

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE SACAROSE NO
TEOR E NO METABOLISMO DE
CARBOIDRATOS EM MUDAS DE CAFÉ
(*Coffea arabica* L.) COM DIFERENTES NÍVEIS
DE RESERVAS DE CARBONO**

JOSÉ CARLOS DA SILVA

2000

51115

MFU.35999

JOSÉ CARLOS DA SILVA

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE SACAROSE NO TEOR
E NO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS EM
MUDAS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) COM
DIFERENTES NÍVEIS DE RESERVAS DE
CARBONO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2000



**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Silva, José Carlos da

Efeito da aplicação de sacarose no ter e no metabolismo de carboidratos em mudas de café (*Coffea arabica* L.) com diferentes níveis de reservas de carbono / José Carlos da Silva. -- Lavras : UFLA, 2000.

26 : il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Café. 2. Sacarose. 3. Pulverização. 4. Metabolismo de carboidrato. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.73891

JOSÉ CARLOS DA SILVA

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE SACAROSE NO TEOR
E NO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS EM
MUDAS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) COM
DIFERENTES NÍVEIS DE RESERVAS DE
CARBONO**

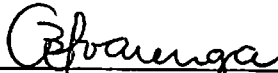
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 14 de Novembro de 2000

Prof. José Donizeti Alves

Prof. Paulo Tácito Gontijo Guimarães

Prof. Luiz Edson Mota de Oliveira



Prof. Amauri Alves de Alvarenga
Orientador

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2000

*Aos meus pais,
Saulo Messias e Lázara M. Messias
Aos meus irmãos,
Paulo Sérgio, João Ismael, Aluízio Antônio, Tony Marcio
e
Elbya Messias, pelo amor e carinho de sempre*

DEDICO

*À minha querida esposa e companheira,
Carla Mirian por estar ao meu lado em todos os
momentos,
dando incentivo, compreensão e amor.
Aos meus filhos,
Kaique e Karoline, pelo amor e compreensão*

OFEREÇO

**ÀS VEZES SENTIMOS PODEROSOS E
ATÉ MESMO MELHORES DO QUE
OUTROS, POR TERMOS UM TÍTULO,
ESTA ATITUDE DEMONSTRA
A NOSSA FRAQUEZA E INFERIORIDADE
PERANTE O MUNDO.**

**A SABEDORIA DO HOMEM ESTÁ CONTIDA
EM UMA GOTA D'ÁGUA, ENQUANTO SUA
IGNORÂNCIA EM UM OCEANO.**

"Provérbio Chinês"

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia, pela oportunidade de realização do curso.

A CAPES e CNPq, pela concessão de bolsas de estudo.

Ao professor Amauri Alves de Alvarenga pela orientação.

Ao professor José Donizeti pela orientação e amizade.

Aos professores, Nelson e Marcelo pelo apoio.

Ao professor Renato Paiva, pela amizade e aos demais professores, pelos ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos funcionários do Setor: Dartagnam, Izonel, Evaristo, Leninha, Joel, Odorêncio e Mauro.

Aos colegas de curso.

Aos meus amigos: Claudia, Paulo Artur, Nair, Rupert, Marina, Patricia, Moizes, Lucineia, Bruno, Nelson, Disney, Leandro, Júlio, Leonardo, Thiago e Ana.

Aos meus amigos que me ajudaram indiretamente: Maria Rachel, Leandro Addad, Luiza Helena, Lara, Eliane, Ana, Rogério. Enfim, a todos que contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

AGRADEÇO

BIOGRAFIA

José Carlos da Silva, filho de Saulo Messias da Silva e Lázara Marques M. da Silva, nasceu em 28 de maio de 1967, em Peirópolis, município de Uberaba-MG. Iniciou e concluiu os estudos primários na escola Combinada Frederico Peiró. De 1979 a 1982 cursou o ensino fundamental na escola municipal Gastão Mesquita Filho em Ponte Alta, município de Uberaba-Mg. Em 1983, transferiu-se para a Escola Santa Catarina de Sena em Uberaba onde concluiu o ensino médio. Em 1988, foi aprovado no vestibular para Engenharia Agrônômica, na Fundação Educacional de Ituiutaba (FEI) e Instituto Superior de Ensino e Pesquisa de Ituiutaba (ISEPI)-MG. Em 1990, foi aprovado novamente no vestibular para biologia, na mesma Instituição de Ensino, concluindo os dois em 1992. Em 1997, deu início ao curso por tutoria à distância em Biologia pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Em 1998, ingressou no curso de mestrado em Agronomia e Fisiologia Vegetal na Universidade Federal de Lavras (UFLA), concluindo-o em 14 de novembro de 2000.

Lista de anexos

- Anexo 1 - Médias de açúcares solúveis totais e invertase ácida de parede em função do nível de reserva de carbono das mudas e dos tratamentos efetuados durante o experimento..... 25**
- Anexo 2 - Médias de invertase neutra e invertase ácida do vacúolo em função do nível de reserva de carbono das mudas e dos tratamentos efetuados durante o experimento. 25**
- Anexo 3 - Média de sacarose sintase em função do nível de reserva de carbono das mudas e dos tratamentos efetuados durante o experimento 26**
- Anexo 4 - Médias de condutância estomática, atividade fotossintética e transpiração foliar em função do nível de reserva de carbono das mudas e dos tratamentos efetuados durante o experimento 26**

RESUMO

SILVA, José Carlos da. Efeito da aplicação de sacarose no teor e no metabolismo de carboidratos em mudas de café (*Coffea arabica* L.) com diferentes níveis de reserva de carbono: UFLA, 2000. 1p. (Dissertação de mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar o efeito da pulverização de açúcar via folha, nos teores endógenos e no metabolismo de carboidratos em mudas de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) com baixo (baixo) e alto (normal) nível de reservas de carbono. As pulverizações ocorreram nas concentrações de 0,5%, 1% de sacarose e água como testemunha. Os resultados mostram que a aplicação de sacarose a 1% aumentou a concentração endógena de açúcares solúveis totais em plantas depauperadas, como também aumentou as atividades das enzimas: invertase ácida da parede, invertase ácida do vacúolo, invertase neutra do citosol e sacarose sintase. Em plantas com níveis normais de carboidratos não foi observada nenhuma alteração nos teores dos açúcares solúveis totais, como também nas atividades de tais enzimas. Independentemente dos tratamentos aplicados e do estado fisiológico das plantas, não foram observadas diferenças na transpiração, que tiveram a mesma tendência aos da condutância estomática, mostrando desta forma, o controle estomático da transpiração. A fotossíntese foi estimulada a 0,5% e 1% em plantas depauperadas, o que não aconteceu com plantas normais. Conclui-se, portanto, que a pulverização de sacarose em mudas de cafeeiros só é eficiente tratando-se de plantas depauperadas, na concentração de 1%.

Comitê orientador: Amauri Alves de Alvarenga- UFLA/DBI (Orientador); José Carlos Donizeti Alves- UFLA/DBI; Luiz Edson Mota de Oliveira-UFLA/DBI; Paulo Tácito Gontijo Guimarães- EPAMIG/DCS-UFLA

1. INTRODUÇÃO

Os cafeicultores, à semelhança de muitos outros produtores agrícolas, adotam determinadas técnicas de manejo que na maioria das vezes, não têm fundamentação científica. Estes procedimentos afetam a produtividade, e ainda aumentam o custo de produção, sem, contudo, dar certeza de que tais investimentos proporcionam retornos financeiros reais. A situação fica mais grave, quando alguns técnicos, acreditando em tais benefícios, estimulam os cafeicultores a adotarem práticas que não foram suficientemente testadas. ² Uma destas práticas é a pulverização, via folha, com solução diluída de açúcar, como fonte de carbono para as plantas.)

Uma vez que a única forma de aquisição do carbono pelas plantas é a via fotossintética e como este processo é facilmente afetado por condições edafoclimáticas adversas, muitos técnicos ou cafeicultores acreditam que o fornecimento exógeno de carbono, por meio da aplicação de sacarose ou de melão possa suprir eficientemente este elemento na planta Santinato et al. (1998). Mangini et al, (1998).

³ [No Brasil, a primeira pesquisa envolvendo a pulverização de sacarose no cafeeiro foi desenvolvida por Segura-Monge (1989) com o objetivo de verificar o envolvimento deste açúcar na manutenção das condições hídricas das plantas.) Ao contrário do que se esperava, em condições de desidratação este autor ⁴ verificou que as plantas pulverizadas com sacarose em concentrações de até 15% mostraram diminuição do teor de açúcares solúveis totais. ⁵ Esta diminuição foi atribuída a uma possível mobilização do açúcar para as raízes ou como substrato respiratório pelo estímulo à respiração.)

foram realizadas utilizando-se um pulverizador costal com pressão constante, aplicando-se, em média, 20 ml de solução por muda, tanto na parte abaxial, como na adaxial das folhas. Todas as soluções continham ESTRAVON 0,05% (v/v) como adesivo e umectante. Após 4 horas, foram avaliadas a atividade fotossintética, a transpiração e a condutância estomática através de sistemas de trocas gasosas IRGA, modelo LCA-4, em folhas totalmente iluminadas e expandidas.

As coletas das amostras nas folhas expandidas sem a presença de nervuras foram feitas para os ensaios das invertases e açúcares solúveis totais e nas folhas jovens (folhas em crescimento), para o ensaio da sintase sacarose com intervalos de 40 minutos, até completar quatro horas após a aplicação dos tratamentos.

Após a coleta, as amostras de folhas foram cuidadosamente lavadas para a retirada do açúcar de suas superfícies, em seguida, mergulhadas em nitrogênio líquido a fim de paralisar o metabolismo e armazenadas a -80°C para posteriores análises químicas.

2.3 Análises químicas

2.3.1 Extração e ensaio da atividade das invertases

As amostras foram maceradas em graal com areia na presença de meio de extração constituído de tampão fosfato ($50 \mu\text{mol.L}^{-1}$) pH 7,5, 2-mercaptoetanol ($1 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e MnSO_4 ($5 \mu\text{mol.L}^{-1}$), previamente resfriado, na proporção de 10 mL do meio por grama de tecido. As fases solúvel e insolúvel foram separadas por centrifugação a $20.000 \times g$ por 20 minutos a 4°C , sendo o sobrenadante coletado e armazenado no gelo até o uso e quantificação das invertases ácida do

vacúolo e neutra do citosol.

Para a invertase ácida da parede celular, o precipitado foi ressuspensionado em 10 mL do mesmo tampão fosfato de extração diluído 40 vezes, seguido de nova centrifugação. Essa lavagem foi realizada por duas vezes. Finalmente, o "pellet" foi ressuspensionado no mesmo tampão diluído, em igual volume ao obtido para as invertases solúveis. O extrato contendo partículas maiores foi filtrado com oito camadas de gaze. As alterações ajustadas foram feitas de acordo com Lowell et al. (1989). As atividades das invertases foram determinadas em meio de reação constituída de 750 μL de tampão fosfato 200 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ pH 7,5 (invertase neutra), de 750 μL de tampão acetato de potássio 200 mol.L^{-1} pH 4,5 (invertase ácida do vacúolo e da parede celular), 200 μL de solução de sacarose 200 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ e 50 μL do extrato cru. Essa mistura foi incubada a 37°C durante 40 minutos e a reação interrompida pela adição de 1 mL de DNS (Miller, 1959). Em seguida, foi aquecida em banho-maria a 100°C por 5 minutos e, após atingir a temperatura ambiente, procedeu-se à leitura em espectrofotômetro a 540 nm. A quantificação baseou-se na curva padrão obtida da solução de glicose na faixa de 0 a 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

2.3.2 Extração e ensaio da sintase da sacarose

As amostras de folhas foram maceradas em graal com nitrogênio líquido e areia lavada na presença de tampão HEPES-NaOH (50 mmol.L^{-1}) pH 7,0, 2 mmol.L^{-1} de MgCl_2 , 2 mmol.L^{-1} de DDT e 1 mmol.L^{-1} de EDTA, na proporção de 1 grama de tecido por 10 mL de tampão de extração (Déjardin et al., 1997). O material insolúvel foi descartado após centrifugação a 20.000 x g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado para o ensaio enzimático.

A atividade da enzima foi quantificada em meio de reação contendo

tampão MES 64 μmol (500 μL) pH 6,0, sacarose 125 μmol (300 μL), 0,5 μmol de uridina difosfato (UDP) (190 μL) e extrato enzimático (10 μL) (Chourey,1981). Para tanto, os tubos contendo a mistura de reação foram transferidos do gelo para banho-maria a 37°C onde permaneceram por 25 minutos, quando então a reação foi paralisada pela adição de reagente de Nelson; seguida de leitura em espectrofotômetro a 510 nm (Nelson, 1944). A quantificação dos açúcares redutores baseou-se na curva padrão obtida partir de uma solução de glicose na faixa de 0 a 1,2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

2.3.3 Extração e quantificação de açúcares solúveis totais

As amostras foram maceradas em graal com areia na presença de tampão de extração, constituído de tampão fosfato (50 mmol.L^{-1}), pH 7,5, 2-mercaptoctanol (1 mmol.L^{-1}) e MnSO_4 (5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$), previamente resfriado, na proporção de 10 mL do meio por grama de tecido. A quantificação dos açúcares solúveis totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Yemm e Willis (1954), utilizando-se alíquotas de 50 μL do extrato, 950 μL de água destilada e 2,0 mL do reagente antrona (20 mg de reagente antrona, 0,5 mL de água destilada e 10 mL de H_2SO_4 concentrado).

Após a homogeneização, as amostras foram aquecidas em banho-maria a 100°C por três minutos e, ao atingirem a temperatura ambiente, procedeu-se à leitura em espectrofotômetro a 620 nm. A quantificação dos açúcares solúveis totais baseou-se numa curva padrão obtida de uma solução de glicose na faixa de 0 a 1,0 mg.mL^{-1} .

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores foliares de açúcares solúveis totais caíram gradativamente para 3,8 mg (gMS)⁻¹ durante o período de 96 horas em que as mudas de caféiros permaneceram no escuro (Figura 1). No mesmo intervalo de tempo e sob um fotoperíodo de 12 horas, as plantas mantiveram um teor médio e constante de 7,2 mg (gMS)⁻¹. Apesar de ficarem com baixos teores de carboidratos, devido ao consumo pela respiração, as mudas permaneceram em bom estado vegetativo após a permanência no escuro.

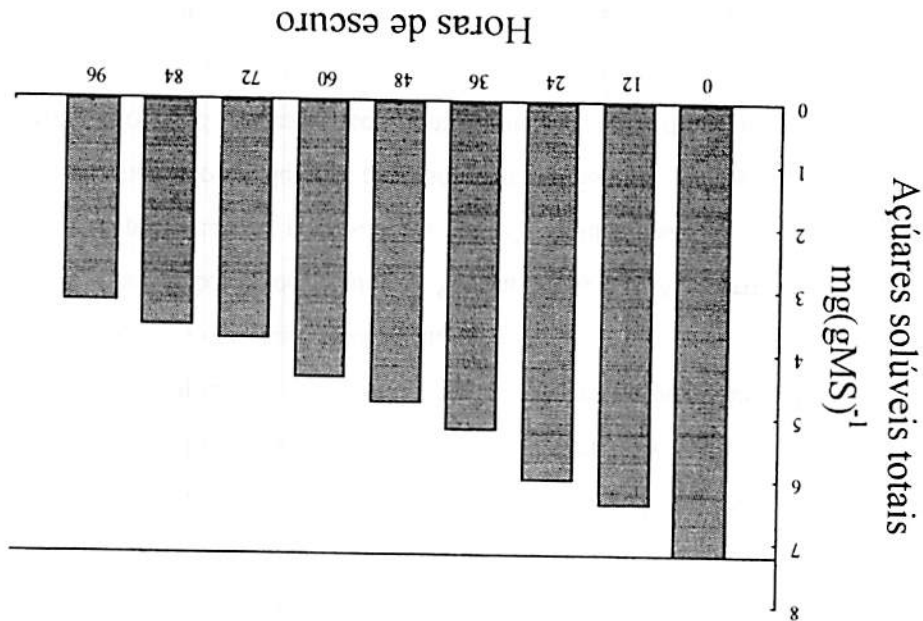


Figura 1 - Teores foliar de açúcares solúveis totais em mudas de caféiros após 96 horas de escuro e sob fotoperíodo de 12 horas (linha contínua).

Para a obtenção de mudas consideradas neste trabalho com baixo teor de carboidratos, adotou-se o critério de expor as mesmas ao escuro, por um período

de 72 horas} As mudas consideradas normais foram aquelas submetidas a 72 horas de fotoperíodo consecutivo de 12 horas. Essas mudas apresentavam, comparativamente, uma concentração de carboidratos duas vezes maior em relação à aquelas que permaneceram no escuro.

30 [De maneira geral, os teores de açúcares solúveis totais nas folhas das mudas de cafeeiros consideradas como plantas normais, até um período de 4 horas da pulverização com água, sacarose a 0,5% ou a 1,0%, não diferiram estatisticamente entre si (Figura 2). Ao final deste período, os teores encontravam-se nos mesmos valores daqueles verificados antes da aplicação dos tratamentos.]

31 [Por outro lado, nas mudas consideradas como depauperadas, observou-se um aumento nos teores foliares de açúcares solúveis totais a partir dos 40 e 160 minutos da aplicação em pulverização com soluções de sacarose a 1,0 e 0,5, respectivamente] (Figura 2). Neste intervalo de tempo, as pulverizações com o açúcar a 1% sempre proporcionaram maiores teores de açúcares solúveis totais do que as pulverizações na concentração de 0,5%.

Em condições de desidratação, Segura-Monge (1989) verificou que, cinco dias após a pulverização com sacarose a 15% e suspensão da rega, houve um decréscimo nos teores de açúcares solúveis totais nas folhas das mudas de cafeeiros, atribuindo-se esse decréscimo à mobilização do açúcar para outras partes da planta ou ao seu envolvimento como substrato respiratório. Neste experimento, o tempo de amostragem de 4 horas foi muito curto para a constatação desses mesmos efeitos. 32 [Entretanto, os resultados mostram claramente que a aplicação de sacarose, via folha, em mudas de cafeeiros só foi eficiente em aumentar os teores endógenos do açúcar quando elas se encontravam depauperadas, com baixas reservas de carboidratos.]

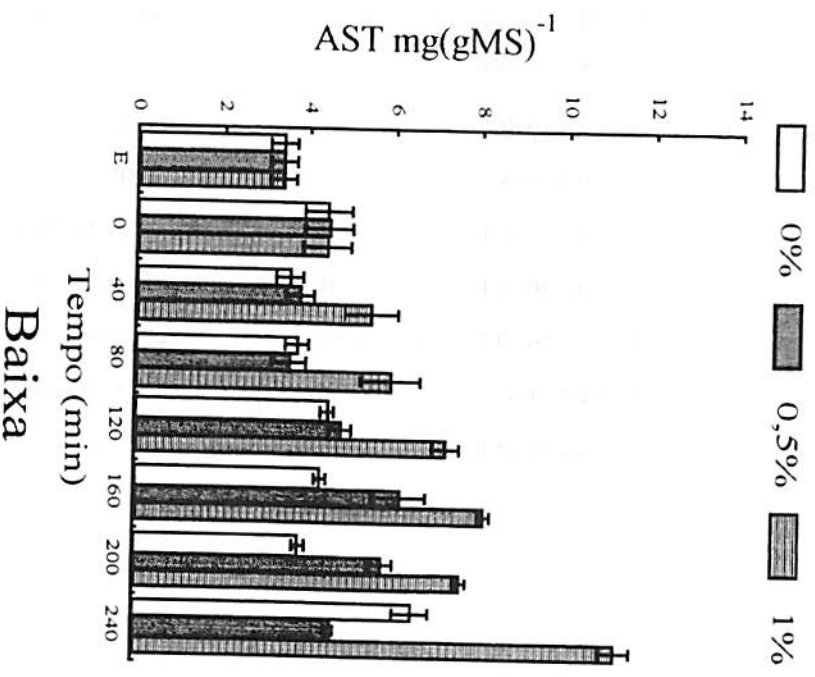
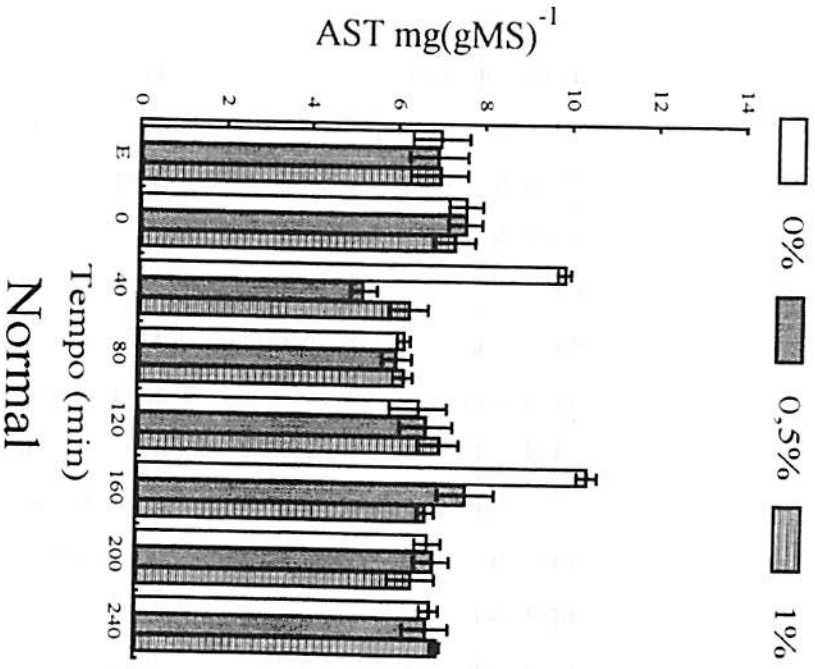


Figura 2- Tcores de açúcares solúveis totais (AST) em folhas de mudas de cafeeiros sob duas concentrações endógenas de carboidratos, normal e baixa, após a aplicação de sacarose nas concentrações 0,5%, 1% e água, como testemunha (As barras indicam o intervalo de confiança da média a 95%). E= Escuro; 0= 75 min luz.

É comum ouvir relatos contraditórios dos cafeicultores quanto aos efeitos da pulverização de açúcar na lavoura. Para alguns, não foram observados quaisquer efeitos. Para outros, essa prática proporcionou plantas mais vigorosas e folhas com uma coloração verde mais intensa. Possivelmente, os primeiros estariam pulverizando lavouras em bom estado vegetativo, enquanto os outros o faziam o mesmo em lavouras depauperadas.

33 [Os resultados apresentados permitem inferir que, para lavouras bem manejadas esta prática é inócua, uma vez que a sacarose não vai ser absorvida pelas folhas.] Por outro lado, em lavouras depauperadas, a pulverização com sacarose principalmente a 1%, deve elevar o nível do açúcar no tecido foliar. Não se sabe ainda, se o incremento do teor de açúcar vai proporcionar aumentos de produtividade nas lavouras depauperadas.

Para Rena e Fávoro (2000), a pulverização não deve desempenhar qualquer atividade metabólica no cafeeiro e levar a aumentos de produtividade. Os dados das pesquisas, como foi demonstrado na introdução deste estudo, também levam a crer que não há efeitos positivos na produtividade do cafeeiro, uma vez que em nenhum caso, foram observadas diferenças significativas favoráveis aos tratamentos que receberam sacarose (Lima et al., 1998; Mangini et al., 1998; Santinato et al., 1998). Além do mais, nenhum cafeicultor relatou aumentos de produtividade após adotar essa prática. Novos estudos relacionando produtividade e pulverização de sacarose em cafeeiros, com diferentes níveis de carboidratos ou condições fisiológicas deverão esclarecer essas interrogações.

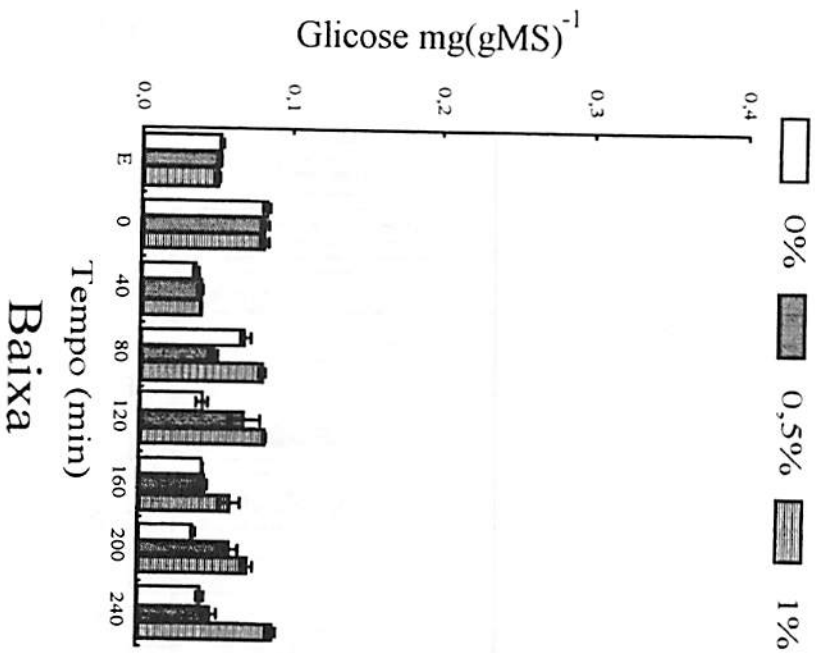
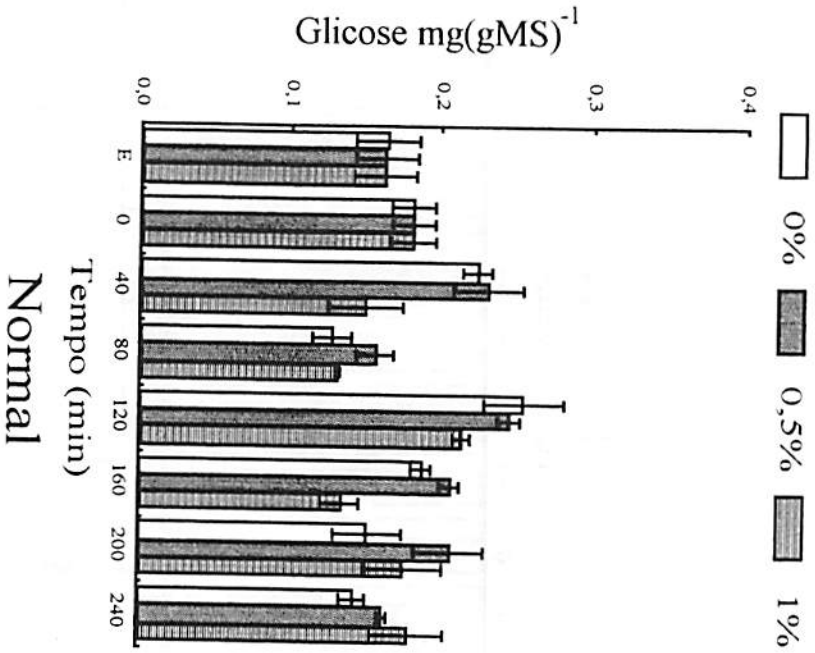


Figura 3-Atividade da invertase ácida da parede em folhas de mudas de caféiros sob duas concentrações endógenas de carboidratos, normal e baixa, após a aplicação de sacarose nas concentrações 0,5%, 1% e água, como testemunha; em 40 minutos de ensaio (As barras indicam o intervalo de confiança da média a 95%). E= Escuro; 0= 75 min luz.

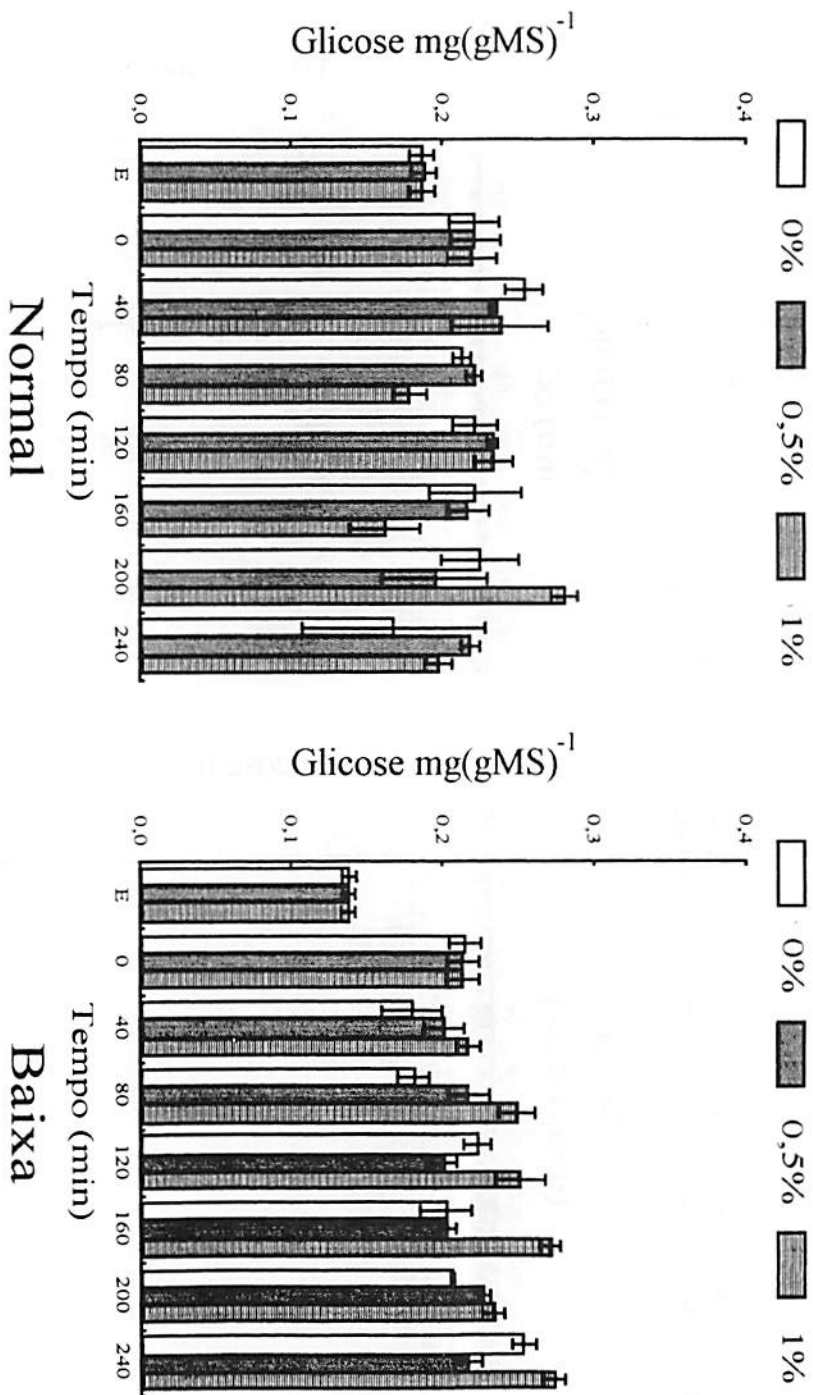


Figura 4-Atividade da invertase neutra em folhas de mudas de cafeeiros sob duas concentrações endógenas de carboidratos, normal e baixa, após a aplicação de sacarose nas concentrações 0,5%, 1% e água, como testemunha, em 40 minutos de ensaio (As barras indicam o intervalo de confiança da média a 95%). E= Escuro; 0= 75 min luz.

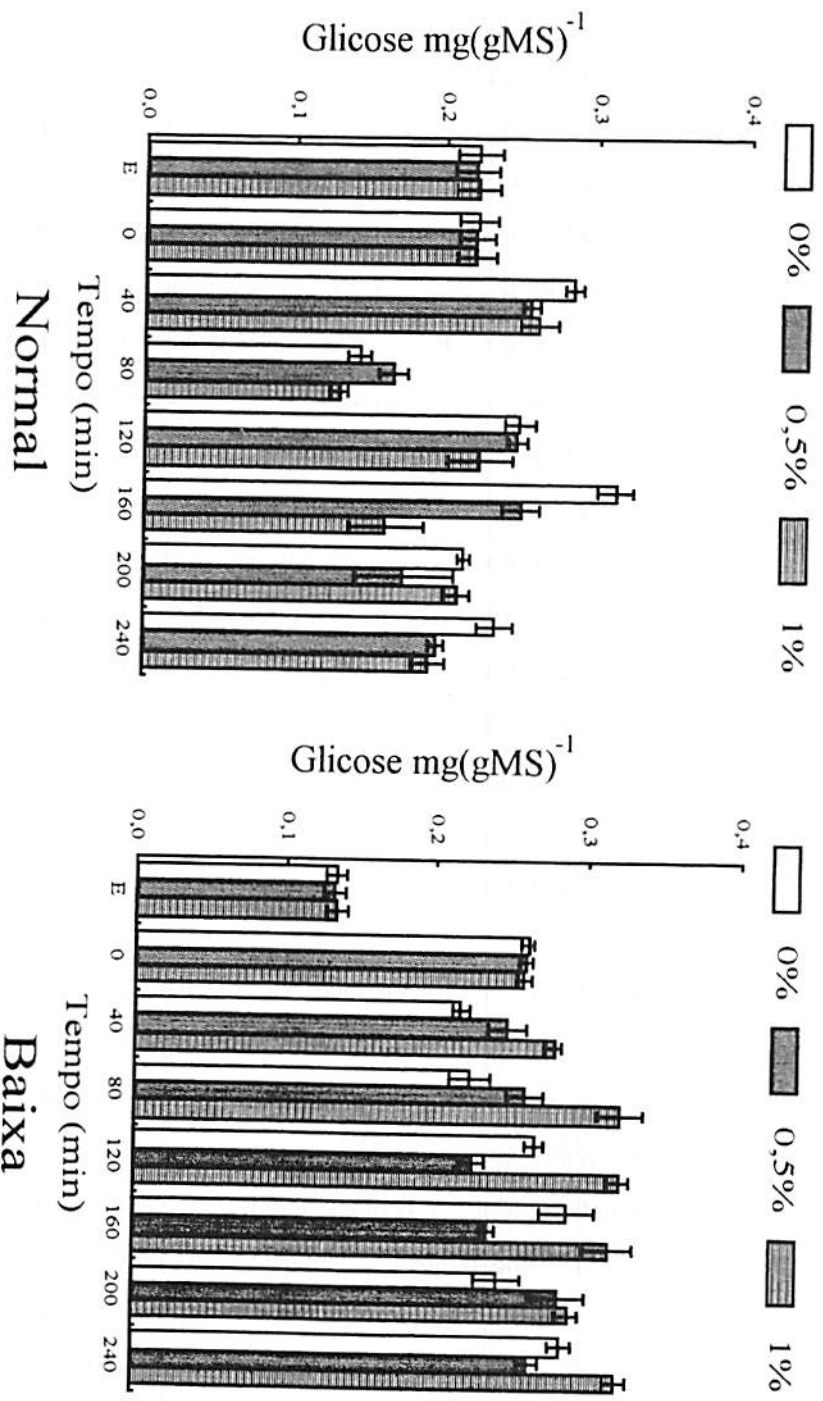


Figura 5-Atividade da invertase ácida do vacúolo em folhas de mudas de cativeiros sob duas concentrações endógenas de carboidratos, normal e baixa, após a aplicação de sacarose nas concentrações 0,5%, 1% e água, como testemunha, em 40 minutos de ensaio (As barras indicam o intervalo de confiança da média a 95%). E= Escuro; 0= 75 min luz.

34 [Observa-se que, em plantas normais, onde não foram verificadas alterações nos teores de açúcares solúveis totais com as diferentes pulverizações, de maneira geral não se verificaram também diferenças nas atividades das invertases (Figuras 3, 4 e 5) e da sintase da sacarose (Figura 6). Contudo, em plantas depauperadas, somente a pulverização das plantas com sacarose a 1% permitiu a observação de um padrão definido. Maiores aumentos nas atividades em relação à testemunha foram observados, concomitantemente ao aumento nos teores de açúcares solúveis totais a partir dos 40 minutos de pulverização para as invertases ácidas da parede (Figura 3), invertase neutra (Figura 4), ácida do vacúolo (Figura 5), e sintase da sacarose (Figura 6).

35 [A elevação na atividade de enzimas que degradam a sacarose em folhas que receberam este carboidrato a 1% pode estar associada ao aumento na concentração do açúcar endógeno proporcionado por esta pulverização. Estes resultados demonstram que parte importante do açúcar "extra" foi assimilada na própria folha, pois já está comprovado, para outras espécies de plantas, que, na maioria das vezes, a utilização da sacarose depende de sua clivagem em reação catalisada pelas invertases ou sintase da sacarose (ap Rees, 1984., Kruger et al 1990).

A importância dessas enzimas em tecidos com franca atividade de crescimento, nos quais hexoses são altamente exigidas como substratos para diversos processos metabólicos como glicólise, ciclo dos ácidos tricarbóxicos, biossíntese de amido, triacil glicérides ou outras moléculas do metabolismo primário e secundário, tem sido demonstrada (Gayler e Glasziou, 1972; Isla et al., 1992; (Ho, 1988), como também a sintase da sacarose na expansão e divisão celular (Winter e Huber, 2000). Entretanto, não deve ser descartada a hipótese de que a outra fração desse açúcar pode ter sido exportada para tecidos drenos, como as raízes, por exemplo).

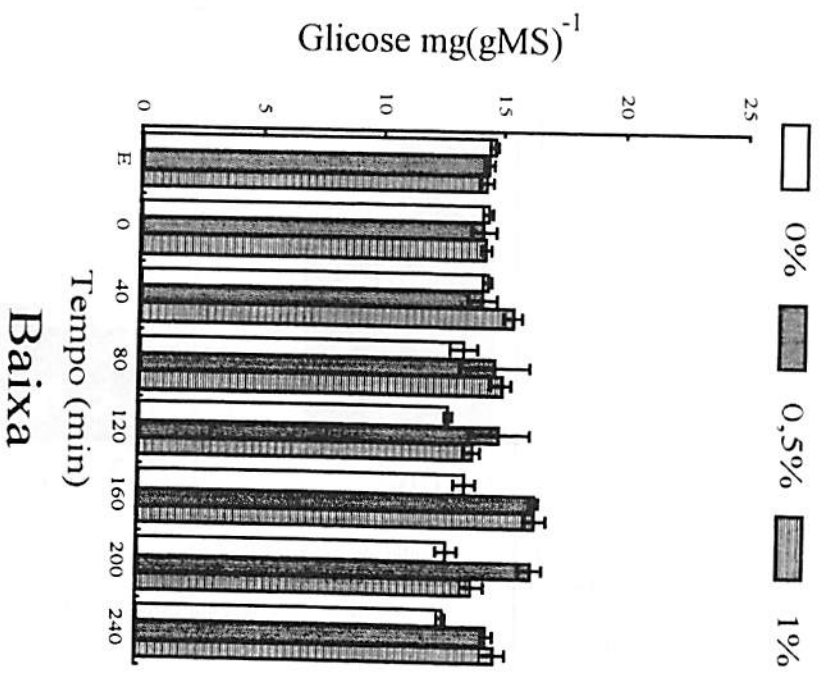
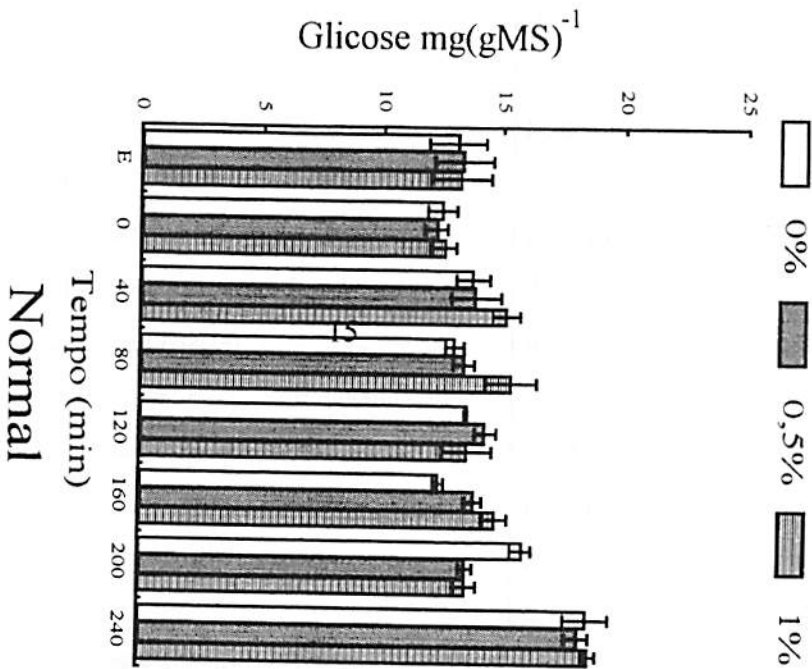


Figura 6- Atividade da sintase sacarose (SUSY) em folhas de mudas de cafeeiros sob duas concentrações endógenas de carboidratos, normal e baixa, após a aplicação de sacarose nas concentrações 0,5%, 1% e água, em 40 minutos de ensaio (As barras indicam o intervalo de confiança da média a 95%). E= Escuro; 0= 75 min luz.

Independentemente dos tratamentos aplicados e do estado fisiológico das plantas, não foram observadas diferenças estatísticas na transpiração das plantas ao final do experimento (Figura 7). Resultados semelhantes foram observados na análise da condutância estomática (Figura 8), demonstrando um controle estomático da transpiração. Segura-Monge (1989), verificou que pulverização com sacarose a 5 ou 10% levou à manutenção de um maior potencial hídrico em plantas de café sob condições de desidratação, possivelmente pelo efeito físico causado pela formação de uma camada do açúcar sobre a superfície foliar, reduzindo a perda de água por transpiração. Os resultados verificados neste experimento comprovam a afirmação de Rena e Fávoro (2000) de que pulverizações até 1% não devem funcionar como anti-transpirante, possivelmente por não formar esta camada.

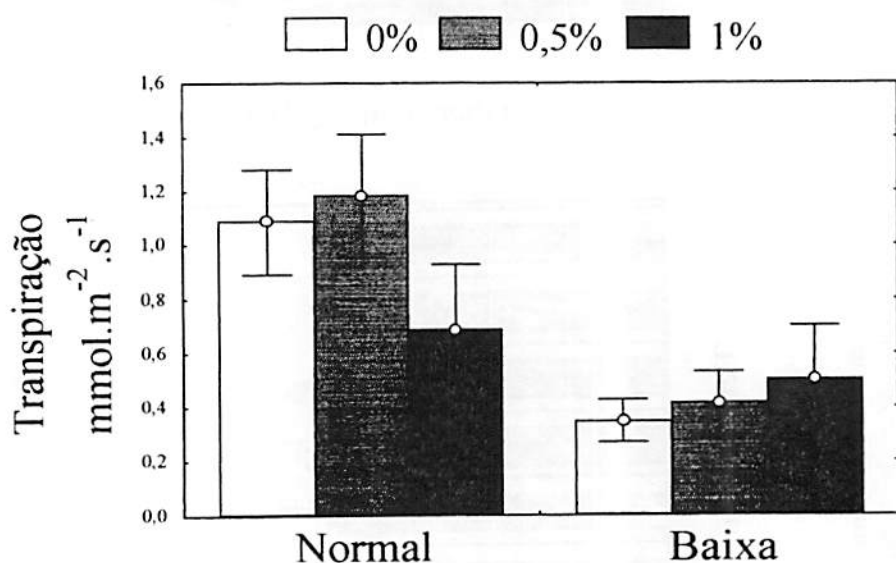


Figura 7-Transpiração foliar de mudas de cafeeiros sob duas concentrações endógenas de carboidratos, normal e baixa, após a aplicação de sacarose nas concentrações 0,5%, 1% e água como testemunha, aos 240 minutos (As barras indicam o intervalo de confiança da média a 95%).

Para várias culturas, tem-se observado uma forte inibição da fotossíntese pelo acúmulo de carboidratos (glicose, frutose e frutanas) (Azcón-Bieto, 1983; Foyer, 1988). Entretanto, os resultados desse experimento mostram que o acúmulo de açúcares solúveis totais experimentados pelas plantas depauperadas, quando pulverizadas com sacarose a 0,5 e 1,0% (FIGURA 2), estimulou a fotossíntese, em comparação com a testemunha (Figura 9). Deve-se levar em consideração que enzimas de degradação de sacarose foram imediatamente ativadas quando da aplicação desses tratamentos (FIGURAS 3, 4 e 5) não permitindo com isto, um grande acúmulo dos carboidratos a ponto de causar uma retroinibição. Por outro lado, em mudas normais, este estímulo na fotossíntese não foi observado (Figura 9).

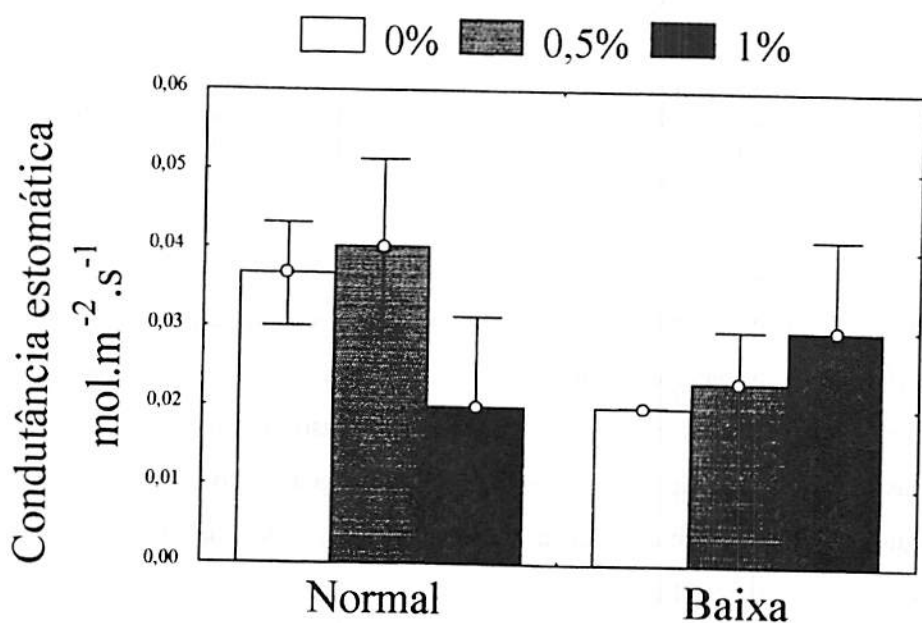


Figura 8 - Condutância estomática de mudas de cafeeiros sob duas concentrações endógenas de carboidratos, normal e baixa, após a aplicação de sacarose nas concentrações 0,5%, 1% e água como testemunha, aos 240 min (As barras indicam o intervalo de confiança da média a 95%).

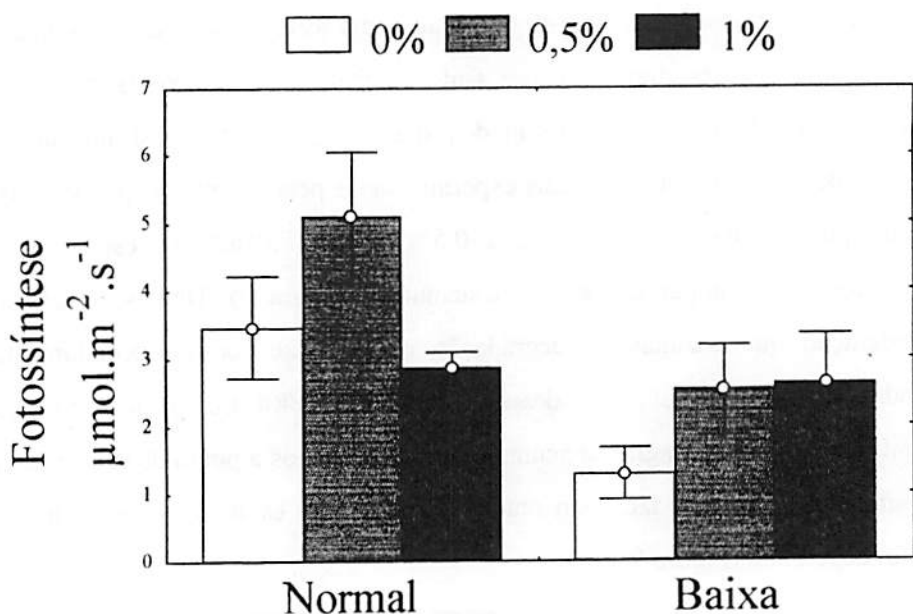


Figura 9- Atividade fotossintética em mudas de cafeeiros sob duas concentrações endógenas de carboidratos, normal e baixa, após a aplicação de sacarose nas concentrações 0,5%, 1% e água como testemunha, aos 240 minutos (As barras indicam o intervalo de confiança da média a 95%).

34 Em plantas cuja concentração de carboidratos seja normal, não foram observados aumentos na concentração endógena de açúcares quando da pulverização com sacarose e nem diferenças significativas na atividade das enzimas (Figura 2, 3, 4 e 5). Possivelmente, neste caso, a não utilização, pelas plantas de concentração normal desse açúcar exógeno no tecido pode ter impedido a atividade fotossintética, enquanto em plantas depauperadas este aumento foi observado (Figura 9).

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e nas condições observadas durante a realização dos experimentos, pôde-se concluir que:

38 [- a pulverização de cafeeiros com sacarose via folha somente foi efetiva em mudas com baixas reservas e na concentração de 1%;

- provou aumento nos teores de açúcares solúveis totais e na atividade das enzimas invertases e sintase da sacarose;

- a atividade da sintase da sacarose não variou muito entre as mudas normais e de baixa concentração, pelo fato de as análises terem sido feitas em folhas em crescimento (drenos);

- a fotossíntese foi estimulada em plantas com baixa concentração de reserva, após terem sido pulverizadas com solução de sacarose a 0,5% e 1%;

- no que se refere à transpiração, não foram observadas diferenças ao final do experimento, independente do tratamento, como também no estado fisiológico das plantas. O mesmo resultado se aplica para a condutância estomática, comprovando o controle estomático da transpiração.]

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ap REES, T. Sucrose metabolism. In "Storage Carbohydrates in Vascular Plants" (D. H. Lewis, ed.), p.53-73. Cambridge University Press, Cambridge. 1984.
- AVIGAD, C. & LEWIS, D.H., Sucrose and other dissacarídeos. In: **Storage carbohydrates in vascular plants**, ed Cambridge University Press, Cambridge, UK, p.53-73. 1992.
- AZCÓN-BIETO. J. Inhibition of photosynthesis by carbohydrates in wheat leaves. **Plant Physiology**. V.73: p681-686, 1986.
- CHOUREY, P. S. Genetic control of sucrose synthetase in maize endosperm. **Molecular Genetics and Genetics**. v.134. p.372-376, 1981
- DÉJARDIN, A.; ROCHAT, C.; MAUGENEST, S. & BOUTIN, J. P. Purification, characterization and physiological role of sucrose syntase in the pea seed coat (*Pisum sativum* L.). **Planta**, v. 201, p.128-127, 1997.
- FOYER. H. C.; Feedback inhibition of photosynthesis through source-sink regulation in leaves. **Plant Physiology**. Biochemistry, 1988, v.26(4), 483-492.
- GARCIA, A. W. R; JAPIASSÚ; L. B. & FROTA, G. B. Avaliação da absorção de macro e micronutrientes, aminoácidos e açúcar na presença e ausência de surfactantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 25, 1999, Franca. Anais...Brasília: MAA_PROCAFÉ, 1999. p.325-328.
- GAYLER, K. & GLASZIOU, K. Physiological function of acid and neutral invertases in growth and sugar storage in sugarcane. **Plant Physiology**. V.27, p.25-31, 1972.

- HO, L.C. Metabolism and compartmentation of imported sugar in sink organs in regulation to sink strength. **Annual Review Plant Physiology** V.39. p.355-378,1988.
- KERR, P. S. & HUBER S. C. Coordinate control of sucrose formation in soybean leaves by sucrose-phosphate synthase and fructose-2,6-bisphosphate. **Planta**, v 170, p197-204. 1987
- KRUGER, N. J. Dennis, D.T., & Turpin, D. M., Carbohydrate synthesis and degradation. In "Plant Physiology, biochemistry and molecular biology". Longman, Harlow. p. 56-76, 1990.
- ISLA, M. I.; LEAL, D. P.; VATTUONE, M. A.; & SAMPIETRO, A. R. Cellular localization of the invertase, proteinaceous inhibitor and lectin from potato tubers. **Phytochemistry**, v.31, p. 1115-1118, 1992.
- LIMA, D. M; CUNHA, R. L; SILVA, B; MONTEIRO, J. V; MORII, A S; CARVALHO J. G. de & GUIMARÃES; R. J. Efeito de adubações foliares em pré e pós-florada na cultura do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 24, 1998, Poços de Caldas. **Anais...Brasília: MAA-PROCAFÉ**, 1998. p. 193-194.
- LOWELL, C.A.; TOMLINSON, P.T. & KOCH, K.E. Sucrose-metabolizing enzymes in transport tissues and adjacent sink structures in developing citrus fruit. **Plant Physiology**, v.90, p. 1394-1402, 1989.
- MANGINI, D; PAULA, M., B, de CARVALHO, J.G; DIAS, F. P; & GUIMARÃES, R.J. Efeito da aplicação de boro e zinco na presença de sacarose, uréia e cloreto de potássio via foliar na nutrição mineral de produção do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 24, 1998, Poços de Caldas. **Anais. Brasília:MAA_PROCAFÉ**, 1998. p. 198-200.

- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Biochemistry**, New York, v, 31, p. 426-428, 1959.
- NELSON, N. A.; Photometry adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 153, p. 375-380, 1944.
- SANTINATO, R., FERNANDES, A. L. T., & PEREIRA, E.M. Efeito do adubo foliar nutritivo na produção do cafeeiro em solo de cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 24, 1998b, Franca. **Anais. Brasília: MAA-PROCAFÊ**, 1998b. p.63-64.
- SEGURA-MONGE, A. Efeito da pulverização com uréia, cloreto de potássio e sacarose sobre a transpiração, potencial hídrico e nitrogênio, potássio e açúcares nas folhas de *Coffea arabica* L. submetidas a déficit de água. Viçosa: UFV, 1989.38p. (Tese de mestrado).
- RENA, A. B., & FÁVARO, J. R. A. Nutrição do cafeeiro via folha. **Café- produtividade, qualidade e sustentabilidade**.v.1. p.149-208, 2000.
- YEMM, E. W.; & WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**. London, v. 90, n.3, p.508-514, 1954.
- WINTER, H & HUBER, S. C. Regulation of sucrose metabolism in higher Plants: Localization and regulation of activity of key enzymes. **Critical Reviews in Plant Sciences**. V.19, p.31-67. 2000.

ANEXOS

Anexo 1-Médias de açúcares solúveis totais e invertase ácida de parede em função do nível de reserva de carbono das mudas e dos tratamentos efetuados durante o experimento

| Minuto | Açúcares solúveis totais | | | | | | Invertase ácida de parede | | | | | |
|--------------|--------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | Normal | | | Baixa | | | Normal | | | Baixa | | |
| | 0% | 0,5% | 1% | 0% | 0,5% | 1% | 0% | 0,5% | 1% | 0% | 0,5% | 1% |
| 0 | 7,577 | 7,563 | 7,330 | 4,437 | 4,457 | 4,420 | 0,182 | 0,182 | 0,182 | 0,083 | 0,082 | 0,082 |
| 40 | 9,870 | 5,230 | 6,287 | 3,557 | 3,807 | 5,467 | 0,224 | 0,232 | 0,150 | 0,037 | 0,040 | 0,040 |
| 80 | 6,183 | 6,023 | 6,157 | 3,737 | 3,550 | 5,939 | 0,128 | 0,157 | 0,132 | 0,070 | 0,049 | 0,081 |
| 120 | 6,526 | 6,717 | 7,007 | 4,466 | 4,780 | 7,235 | 0,255 | 0,246 | 0,215 | 0,041 | 0,070 | 0,084 |
| 160 | 10,430 | 7,653 | 6,733 | 4,327 | 6,153 | 8,127 | 0,188 | 0,207 | 0,134 | 0,042 | 0,043 | 0,061 |
| 200 | 6,793 | 6,890 | 6,420 | 3,840 | 5,743 | 7,580 | 0,153 | 0,207 | 0,177 | 0,037 | 0,060 | 0,073 |
| 240 | 6,853 | 6,770 | 7,017 | 6,465 | 4,580 | 11,163 | 0,143 | 0,163 | 0,180 | 0,042 | 0,049 | 0,090 |
| Total | 7,748 | 6,692 | 6,707 | 4,404 | 4,724 | 7,133 | 0,182 | 0,199 | 0,167 | 0,050 | 0,056 | 0,073 |

Anexo 2-Médias de invertase neutra e invertase ácida do vacúolo em função do nível de reserva de carbono das mudas e dos tratamentos efetuados durante o experimento

| Minutos | Invertase neutra | | | | | | Invertase ácida do vacúolo | | | | | |
|--------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | Normal | | | Baixa | | | Normal | | | Baixa | | |
| | 0% | 0,5% | 1% | 0% | 0,5% | 1% | 0% | 0,5% | 1% | 0% | 0,5% | 1% |
| 0 | 0,221 | 0,222 | 0,220 | 0,215 | 0,214 | 0,214 | 0,221 | 0,220 | 0,220 | 0,261 | 0,260 | 0,259 |
| 40 | 0,254 | 0,234 | 0,238 | 0,180 | 0,201 | 0,217 | 0,285 | 0,257 | 0,262 | 0,217 | 0,248 | 0,278 |
| 80 | 0,213 | 0,221 | 0,179 | 0,181 | 0,217 | 0,249 | 0,143 | 0,166 | 0,129 | 0,223 | 0,260 | 0,322 |
| 120 | 0,222 | 0,233 | 0,234 | 0,223 | 0,201 | 0,252 | 0,250 | 0,248 | 0,224 | 0,266 | 0,225 | 0,321 |
| 160 | 0,222 | 0,217 | 0,163 | 0,202 | 0,203 | 0,271 | 0,313 | 0,251 | 0,162 | 0,288 | 0,236 | 0,315 |
| 200 | 0,225 | 0,195 | 0,281 | 0,206 | 0,228 | 0,233 | 0,214 | 0,174 | 0,209 | 0,243 | 0,282 | 0,289 |
| 240 | 0,168 | 0,219 | 0,198 | 0,254 | 0,217 | 0,274 | 0,235 | 0,196 | 0,191 | 0,284 | 0,264 | 0,320 |
| Total | 0,218 | 0,220 | 0,216 | 0,209 | 0,211 | 0,244 | 0,237 | 0,216 | 0,200 | 0,255 | 0,254 | 0,301 |

Anexo 2- Média de sacarose sintase em função do nível de reserva de carbono das mudas e dos tratamentos efetuados durante o experimento

| Minutos | Sacarose sintase | | | | | |
|--------------|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | Normal | | | Baixa | | |
| | 0% | 0,5% | 1% | 0% | 0,5% | 1% |
| 0 | 12,457 | 12,193 | 12,510 | 14,367 | 14,217 | 14,323 |
| 40 | 13,767 | 13,903 | 15,173 | 14,367 | 14,180 | 15,467 |
| 80 | 13,040 | 13,410 | 15,377 | 13,443 | 14,743 | 15,000 |
| 120 | 13,500 | 14,320 | 13,567 | 12,803 | 14,967 | 13,833 |
| 160 | 12,373 | 13,833 | 14,750 | 13,530 | 16,433 | 16,500 |
| 200 | 15,860 | 13,567 | 13,547 | 12,800 | 16,300 | 13,900 |
| 240 | 18,533 | 18,167 | 18,667 | 12,633 | 14,557 | 14,803 |
| Total | 14,219 | 14,199 | 14,799 | 13,420 | 15,057 | 14,832 |

Anexo 4- Médias de condutância estomática, atividade fotossintética e transpiração foliar em função do nível de reserva de carbono das mudas e dos tratamentos submetidos durante o experimento

| Tratamentos | Condutância estomática | | Atividade fotossintética | | Transpiração Foliar | |
|--------------|------------------------|--------------|--------------------------|--------------|---------------------|--------------|
| | Normal | Baixa | Normal | Baixa | Normal | Baixa |
| 0% | 0,037 | 0,020 | 3,470 | 1,293 | 1,087 | 0,350 |
| 0,5% | 0,040 | 0,023 | 5,083 | 2,520 | 1,183 | 0,413 |
| 1% | 0,020 | 0,030 | 2,850 | 2,610 | 0,687 | 0,503 |
| Total | 0,032 | 0,024 | 3,801 | 2,141 | 0,986 | 0,422 |

