *O Estado da arte de tecnologias na produção de café*. Editora UFV. Viçosa, pp. 93-135.

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

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

DaMatta FM (2004b) Exploring drought tolerance in coffee: a physiological approach with some insights for plant breeding. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 16:1-6.

DaMatta FM, Ramalho JDC (2006) Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 18: 55-81.

DaMatta FM, Rodriguez N (2007) Producción sostenible de cafetales en sistemas agroforestales del neotropico: Una visión agronómica y ecofisiológica. *Agronomía Colombiana* 25: 113-123.

DaMatta FM, Ronchi CP, Maestri M, Barros RS (2007) Ecophysiology of coffee growth and production. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19: 485-510.

Dias PC, Araújo WL, Moraes GABK, Barros RS, DaMatta FM (2007) Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. *Journal of Plant Physiology* 164: 1639-1647.

Fassio LH, Silva AES (2007) Importância econômica e social do café conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, De Muner LH (eds.), *Café Conilon*, Seag/Incaper, Vitória, pp. 37-49.

Feng YL, Cao KF, Zhang JL (2004) Photosynthetic characteristics, dark respiration, and leaf mass per unit area in seedlings of four tropical tree species grown under three irradiances. *Photosynthetica* 42: 431-437.

García-Plazaola J, Artetxe U, Becerril JM (1999) Diurnal changes in antioxidant and carotenoid composition in the Mediterranean sclerophyll tree *Quercus ilex* (L) during winter. *Plant Science* 143: 125-133.

Geigenberger P, Stitt M (1993) Sucrose synthase catalyses a readily reversible reaction *in vivo* in developing potato tubers and other plant tissues. *Planta* 189: 329-339.

Gilmore AM (1997) Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplast and leaves. *Physiologia Plantarum* 99: 197-209.

Goldschmidt EE, Huber SC (1992) Regulation of photosynthesis by end-product accumulation in leaves of plants storing starch, sucrose, and hexose sugars. *Plant Physiology* 99: 1443-1448.

Grub A, Mächler F (1990) Photosynthesis and light activation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in the presence of starch. *Journal of Experimental Botany* 41:1293-1301.

Huber JL, Huber SC, Nielsen TH (1989) Protein phosphorylation as a mechanism for regulation of spinach leaf sucrose phosphate synthase activity. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 270: 681-690.

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

Lawlor DW, Cornic G (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 275-294.

Lichthenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-381.

Lima JD, Mosquim PR, DaMatta FM (1999) Leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in *Phaseolus vulgaris* as affected by nitrogen and phosphorus deficiency. *Photosynthetica* 37: 113-121.

Martins SCV (2011) Limitações e potencialidades da fotossíntese no cafeeiro em função da irradiância. Dissertação de Mestrado. UFV, 47 p.

Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 345: 659-68.

Mohotti AJ, Lawlor DW (2002) Diurnal variation of photosynthesis and photoinhibition in tea: effects of irradiance and nitrogen supply during growth in the field. *Journal of Experimental Botany* 53: 313-322.

Nagakura J, Shigenaga H, Akama A, Takahashi M (2004) Growth and transpiration of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) and Hinoki cypress (*Chamaecyparis obtuse*) seedlings in response to soil water content. *Tree Physiology* 24: 1203-1208.

Oxborough K, Baker NR (1997) Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components calculation of  $qP$  and  $Fv'/Fm'$  without measuring  $Fo'$ . *Photosynthesis Research* 54: 135-142.

Oliveira AG (2009) Aclimação da maquinaria fotossintética do cafeeiro cultivado em diferentes níveis de luz e de disponibilidade hídrica. Dissertação de Mestrado. UFV, 40 p.

Pelleschi S, Rocher JP, Prioul JL (1997) Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. *Plant, Cell and Environment* 20: 493-503.

Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves ARM, Fontes EPB, Loureiro ME (2004) Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science* 167: 1307-1314.

Pompelli M, Martins SCV, Antunes W Chaves ARM, DaMatta FM (2010) Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. *Journal of Plant Physiology* 167: 1052-1060.

Praxedes SC, DaMatta FM, Loureiro ME, Ferrão MAG, Cordeiro AT (2006) 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.

Quick P, Siegl G, Neuhaus E, Feil R, Stitt M (1989) Short-term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose-phosphate synthase. *Planta* 177: 535-546.

Ronchi C (2005) Aclimação da maquinaria fotossintética do cafeeiro à alteração da força-dreno e à seca, em função da restrição do volume radicular. Tese de Doutorado. UFV, 55 p.

Sack L, Grubb PJ (2002) The combined impacts of deep shade and drought on the growth and biomass allocation of shade-tolerant woody seedlings. *Oecologia* 131: 175-185.

Sharkey TD, Vassey TL, Vanderveer PJ, Vierstra RD (1991) Carbon metabolism enzymes and photosynthesis in transgenic tobacco having excess phytochrome. *Planta* 185: 287-296.

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

Taiz L, Zeiger E (2006) *Plant Physiology*. Fourth Edition. Benjamin Cummings Publ. Sunderland, 559 p.

Tausend PC, Meinzer FC, Goldstein G (2000) Control of transpiration in three coffee cultivars: the role of hydraulic and crown architecture. *Trees* 14:181-190.

Tiessen A, Hendriks JHM, Stitt M, Branscheid A, Gibon Y, Farre EM, Geigenberger P (2002) Starch synthesis in potato tubers is regulated by post-translational redox modification of ADP-glucose pyrophosphorylase: A novel regulatory mechanism linking starch synthesis to the sucrose supply. *Plant Cell* 14: 2191-2213.

USDA (2011) Coffee: world markets and trade. Foreign Agricultural Service 1-21.

Zrenner R, Salanoubat M, Willmitzer L, Sonnewald U (1995) Evidence of the crucial role of sucrose synthase for sink strength using transgenic potato plants (*Solanum tuberosum*, L.). *Plant Journal* 7: 97-107.