

FÁBIO SANTOS MATOS

PLASTICIDADE ANATÔMICA E FISIOLÓGICA DE FOLHAS DE *Coffea arabica* L. EM
RESPOSTA À IRRADIÂNCIA

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

2008

FÁBIO SANTOS MATOS

PLASTICIDADE ANATÔMICA E FISIOLÓGICA DE FOLHAS DE *Coffea arabica* L.
EM RESPOSTA À IRRADIÂNCIA

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: 20 de junho de 2008

Prof^ª. Marília Contin Ventrella
(Co-Orientadora)

Prof. Raimundo Santos Barros
(Co-Orientador)

Prof. Marco Aurélio Pedron e Silva

Dr. Rogério Ferreira Ribas

Prof. Fábio Murilo DaMatta
(Orientador)

A Osório Matos e Alaide Santos, meus pais, pelo exemplo de vida e dedicação;

A Fabrício, Pedro Henrique e Júlia, meus filhos, por tudo o que significam para mim;

A Grace, minha amada, por todo amor e paciência,

Com amor,

Dedico

A Fagner e Hosana, meus irmãos, pelo carinho;

A Tereza Fonseca, Marcos Cajaíba e Francisca, meus professores, por tudo;

A meus tios Aidê e Pedro e minha sogra Socorro, pela confiança,

Ofereço

AGRADECIMENTOS

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

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

À antiga Escola de Agronomia-UFBA e a EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, pelos primeiros passos na iniciação científica.

A todos meus tios e tias, primos e primas, por sempre acreditarem em mim.

Ao Prof. Fábio, além de meu Orientador, um grande parceiro, pela orientação, paciência e exemplo profissional, pelos ensinamentos e pelo enorme empenho e dedicação na realização deste projeto.

Aos meus amigos Jutair, Hendrickson, Antônio Hélder, Cristovam, Tita, Murilo, Pino e Eduardo, na Bahia, e Diego e André, em Viçosa, pela infinita amizade e por tornarem meu mundo mais alegre e divertido.

Aos meus amigos de infância do km 100-Nova Itarana-BA.

Ao Prof. Arlicélio Paiva, José Torquato, Clóvis Peixoto, Élvis Lima, Maria Angélica e Manoel Castro pela amizade, apoio e constante incentivo.

Aos professores Marco Aurélio Pedron Silva e Raimundo Santos Barros, pela amizade, paciência e ensinamentos transmitidos durante este curso.

Aos amigos Ricardo e Fábio Vilela, por toda a amizade e companheirismo que me dedicaram, meu sincero muito obrigado.

A Elaine Cabrini, pelo carinho, compreensão e amizade.

Aos bolsistas de iniciação científica, Elaine, Ricardo, Fábio e Samuel, pela amizade e grande dedicação na execução dos experimentos.

Aos funcionários Carlos Raimundo, Cássia, Geraldo, Oswaldo, Reginaldo, Rogério Gomide, Zé Antônio e Zé Maria, pela ajuda, pelas brincadeiras e pelo carisma.

A toda nação baiana, que me concedeu aparato suficiente para conquista de novos horizontes.

BIOGRAFIA

FÁBIO SANTOS MATOS nasceu em Itapé, BA, aos 22 dias do mês de novembro de 1980. Em dezembro de 2000, concluiu o Curso de Técnico em Agropecuária, na Escola Agrotécnica Federal de Santa-Inês – EAFSI, em Santa-Inês, BA. Em janeiro de 2002, iniciou o Curso de Engenharia Agrônômica, na Universidade Federal da Bahia (UFBA), em Cruz das Almas, BA, concluindo-o em agosto de 2006. Em outubro do mesmo ano, iniciou seus estudos no curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Viçosa-UFV, em Viçosa, MG.

Índice

| | |
|--|----|
| Resumo | v |
| Abstract | vi |
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Materiais & Métodos | 3 |
| 2.1. Material vegetal e desenho experimental | 3 |
| 2.2. Características morfo-anatômicas | 4 |
| 2.3. Trocas gasosas e parâmetros de fluorescência | 4 |
| 2.4. Pigmentos fotossintéticos e nitrogênio | 5 |
| 2.5. Enzimas envolvidas no metabolismo antioxidativo | 6 |
| 2.6. Índice de plasticidade fenotípica..... | 6 |
| 2.7. Procedimentos estatísticos..... | 7 |
| 3. Resultado..... | 7 |
| 4. Discussão..... | 18 |
| 5. Conclusões | 25 |
| 6. Referências | 26 |

Resumo

MATOS, Fábio Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2008. **Plasticidade anatômica e fisiológica de folhas de *Coffea arabica* L. em resposta à irradiância** Orientador: Fábio Murilo DaMatta. Co-orientadores: Marília Contrin Ventrella e Raimundo Santos Barros

Examinaram-se parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, em folhas do cafeeiro submetidas a diferentes níveis de irradiância (folhas que interceptaram, em média, ao longo do dia, 30, 75, 300 e 750 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, correspondendo aos tratamentos T₁, T₂, T₃ e T₄, respectivamente). Morfológicamente, a área foliar unitária e, particularmente, a área foliar específica (AFE), aumentaram nas folhas mais sombreadas. Sob baixa irradiância, as folhas do cafeeiro exibiram parênquimas paliçádico e lacunoso menos desenvolvidos que nas folhas de sol, e maior abundância de espaços intercelulares, resultando em folhas mais finas e menos densas e, portanto, com maior AFE. A taxa de assimilação líquida decresceu com a redução da disponibilidade de luz, de 7,2 para 2,3 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{s}^{-1}$, comparando-se as folhas de T₄ e T₁. A irradiância de compensação foi, em média, 88% maior em T₃ e T₄ quando comparadas com as de T₁ e T₂. A redução da concentração de clorofilas, nas folhas de T₄ em relação às folhas de T₁, deve ter auxiliado na redução da absorvância foliar e, reduzido a quantidade total de energia efetivamente absorvida pelos fotossistemas. As folhas de sol apresentaram maior concentração total de xantofilas (violaxantina + anteraxantina + zeaxantina), bem como maiores valores do estado de desepoxidação das xantofilas, indicando uma maior capacidade de dissipação de energia luminosa nestes tratamentos, em relação às folhas de sombra. As variações na taxa máxima de carboxilação limitada pela rubisco, taxa de carboxilação máxima limitada pelo transporte de elétrons e taxa de assimilação líquida de CO₂ sob alta concentração de CO₂ foram mínimas, ou mesmo inexistentes, entre as folhas dos tratamentos analisados. Os resultados sugerem que o cafeeiro apresenta algumas características morfofisiológicas com plasticidade fenotípica adequada para lhe permitir ajustar-se à disponibilidade de luz. Todavia, a capacidade de aclimação à irradiância parece ocorrer às expensas de uma alocação ineficiente de recursos, como o nitrogênio.

Abstract

MATOS, Fábio Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June 2008. **Anatomical and physiological plasticity of leaves of *Coffea arabica* L. in response to irradiance.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta. Co-adviser: Marília Contrin Ventrella and Raimundo Santos Barros

Morphological, physiological and biochemical parameters were examined in coffee leaves from different canopy positions. Four classes of leaves were chosen based on the mean diurnal intercepted photosynthetically active radiation. These classes (treatments) comprised leaves intercepting 30, 75, 300, 750 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, hereafter referred to T₁, T₂, T₃, and T₄, respectively. Morphologically, the single leaf area, and particularly the specific leaf area (SLA), increased in leaves under deep shade. Compared to sunlit leaves, shade leaves showed less differentiated palisade and spongy parenchyma with greater abundance of intercellular spaces, leading to thinner and less dense leaves with a higher SLA. The net carbon assimilation rate decreased with decreasing light availability, from 7.2 (T₄) to 2.3 (T₁) $\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The compensating irradiance was on average 88% higher in T₃ and T₄ leaves as compared with T₁ and T₂ leaves. The smaller chlorophyll concentration in T₄ leaves relative to T₁ leaves should have led to a lower leaf absorptance and, thus, leading to reduced amount of energy actually absorbed by the photosystems. Sunlit leaves showed greater concentration of xanthophylls (violaxanthin + antheraxanthin + zeaxanthin) and higher values of deepoxidation state of xanthophylls, indicating a greater capacity for energy dissipation in these leaves than in shaded leaves. Changes in maximum rate of carboxylation limited by rubisco, in maximum rate of carboxylation limited by the electron transport and in net assimilation rate of CO₂ under elevated CO₂ were minimal, if any, amongst the leaves examined here. Results suggest that coffee leaves display some morphophysiological traits with adequate phenotypic plasticity allowing the coffee tree to adjust itself to the light availability. However, the capacity of acclimation to irradiance seems to occur at the expense of an inefficient allocation of resources, such as nitrogen.

1-Introdução

Modificações nos níveis de luminosidade aos quais uma espécie está aclimatada podem condicionar diferentes respostas fisiológicas em suas características bioquímicas, anatômicas e de crescimento (Atroch et al., 2001). As características morfológicas e fisiológicas foliares variam com a posição na copa, uma vez que diferentes posições estão associadas a ambientes lumínicos distintos (Hollinger, 1989; Ishida et al., 1999). O desempenho fotossintético das plantas deve ser, pois, maximizado, mediante modificações morfológicas e fisiológicas ao ambiente luminoso (Poorter, 2001), desde o nível subcelular até níveis macroscópicos (Balaguer et al., 2001). Obviamente, não apenas a irradiância interceptada, mas também a temperatura foliar deve variar ao longo do dossel, com possíveis reflexos sobre o comportamento estomático e a fotossíntese. Assim, a capacidade fotossintética varia amplamente em diferentes folhas de uma mesma planta, sendo freqüentemente limitada por restrições difusivas e bioquímicas (Kozlowski & Pallardy, 1997). Limitações difusivas (e.g., estomáticas e mesofílicas), mas não as limitações bioquímicas, estão associadas a decréscimos na concentração interna de CO₂ (C_i), podendo ser superadas mediante a elevação no suprimento externo de CO₂. Além de limitações difusivas, alterações nas reações fotoquímicas e na atividade das enzimas da fase bioquímica da fotossíntese, bem como das enzimas do metabolismo dos carboidratos e do nitrogênio (Foyer et al., 1994; Boyer, 1995; Kanechi et al., 1996; Paul & Driscoll, 1997), podem afetar significativamente a magnitude das taxas fotossintéticas.

O café é originário de florestas tropicais da África, onde é encontrado em estado espontâneo como vegetação de sub-bosque, desenvolvendo-se, portanto, permanentemente sob sombra. A cultura do café expandiu-se e adaptou-se às mais variadas condições ecológicas da faixa tropical e sub-tropical. No Brasil, por exemplo, os cafezais vêm sendo conduzidos quase exclusivamente a pleno sol, enquanto em muitos países da América Central, por exemplo, a espécie é mais freqüentemente cultivada sob sistemas arborizados.

Em café, as irradiâncias de saturação para folhas de sol e sombra são aproximadamente 600 e 300 $\mu\text{mol de (fótons) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente (Kumar & Tieszen, 1980; Fahl et al., 1994). Irradiâncias superiores àquelas necessárias para saturar a fotossíntese podem causar fotoinibição da fotossíntese. Além disso, freqüentemente,

acarretam um decréscimo líquido na taxa de transporte de elétrons através do fotossistema II (FSII), e um forte incremento na taxa de giro de D_1 , o principal polipeptídeo dos centros de reação do FSII (Malkin & Niyogi, 2000). Não obstante, em função da arquitetura da copa do cafeeiro, a fotoinibição, quando manifestada, deve concentrar-se na folhagem mais periférica (Chaves et al., 2008). Registre-se que, em cafezais adultos, a transmitância da irradiância incidente, da parte superior da copa ao solo, pode atingir proporções muito baixas, da ordem de 4% (Cannell, 1985), ou mesmo menos (DaMatta, 2004).

Apesar de a grande maioria dos trabalhos indicar que o cafeeiro exibe folhas com características de sombra, sua fotossíntese pode ser maior a pleno sol que à sombra, desde que a abertura estomática não seja limitante (DaMatta & Rena, 2002). Na maioria dos trabalhos em que se observa maior taxa de fotossíntese líquida (A) à sombra que a pleno sol, menor condutância estomática (g_s) para folhas expostas parece explicar, pelo menos em parte, essas observações (e.g. Kumar & Tieszen, 1980; Paiva et al., 2001; Freitas et al., 2003). Em todo caso, sob condições não-estressantes, o cafeeiro pode exibir outras características indicativas de aclimação/adaptação a altas irradiâncias. Sob alta disponibilidade lumínica, observa-se, comumente, redução da área foliar específica (AFE), aumento da espessura da cutícula, incrementos na densidade estomática, cloroplastos com menos *grana* e menos tilacóides por *granum* (Fahl et al., 1994) e reversão da fotoinibição relativamente rápida (DaMatta & Maestri, 1997), todas características adaptativas à plena irradiância. Por outro lado, em estudos recentes conduzidos em Viçosa, observou-se que, apesar de o cafeeiro ser capaz de alterar a absorção da energia radiante, mediante a alteração do ângulo foliar, outras adaptações comuns a baixas irradiâncias (e.g. aumento na concentração de clorofilas por unidade de massa e na razão clorofila/N, e redução na razão clorofila a/b) não foram verificadas, demonstrando que a espécie poderia ter baixa capacidade de aclimação a ambientes com reduzida disponibilidade de luz, ainda que tenha evoluído em ambientes sombreados (Dias, 2006; Araújo et al., 2008; Chaves et al., 2008). As diferenças relativamente pequenas na magnitude das trocas gasosas, da concentração de pigmentos fotossintéticos, da fotoinibição e da capacidade antioxidante, aliadas à ocorrência de danos celulares discretos e em extensão muito similar entre folhas de plantas a pleno sol e sob sombra sugerem que o cafeeiro tenha uma plasticidade

fenotípica relativamente baixa de sua maquinaria fotossintética às variações da irradiância (Araújo et al., 2008; Chaves et al., 2008).

Em espécies evoluídas em ambientes sombreados, é comum observar-se uma alta plasticidade morfológica, e uma baixa plasticidade fisiológica, da maquinaria fotossintética, em resposta à disponibilidade de luz (Niinemets, 2007). Essa asserção, pelo menos aparentemente, é aplicável ao café, conforme especulado por Araújo et al. (2008) e Chaves et al. (2008). Todavia, nos estudos desses autores, as folhas “de sombra” interceptaram irradiâncias relativamente elevadas (cerca de 35-50% da fração de luz interceptada pelas folhas “de sol”). Portanto, folhas sob sombra intensa, comum no interior da copa do cafeeiro, não têm sido avaliadas e, desse modo, não se tem um quadro claro sobre a real plasticidade fenotípica do cafeeiro à disponibilidade de luz. Pretendeu-se, portanto, avaliar uma gama de variáveis fisiológicas e morfológicas em folhas que diferem largamente quanto à interceptação total da irradiância, com o intuito de se avaliar a plasticidade foliar do cafeeiro às variações da disponibilidade de luz.

2. Material & Métodos

2.1-Material vegetal e desenho experimental

O experimento foi conduzido em campo, com plantas de café (*Coffea arabica* L. cv Catuaí Vermelho IAC 44), com aproximadamente 13 anos de idade, em Cachoeirinha, Viçosa (20°45’S, 42°15’W, 650 m de altitude), Minas Gerais. As plantas vêm sendo cultivadas a pleno sol, sob espaçamento de 3,0 x 1,0 m, com uma planta por cova. O cafezal foi renovado, por meio de esqueletamento, em setembro de 2006. Inicialmente, em outubro de 2007, foi feita uma classificação de folhas de 30 plantas, com base na radiação fotossinteticamente ativa (RFA) soma diurna interceptada (média de cinco dias com medidas a cada duas horas aproximadamente, começando às 07:00 h e finalizado por volta das 17:00 h). A RFA foi medida com um fotômetro/radiômetro (Li-185, LI-COR, Lincoln, EUA), no mesmo ângulo de inserção das folhas totalmente expandidas. Foram avaliados quatro tratamentos (distribuídos num delineamento inteiramente casualizado), que corresponderam à RFA média (\pm desvio padrão) interceptada de $30 \pm 5 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $75 \pm 11 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $300 \pm 67 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $750 \pm 179 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esses tratamentos serão doravante designados, respectivamente, como T₁, T₂, T₃ e T₄. As

variáveis foram submetidas à análise de variância segundo delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições por tratamento.

2.2-*Características morfo-anatômicas*

Foram calculadas as áreas específica e unitária e densidade de folhas do terceiro ou quarto par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos. Folhas foram também coletadas e posteriormente fixadas em FAA₅₀, por 48 h (Johansen, 1940) e estocadas em etanol 70%. Desse material, amostras da região mediana foram incluídas em metacrilato (Historesin-Leica), segundo as recomendações do fabricante, procedendo-se ao corte transversal em micrótomo de avanço automático, com 7 µm de espessura, e corados com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1965). Para a determinação das características anatômicas em seção transversal, as imagens foram digitalizadas e analisadas mediante o software Image Pro-Plus (Version 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA). Foram avaliadas as espessuras: (i) da lâmina foliar; (ii) dos parênquimas paliçádico (PP) e lacunoso (PL); (iii) da epiderme nas faces abaxial e adaxial, além da área dos espaços intercelulares.

2.3-*Trocas gasosas e parâmetros de fluorescência*

Curvas de resposta da taxa de assimilação líquida de carbono (A) à irradiância (curva A/RFA) foram obtidas em laboratório, em folhas de ramos coletados no início da manhã, utilizando-se de um analisador de gases a infravermelho (LCpro+, Analytical Development Company, Hoddesdon, Reino Unido), variando-se a RFA de 0 a 1400 µmol (fótons) m⁻² s⁻¹, a 25°C, e concentração de CO₂ constante de 380 µmol mol⁻¹ (Iio *et al.*, 2005). Antes de se aplicar a RFA às folhas, foi fornecida uma concentração inicial de CO₂ igual a 50 µmol mol⁻¹, por 3 min, para induzir a abertura dos estômatos. O rendimento quântico aparente (Φ_a) foi estimado por meio da regressão linear da porção inicial da curva [$0 \leq RFA \leq 100$ µmol (fótons) m⁻² s⁻¹]. As respostas de A à concentração interna de CO₂ (curva A/C_i) foram determinadas a 25°C, sob 1000 µmol (fótons) m⁻² s⁻¹, um valor saturante, mas não fotoinibitório (Araújo *et al.*, 2008), variando-se a concentração de CO₂ ambiente, de 50 a 1600 µmol mol⁻¹ (Habermann *et al.*, 2003; Iio *et al.*, 2005). Técnicas de regressão não-linear, baseadas nas equações de Farquhar *et al.* (1980), modificadas por Sharkey (1985) e Harley & Sharkey (1991), foram usadas para calcular a taxa máxima de carboxilação

limitada pela rubisco (V_{cmax}), taxa de carboxilação máxima limitada pelo transporte de elétrons (J_{max}) para cada curva A/C_i obtida. As estimativas das taxas de assimilação líquida de CO_2 limitada pela rubisco e pelo transporte de elétrons foram obtidas a partir do ajuste das curvas A/C_i , baseando-se nas equações de Long & Bernacchi (2003).

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram determinados ao longo da manhã, em laboratório, nos mesmos ramos utilizados para a mensuração das trocas gasosas, por meio de um fluorômetro com pulso modulado (FMS2, Hansatech, Norfolk, Reino Unido). Foram avaliadas as respostas de diversos parâmetros de fluorescência, em função do nível de irradiância, objetivando-se observar a capacidade de utilização fotoquímica e de dissipação não-fotoquímica da energia luminosa, sob condições controladas. Após serem adaptadas ao escuro por 30 min, as folhas foram inicialmente expostas a um fraco pulso de luz vermelho-distante ($1-2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), para a determinação da fluorescência inicial (F_0). Em seguida, um pulso de luz saturante, com uma irradiância de $6000 \mu\text{mol}(\text{fótons}) \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e duração de 1 s, foi aplicado para estimar-se a fluorescência máxima (F_m). Subsequentemente, as folhas foram irradiadas com luz actínica durante 300 s, às intensidades de 10, 25, 120, 300 e $600 \mu\text{mol}(\text{fótons}) \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para obtenção da fluorescência constante (F_s). Em seguida, foi aplicado um pulso de luz saturante $6000 \mu\text{mol}(\text{fótons}) \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para cada nível de irradiância, por 1 s, para obtenção de fluorescência máxima sob luz (F_m'). A luz actínica foi desligada e as amostras foram irradiadas com luz vermelho-distante, para a obtenção da fluorescência mínima adaptada à luz (F_0'). Foram estimados, então, o coeficiente de extinção fotoquímica (q_p), eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII (F_v'/F_m'), coeficiente de extinção não-fotoquímica (NPQ) e o rendimento quântico do transporte de elétrons do FSII (Φ_{FSII}). A eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m) nas amostras aclimatadas à obscuridade foi também determinada.

2.4-Pigmentos fotossintéticos e nitrogênio

Para a quantificação da concentração das xantofilas, dois discos foliares (1,4 cm de diâmetro) foram coletados às 12:00 h e homogeneizados em acetona 90%, a 4°C . O homogenato foi transferido para um microtubo, e expurgado com N_2 gasoso, por 2 min. Após 30 min de repouso, os microtubos foram centrifugados a 15000 g , por 10 min, a 4°C .

O sobrenadante obtido foi filtrado através de um filtro com diâmetro de poro de 0,45 µm. Os pigmentos foram analisados em um cromatógrafo líquido de alto desempenho de fase reversa (Hewlett Packard, serie 1050, EUA), utilizando-se de uma coluna C₁₈, *Spherisorb* ODS-2 (250 x 4,6 mm), com diâmetro de poro de 5 µm. Os compostos foram identificados mediante seus espectros de absorção e tempos de retenção (Johnson et al. 1993). A detecção e quantificação individual dos carotenóides foi obtida pela proporcionalidade entre a área integrada dos cromatogramas, obtidas a 440 nm, e as áreas dos cromatogramas dos respectivos padrões (VKI, Horsholm, Dinamarca), registrados naquele comprimento de onda, de acordo com método descrito em Ramalho et al. (1997). Clorofilas e carotenóides (Car) totais foram quantificados espectrofotometricamente (Lichthenthaler 1987).

Amostras foliares foram coletadas e determinadas as diferenças de N orgânico e N nítrico, conforme descrito por Cataldo et al (1974, 1975). A soma das duas frações representa o N-total.

2.5-Enzimas envolvidas no metabolismo antioxidativo

Quatro discos (1,4 cm de diâmetro) foliares foram coletados às 12:00 h e determinadas as atividades da dismutase do superóxido (SOD; EC 1.15.1.1) (Giannopolitis & Ries, 1977; Lima et al., 2002), da catalase (CAT; EC 1.11.1.6) (Havir & McHale, 1987; Lima et al., 2002), e da peroxidase do ascorbato (APX; EC 1.11.1.11) (Nakano & Asada, 1981; Lima et al., 2002).

2.6- Índice de plasticidade fenotípica

Calculou-se o índice de plasticidade (IP) fenotípica associado com os parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfo-anatômicos. Esse índice, que varia de 0 a 1, foi calculado baseado na distância relativa (RD) entre os valores dos tratamentos (RDPI), de acordo com Valladares et al. (2006). Para cálculo do RDPI utilizou-se da seguinte fórmula:

$$RDPI = \sum(d_{ij} \rightarrow i'j') / (x_{i'j'} + x_{ij}) / n$$

Em que i, j, n referem-se aos tratamentos, repetições e número total de repetições respectivamente. $d_{ij} \rightarrow i'j'$ é a distância relativa entre os tratamentos com os valores das

repetições tomados aos pares com i diferente de i' (dois tratamentos submetidos a diferentes níveis de irradiância) e valor absoluto obtido pela diferença $x_{i'j'} - x_{ij}$. Portanto, a distancia relativa, $rd_{ij \rightarrow i'j'}$ é definida como $d_{ij \rightarrow i'j'} / (x_{i'j'} + x_{ij})$ para todos os pares de repetições dos tratamentos associados aos diferentes níveis de irradiância.

2.7- Procedimentos estatísticos

Os dados de plasticidade fenotípica foram transformados para seguir uma distribuição normal, usando-se, para isso, o teste de Kolmogorov-Smirnov. Diferenças entre as médias dos tratamentos foram analisadas pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de probabilidade, enquanto as diferenças no índice de plasticidade fenotípica para as variáveis mensuradas foi analisado utilizando-se do teste de Scott-Knott, também a 5% de probabilidade.

3-Resultados

3.1- Características morfo-anatômicas

As variáveis morfo-anatômicas analisadas são mostradas na Tabela 1. A área foliar unitária foi menor (~21%) nas plantas de T_4 em relação à das plantas dos outros tratamentos, enquanto a AFE se reduziu com o aumento de irradiância, porém sem diferença estatística entre plantas de T_3 e T_4 . Uma resposta inversa foi observada para a densidade foliar, que aumentou, portanto, com o incremento da irradiância interceptada. As espessuras das epidermes adaxial e abaxial das folhas foram significativamente diferentes, sendo a primeira mais espessa em folhas submetidas às maiores irradiâncias (T_4), enquanto a segunda foi mais espessa nas folhas mais sombreadas (T_1). A espessura do parênquima paliçádico foi maior nas folhas de T_4 (~78 μm) em comparação com as de T_1 (~39 μm), ao passo que as folhas de T_2 e T_3 mostraram valores intermediários. Diferenças na espessura do parênquima paliçádico estiveram associadas com o maior comprimento das células, sem haver aumento do número de camadas (Figura 1). O parênquima lacunoso, que ocupou aproximadamente 2/3 do volume do mesofilo, apresentou espessura similar entre os tratamentos analisados. Portanto, variações na espessura total da lâmina foliar foram, fundamentalmente, decorrentes de variações na espessura do parênquima paliçádico. Ressalte-se, ainda, que a área de espaços de ar foi maior (~19%) nas folhas de T_1 em relação à das folhas dos demais tratamentos.

Tabela 1. Características morfo-anatômicas [área foliar unitária, área foliar específica (AFE), densidade foliar, espessura das epidermes adaxial e abaxial, espessuras do parênquima paliçádico (PP), lacunoso (PL) e total da lâmina foliar, razão PP / PL e área de espaços intercelulares no PL] de folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₁), 75 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₂), 300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₃) e 750 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₄).

| Parâmetros | Tratamentos | | | |
|---|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | T ₁ | T ₂ | T ₃ | T ₄ |
| Área foliar unitária (cm^2) | 56,83 ± 3,30 ^A | 57,15 ± 5,90 ^A | 53,13 ± 3,93 ^A | 44,14 ± 5,50 ^B |
| AFE ($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$) | 20,79 ± 0,77 ^A | 16,31 ± 1,23 ^B | 12,90 ± 0,80 ^C | 12,12 ± 0,48 ^C |
| Densidade foliar (kg m^{-3}) | 216,91 ± 9,85 ^B | 250,69 ± 10,50 ^{AB} | 297,09 ± 7,15 ^A | 299,21 ± 9,80 ^A |
| Espessura da epiderme adaxial (μm) | 25,53 ± 1,19 ^B | 27,55 ± 0,53 ^{AB} | 28,00 ± 1,27 ^{AB} | 30,11 ± 0,48 ^A |
| Espessura da epiderme abaxial (μm) | 25,03 ± 1,98 ^A | 19,06 ± 0,80 ^B | 15,79 ± 0,75 ^B | 15,06 ± 0,65 ^B |
| Espessura parênquima paliçádico (μm) | 38,92 ± 2,62 ^C | 54,10 ± 7,27 ^B | 65,16 ± 2,80 ^{AB} | 78,40 ± 3,18 ^A |
| Espessura Parênquima lacunoso (μm) | 135,88 ± 10,33 ^A | 144,04 ± 5,15 ^A | 152,52 ± 9,13 ^A | 154,05 ± 5,99 ^A |
| Espessura total (μm) | 224,18 ± 6,68 ^C | 244,57 ± 4,97 ^{AB} | 261,49 ± 11,70 ^{AB} | 277,63 ± 2,33 ^A |
| PP/PL | 0,29 ± 0,02 ^B | 0,37 ± 0,03 ^{AB} | 0,43 ± 0,01 ^{AB} | 0,51 ± 0,03 ^A |
| Espaços intercelulares no PL (μm^2) | 425,10 ± 4,50 ^A | 359,39 ± 3,14 ^B | 353,64 ± 6,15 ^B | 343,35 ± 12,62 ^B |

Valores representam a média ± erro-padrão ($n=6$). Médias seguidas por uma mesma letra dentro de cada linha não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

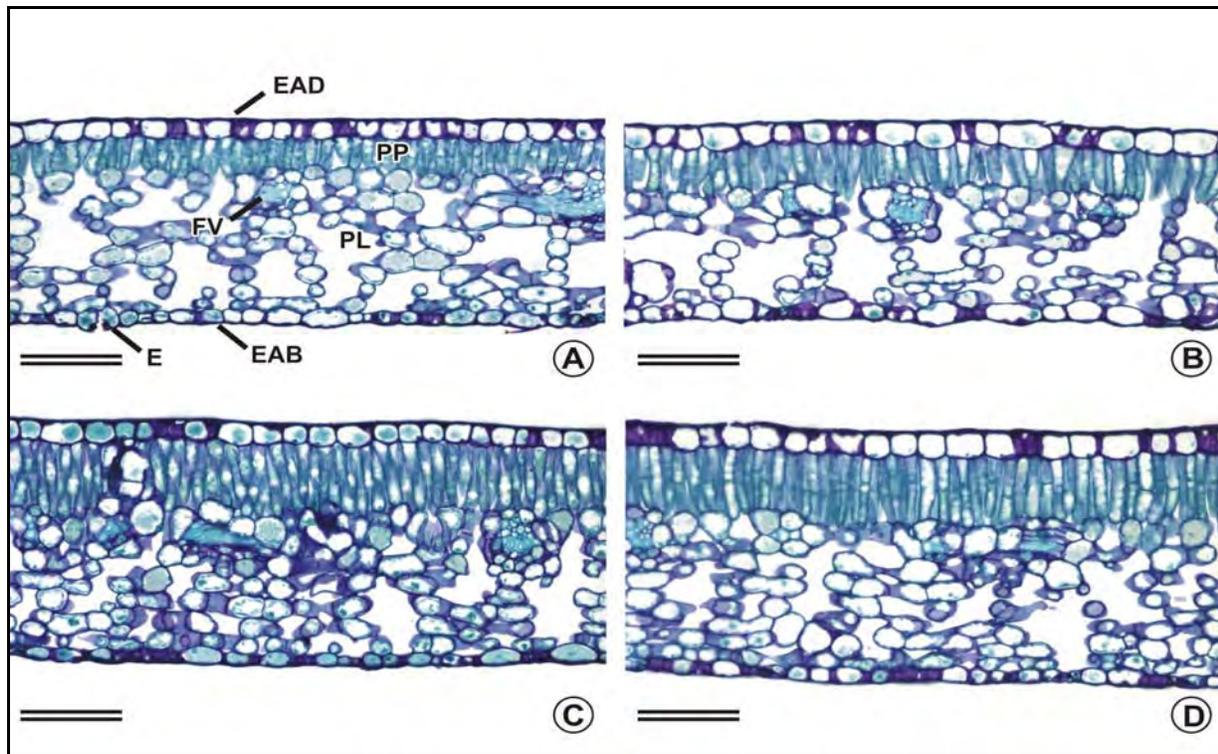


Figura 1. Epidermes adaxial e abaxial, parênquima paliçádico e lacunoso, feixe vascular, estômato e epiderme abaxial em seção transversal de folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (A), 75 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (B), 300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (C) e 750 μmol 8 fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (D). (EAD) epiderme adaxial, (PP) parênquima paliçádico, (FV) feixe vascular, (PL) parênquima lacunoso, (E) estômato, (EAB) epiderme abaxial. Barra = 100 μm .

3.2 – Trocas gasosas e parâmetros de fluorescência

3.2- Trocas gasosas e parâmetros de fluorescência

A irradiância de compensação (I_c) foi, em média, 88% maior em T₃ e T₄ quando comparada com a de T₁ e T₂, variando de 2,7 a 27,5 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabela 2). No entanto, a irradiância de saturação (I_s) foi semelhante, independentemente dos tratamentos (Tabela 2), ficando em torno de 470 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A respiração foi, em média, 32% maior nas folhas de T₃ e T₄ quando comparada com folhas de T₁ e T₂. A taxa de assimilação líquida do carbono saturada pela luz (A_{RFA}) decresceu com a redução da disponibilidade de luz, de 7,2 para 2,3 μmol (CO_2) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ao compararem-se as folhas de T₄ e T₁, enquanto Φ_a reduziu-se à metade nas folhas de T₄ quando comparadas com as folhas dos outros tratamentos, nas quais Φ_a não variou significativamente. As respostas de A à C_i mostraram que, apesar de V_{cmax} , J_{max} e a razão $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$ terem variado entre os tratamentos, a taxa de assimilação líquida de carbono máxima obtida a partir das curvas A/C_i (A_{CO_2}) não foi significativamente afetada pela disponibilidade lumínica (Figura 2). Verificou-se, ainda, que, mesmo a $C_i \geq 1000 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ($C_a \approx 1600 \mu\text{mol mol}^{-1}$), não houve saturação de A entre as folhas dos tratamentos analisados.

A razão F_v/F_m foi superior a 0,82 em todos os tratamentos, indicando não ter havido fotoinibição da fotossíntese (dados não mostrados). Observou-se, para o coeficiente de extinção fotoquímica (qP) e o rendimento quântico do transporte de elétrons do FSII (Φ_{FSII}), uma redução similar entre os tratamentos, com o aumento da irradiância, a partir de 25 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 3). As folhas dos tratamentos T₁ e T₂ puderam ser conjuntamente confrontadas com relação às de T₃ e T₄ no que respeita à eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII (F_v'/F_m') (em média 19% maior no primeiro grupo) e ao NPQ (em média 41% maior no segundo grupo), quando submetidas à irradiância de 600 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 3).

Tabela 2. Irradiância de compensação [I_c , μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], irradiância de saturação [I_s , μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], rendimento quântico aparente [Φ_a , mol (CO_2) mol^{-1} (fótons)], respiração [R_d , μmol $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] e taxa de assimilação líquida de carbono saturada pela luz [A_{RFA} , μmol (CO_2) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] obtidas a partir de curvas A/RFA de folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_1), 75 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_2), 300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_3) e 750 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_4).

| Parâmetros | Tratamentos | | | |
|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | T_1 | T_2 | T_3 | T_4 |
| I_c | $2,65 \pm 0,14^B$ | $3,35 \pm 0,665^B$ | $21,71 \pm 0,73^A$ | $27,46 \pm 1,16^A$ |
| I_s | $470,13 \pm 6,80^A$ | $478,53 \pm 5,04^A$ | $475,22 \pm 1,37^A$ | $467,67 \pm 2,80^A$ |
| Φ_a | $0,039 \pm 0,001^A$ | $0,040 \pm 0,002^A$ | $0,047 \pm 0,001^A$ | $0,020 \pm 0,002^B$ |
| R_d | $0,81 \pm 0,020^B$ | $0,94 \pm 0,031^B$ | $1,14 \pm 0,023^A$ | $1,44 \pm 0,041^A$ |
| A_{RFA} | $2,33 \pm 0,36^C$ | $3,58 \pm 0,03^B$ | $6,92 \pm 0,41^A$ | $7,16 \pm 0,27^A$ |

* Estatística conforme Tab. 1

3.3- Nitrogênio total e pigmentos

A concentração foliar de nitrogênio total, em base de massa, foi, em média, 13,5% maior nas folhas de T_1 quando comparada com a das folhas dos demais tratamentos. No entanto, em base de área, observou-se uma resposta inversa, sendo a concentração de N em T_4 , em média, 38% maior que em T_1 . A concentração de clorofilas totais, em base de massa, foi significativamente maior nas folhas de T_1 em relação à dos demais tratamentos, enquanto em base de área não foram observadas diferenças na concentração de clorofilas. As concentrações de carotenóides totais (em base de massa) foram similares, independentemente da irradiância interceptada, porém maiores (em base de área) nas plantas sob maiores irradiâncias (T_3 e T_4). As razões clorofilas totais/N e clorofilas/Car foram relativamente maiores nas folhas de T_1 em relação às de T_4 , mas sem diferir estatisticamente com relação às folhas dos demais tratamentos, fatos explicáveis, principalmente, em função da maior concentração de clorofilas totais em T_1 . Em todo o caso, a razão clorofila a/b não respondeu aos tratamentos aplicados (Tabela 3).

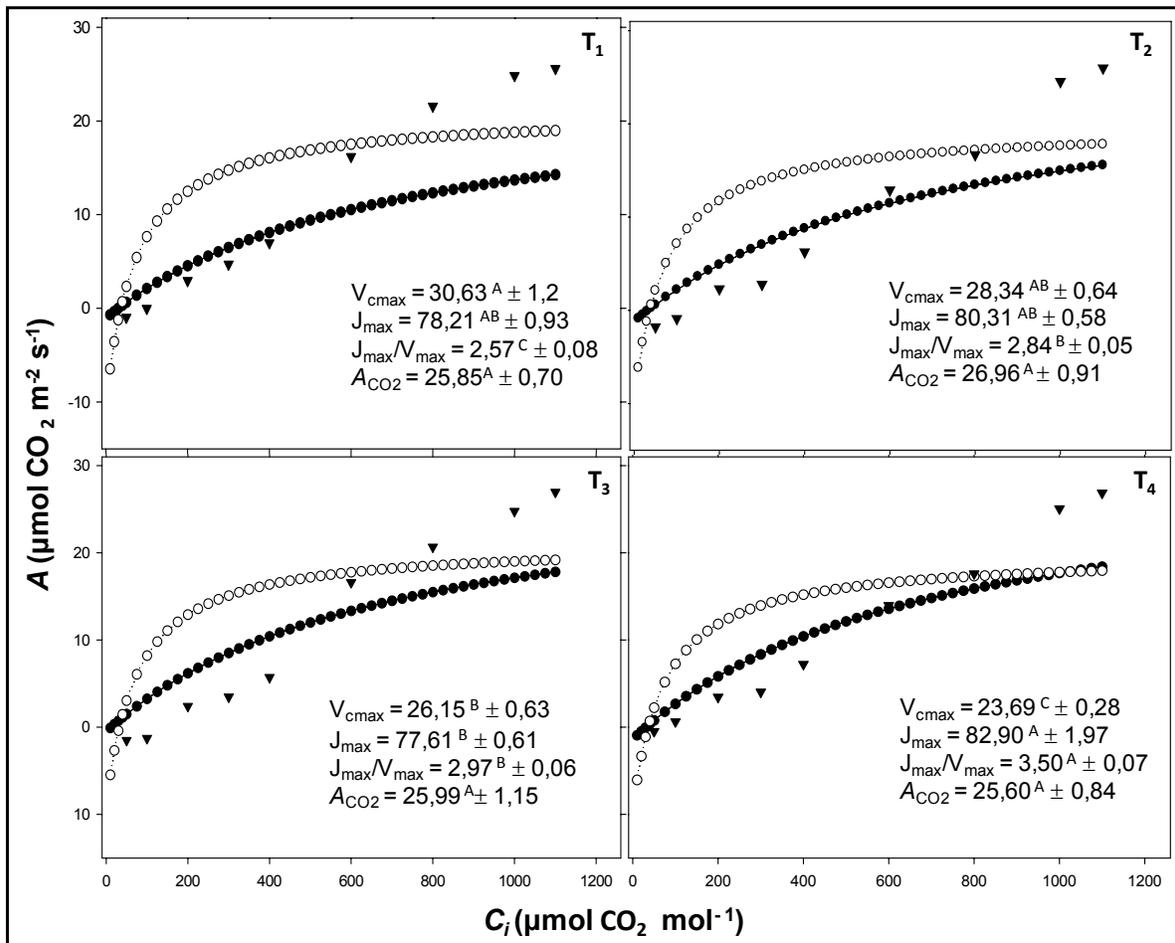


Figura 2. Taxa de assimilação líquida limitada pela rubisco (○-○-○), taxa de assimilação líquida limitada pelo transporte de elétrons (●-●-●) e taxa de assimilação líquida de carbono (▼-▼-▼), obtidas a partir de curvas de resposta da taxa de assimilação líquida da CO₂ [A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$] à concentração interna de CO₂ [C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$] de folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 $\mu\text{mol f\`otons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (T₁), 75 $\mu\text{mol f\`otons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (T₂), 300 $\mu\text{mol f\`otons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (T₃) e 750 $\mu\text{mol f\`otons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (T₄). As médias dos parâmetros (taxa de carboxilação máxima [V_{cmax} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$], taxa de carboxilação máxima limitada pelo transporte de elétrons [J_{max} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$], razão J_{max}/V_{cmax} e taxa de assimilação líquida de carbono máxima obtida a partir das curvas A/C_i [A_{CO_2} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]) acompanhadas de diferentes letras são estatisticamente diferentes entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls.

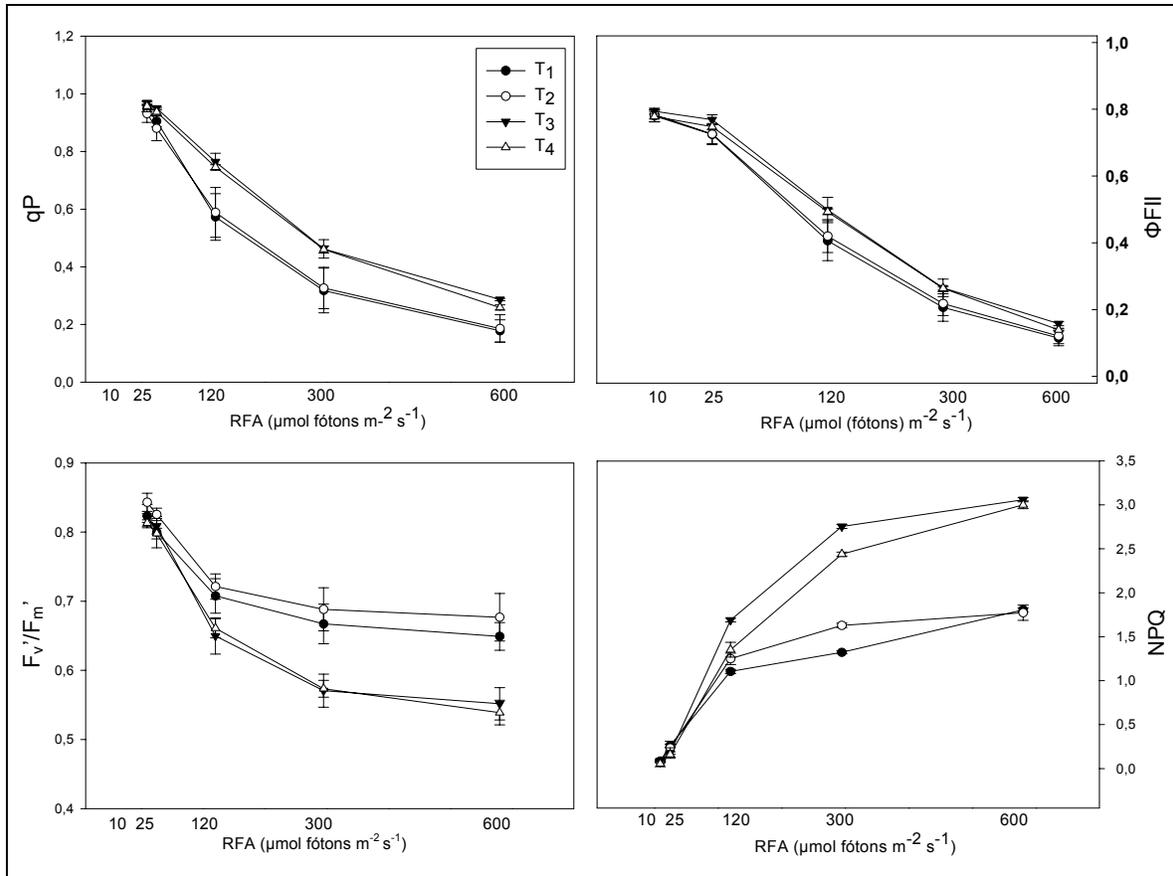


Figura 3. Coeficiente de extin\u00e7\u00e3o fotoqu\u00edmica (qP), rendimento qu\u00e2ntico do transporte de el\u00e9trons do FSII (Φ_{FSII}), efici\u00eancia de captura de energia de excita\u00e7\u00e3o pelos centros de rea\u00e7\u00e3o abertos do FSII (F_v'/F_m') e coeficiente de extin\u00e7\u00e3o n\u00e3o-fotoqu\u00edmica (NPQ), em resposta a radia\u00e7\u00e3o fotossinteticamente ativa (RFA) de folhas de *Coffea arabica* L. distribu\u00eddas em quatro tratamentos, correspondendo \u00e0 irradi\u00e2ncia m\u00e9dia interceptada de 30 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_1), 75 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_2), 300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_3) e 750 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_4). Valores representam a m\u00e9dia \pm erro-padr\u00e3o ($n=6$).

Tabela 3. Concentrações foliares de N-total, clorofilas (Cl) totais ($a + b$) e carotenóides totais (Car), e razões Cl/N, Cl a / Cl b (Cl a/b) e Cl/Car de folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₁), 75 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₂), 300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₃) e 750 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₄).

| Parâmetros | Tratamentos | | | |
|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | T ₁ | T ₂ | T ₃ | T ₄ |
| N total, g kg^{-1} MS | 34,17 \pm 0,41 ^A | 28,82 \pm 0,38 ^B | 30,3 \pm 0,24 ^B | 29,56 \pm 0,47 ^B |
| N total, g m^2 | 1,65 \pm 0,053 ^B | 1,82 \pm 0,10 ^B | 2,40 \pm 0,15 ^A | 2,45 \pm 0,10 ^A |
| Cl ($a+b$), g kg^{-1} MS | 6,63 \pm 0,29 ^A | 4,55 \pm 0,52 ^B | 4,73 \pm 0,43 ^B | 3,84 \pm 0,17 ^B |
| Cl ($a+b$), mg m^2 | 318,90 \pm 17,51 ^A | 279,00 \pm 28,40 ^A | 366,66 \pm 30,03 ^A | 318,00 \pm 16,01 ^A |
| Car, mg kg^{-1} MS | 715,78 \pm 26 ^A | 643,51 \pm 85 ^A | 734,59 \pm 62 ^A | 694,05 \pm 66 ^A |
| Car, mg m^2 | 34,52 \pm 1,16 ^B | 39,67 \pm 5,10 ^B | 57,52 \pm 5,06 ^A | 57,56 \pm 5,78 ^A |
| Cl/N, mmol mol^{-1} | 3,18 \pm 0,13 ^A | 2,55 \pm 0,28 ^{AB} | 2,56 \pm 0,24 ^{AB} | 2,12 \pm 0,12 ^B |
| Cl a/b | 2,75 \pm 0,17 ^A | 2,94 \pm 0,40 ^A | 2,94 \pm 0,27 ^A | 2,35 \pm 0,26 ^A |
| Cl/Car | 9,33 \pm 0,55 ^A | 7,10 \pm 1,08 ^{AB} | 6,40 \pm 0,55 ^B | 5,56 \pm 0,57 ^B |

* Estatística conforme Tab. 1

A concentração de xantofilas e de carotenos, em base de massa, é mostrada na Tabela 4. Independentemente dos tratamentos, a luteína foi o principal carotenóide acumulado nas plantas, com uma concentração, em média, 16% maior nas folhas de T₃ e T₄ quando comparadas às de T₁ e T₂. O teor dos demais carotenóides variou, de forma que a violaxantina foi o segundo principal carotenóide, com uma concentração média de 41% maior nas folhas de T₁ e T₂ em relação às de T₃ e T₄. A zeaxantina foi detectada apenas nas folhas de T₃ e T₄, com concentrações significativamente maiores nas últimas. As concentrações relativas dos demais carotenóides variaram sobremodo, de sorte que os níveis de neoxantina decresceram com o aumento da disponibilidade de luz, sendo, em média, 28% maior nas folhas de T₁ em comparação com as de T₄; de forma contrária, o teor de anteraxantina foi maior em maiores irradiâncias, aproximadamente 71% maior em folhas de T₄ em relação às de T₁. Os teores de α -caroteno e β -caroteno comportaram-se de forma dicotômica, observando-se maior teor de α -caroteno sob menores irradiâncias, ocorrendo o contrário com o β -caroteno. A soma de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina (V+A+Z) foi, em média, 17% maior nas folhas de T₄ quando comparada com a de T₁, enquanto o estado de desepoxidação dos carotenóides do ciclo das xantofilas (DEPS) foi, em média, 91% maior nas folhas de T₃ e T₄ quando comparado com o de T₁ e T₂. Em base de

clorofila (Tabela 5), as concentrações de anteraxantina, luteína, zeaxantina e β -caroteno foram maiores nas folhas de T₄, que apresentaram menor razão α/β -caroteno devido à queda mais acentuada nos níveis de α -caroteno que nos de β -caroteno.

Tabela 4. Concentrações foliares de xantofilas e carotenos, soma de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina (V+A+Z) e estado de desepoxidação dos carotenóides do ciclo das xantofilas (DEPS) de folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₁), 75 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₂), 300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₃) e 750 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₄). Os valores s\u00e3o expressos em mg kg⁻¹ MF e representam a m\u00e9dia \pm EP ($n = 6$).

| Par\u00e2metros | Tratamentos | | | |
|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | T ₁ | T ₂ | T ₃ | T ₄ |
| Neoxantina | 89,04 \pm 1,81 ^A | 84,33 \pm 0,80 ^B | 70,05 \pm 0,76 ^C | 63,67 \pm 1,69 ^D |
| Violaxantina | 123,32 \pm 1,05 ^A | 107,65 \pm 1,00 ^B | 90,74 \pm 2,05 ^C | 44,43 \pm 1,43 ^D |
| Anteraxantina | 8,60 \pm 0,74 ^C | 12,25 \pm 0,63 ^B | 28,33 \pm 0,63 ^A | 29,86 \pm 0,96 ^A |
| Lute\u00edna | 196,26 \pm 2,13 ^C | 201,73 \pm 3,11 ^C | 218,82 \pm 3,06 ^B | 252,39 \pm 3,31 ^A |
| Zeaxantina | - | - | 22,82 \pm 0,75 ^B | 84,23 \pm 1,62 ^A |
| α -Caroteno | 119,15 \pm 0,97 ^A | 101,50 \pm 1,49 ^B | 83,46 \pm 2,55 ^C | 62,11 \pm 1,47 ^D |
| β -Caroteno | 99,93 \pm 1,23 ^C | 100,10 \pm 1,52 ^C | 126,10 \pm 2,09 ^B | 135,31 \pm 2,17 ^A |
| α / β -Caroteno | 1,19 \pm 0,015 ^A | 1,02 \pm 0,034 ^B | 0,66 \pm 0,025 ^C | 0,46 \pm 0,013 ^D |
| V+A+Z | 131,92 \pm 1,51 ^C | 119,91 \pm 1,57 ^D | 141,90 \pm 2,10 ^B | 158,53 \pm 3,22 ^A |
| DEPS | 0,032 \pm 0,00 ^D | 0,051 \pm 0,00 ^C | 0,26 \pm 0,01 ^B | 0,63 \pm 0,01 ^A |

Estat\u00edstica conforme Tab. 1

Tabela 5. Concentrações foliares de xantofilas e carotenos, e soma de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina (V+A+Z) de folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₁), 75 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₂), 300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₃) e 750 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₄). Os valores s\u00e3o expressos em g kg⁻¹ de clorofila (a+b) e representam a m\u00e9dia \pm EP (n = 6).

| Par\u00e2metros | Tratamentos | | | |
|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | T ₁ | T ₂ | T ₃ | T ₄ |
| Neoxantina | 47,80 \pm 1,68 ^A | 49,13 \pm 1,24 ^A | 48,91 \pm 2,94 ^A | 43,94 \pm 1,53 ^A |
| Violaxantina | 66,21 \pm 2,10 ^A | 62,69 \pm 1,45 ^A | 63,28 \pm 3,73 ^A | 30,79 \pm 1,79 ^B |
| Anteraxantina | 4,66 \pm 0,48 ^C | 7,13 \pm 0,39 ^B | 19,72 \pm 0,99 ^A | 20,66 \pm 1,04 ^A |
| Lute\u00edna | 105,31 \pm 2,99 ^C | 117,36 \pm 4,14 ^C | 152,50 \pm 8,03 ^B | 174,54 \pm 6,82 ^A |
| Zeaxantina | - | - | 15,91 \pm 0,99 ^B | 58,15 \pm 1,90 ^A |
| α -Caroteno | 64,00 \pm 2,22 ^A | 59,13 \pm 1,76 ^A | 58,16 \pm 3,41 ^A | 43,00 \pm 2,14 ^B |
| β -Caroteno | 53,65 \pm 1,76 ^B | 58,31 \pm 1,71 ^B | 87,60 \pm 3,71 ^A | 93,42 \pm 2,94 ^A |
| V+A+Z | 70,87 \pm 2,54 ^B | 69,83 \pm 1,73 ^B | 98,91 \pm 5,30 ^A | 109,60 \pm 4,69 ^A |

Estat\u00edstica conforme Tab. 1

3.4- Sistema antioxidante

As atividades das enzimas do sistema antioxidativo s\u00e3o mostradas na Figura 4. Avaliaram-se tr\u00eas enzimas importantes na remo\u00e7\u00e3o de esp\u00e9cies reativas de oxig\u00eanio: SOD, CAT e APX. A atividade da SOD foi, em m\u00e9dia, 43% maior nas folhas de T₃ e T₄ quando comparada com a das folhas de T₁ e T₂. A atividade da CAT foi, em m\u00e9dia, 59% maior nas folhas de T₂, T₃ e T₄ quando comparada \u00e0 das folhas de T₁, enquanto a da APX foi, em m\u00e9dia, 21% maior nas folhas de T₃ e T₄ quando comparada com as folhas de T₁ e T₂.

3.5- \u00cdndice de plasticidade fenot\u00edpica

O \u00cdndice de plasticidade das vari\u00e1veis bioqu\u00edmicas foi, em m\u00e9dia, 13% e 48% maior quando comparado com as fisiol\u00f3gicas e morfo-anat\u00f4micas respectivamente (Tabela 6). No entanto a plasticidade das vari\u00e1veis fisiol\u00f3gicas foi, em m\u00e9dia, 40% maior em rela\u00e7\u00e3o \u00e0s morfo-anat\u00f4micas. Algumas vari\u00e1veis mostraram-se altamente pl\u00e1sticas em resposta aos diferentes n\u00edveis de irradi\u00e2ncia: dentre as caracter\u00edsticas bioqu\u00edmicas, fisiol\u00f3gicas e morfol\u00f3gicas, as mais pl\u00e1sticas foram, respectivamente, a zeaxantina (\sim 0,76), irradi\u00e2ncia de compensa\u00e7\u00e3o (\sim 0,60) e espessura do par\u00eanquima pali\u00e7\u00e1dico (\sim 0,20). Como um todo, as vari\u00e1veis associadas \u00e0 dissipat\u00e3o do excesso de irradi\u00e2ncia (concentra\u00e7\u00e3o de zeaxantina DEPS e NPQ) foram as que mais responderam aos tratamentos aplicados.

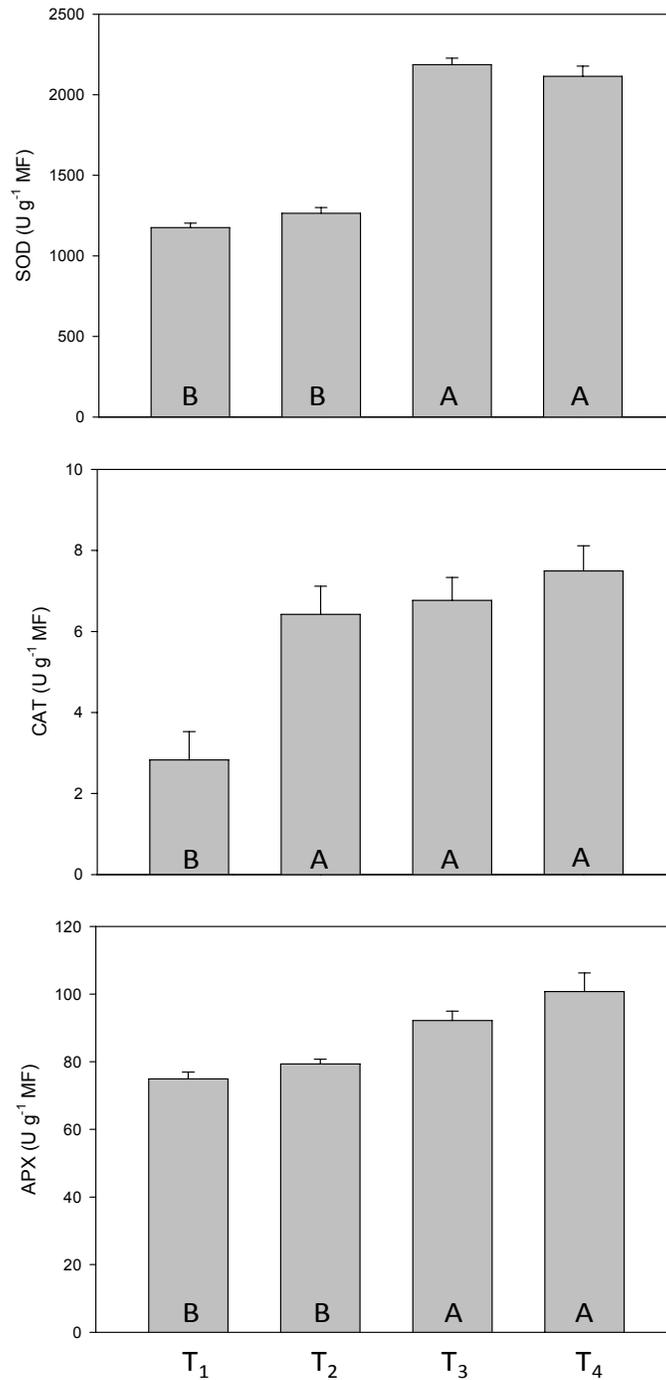


Figura 4. Atividade da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) em folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₁), 75 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₂), 300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₃) e 750 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T₄). M\u00e9dias acompanhadas de diferentes letras s\u00e3o estatisticamente diferentes entre si (Newman-Keuls, $p < 0,05$).

Tabela 6. Índice de plasticidade de **características morfo-anatômicas:** área foliar unitária, área foliar específica (AFE), densidade foliar, superfícies adaxial e abaxial da epiderme, parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL), espessura total, razão entre parênquima paliçádico e lacunoso e espaços de ar no PL, **características fisiológicas:** Irradiância de compensação [I_c , μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], irradiância de saturação [I_s , μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], rendimento quântico aparente [Φ_a , mol (CO_2) mol^{-1} (fótons)], taxa de assimilação líquida de carbono saturada pela luz [A_{RLA} , μmol (CO_2) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], taxa de carboxilação máxima [V_{cmax} , μmol (CO_2) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], taxa de carboxilação máxima limitada pelo transporte de elétrons [J_{max} , μmol (CO_2) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], razão J_{max}/V_{cmax} , coeficiente de extinção não-fotoquímica (NPQ) e fotoquímica (qP), rendimento quântico do transporte de elétrons do FSI (Φ_{FSII}), taxa de assimilação líquida de carbono máxima obtida a partir das curvas A/C_i [A_{CO_2} , μmol (CO_2) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], eficiência fotoquímica máxima do FSI (F_v/F_m) e **características bioquímicas:** concentração foliar de N-total, concentração de clorofilas (Cl) totais ($a+b$), carotenóides totais (Car), razão Cl/N, razão Cl a' Cl b (Cl a/b) e razão Cl/Car, concentração foliar de xantofilas, carotenos, soma entre violaxantina, anteraxantina e zeaxantina ($V+A+Z$), estado de epoxidação dos carotenóides do ciclo das xantofilas (DEPS), atividade da peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT) e dismutase do superóxido (SOD) de folhas de *Coffea arabica* L. distribuídas em quatro tratamentos, correspondendo à irradiância média interceptada de 30 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_1), 75 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_2), 300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_3) e 750 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (T_4).

| Parâmetros | Índice de plasticidade | Parâmetros | Índice de plasticidade |
|------------------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| MORFO-ANATÔMICOS | | BIOQUÍMICOS | |
| Área foliar unitária | 0,12 ^a | N total | 0,05 ^a |
| AFE | 0,15 ^b | Cl ($a+b$) | 0,18 ^c |
| Densidade foliar | 0,13 ^a | Car | 0,11 ^b |
| Espessura da epiderme adaxial | 0,06 ^b | Cl/N | 0,16 ^a |
| Espessura da epiderme abaxial | 0,15 ^b | Cl a/b | 0,17 ^b |
| Espessura do parênquima paliçádico | 0,20 ^d | Cl/Car | 0,20 ^d |
| Espessura do parênquima lacunoso | 0,07 ^a | Neoxantina | 0,10 ^b |
| Espessura total da folha | 0,06 ^b | Violaxantina | 0,26 ^a |
| PP:PL | 0,17 ^b | Anteraxantina | 0,36 ^b |
| Espaços intercelulares | 0,07 ^a | Luteína | 0,07 ^b |
| Média | 0,12^c | Zeaxantina | 0,76 ^a |
| FISIOLÓGICOS | | α -Caroteno | 0,18 ^b |
| I_c | 0,60 ^a | β -Caroteno | 0,10 ^b |
| I_s | 0,02 ^c | $\alpha' \beta$ -Caroteno | 0,26 ^b |
| Φ_a | 0,25 ^a | $V+A+Z$ | 0,08 ^b |
| A_{RLA} | 0,33 ^d | DEPS | 0,64 ^b |
| V_{cmax} | 0,07 ^b | APX | 0,12 ^b |
| J_{max} | 0,02 ^c | CAT | 0,31 ^c |
| J_{max}/V_{cmax} | 0,08 ^b | SOD | 0,21 ^b |
| A_{CO_2} | 0,07 ^a | Média | 0,23^A |
| NPQ | 0,56 ^a | | |
| Φ_{FSII} | 0,16 ^b | | |
| qP | 0,34 ^d | | |
| F_v/F_m | 0,11 ^b | | |
| F_v/F_m | 0,02 ^c | | |
| Média | 0,20^B | | |

Diferenças entre as diversas variáveis é representada por letras minúsculas, enquanto diferenças entre as médias das variáveis são representadas por letras maiúsculas. Valores seguidos por uma mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott. As variáveis de fluorescência, com exceção da razão F_v/F_m , foram obtidas sob luz actínica de 600 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

4-Discussão

A ocorrência de dois tipos de folhas, i.e., folhas de “sol” e de “sombra”, numa mesma planta, pode ser considerada como um caso particular de aclimatação (Rhizopoulou et al., 1991), conforme observado no presente experimento. Os resultados aqui apresentados não corroboram as conclusões de Araújo et al. (2008) e Chaves et al. (2008), que propuseram que existiria, no cafeeiro, uma baixa plasticidade foliar em resposta à disponibilidade lumínica, ao compararem folhas que interceptaram, em média, 200-300 contra 600-800 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Registre-se, não obstante, que aqueles autores não analisaram folhas sob sombreamento excessivo, porém essas folhas, conforme ora se demonstra, possuem algumas características (especialmente bioqu\u00edmicas e fisiol\u00f3gicas) altamente pl\u00e1sticas que lhes devem permitir um balan\u00e7o positivo de carbono, mesmo sob irradi\u00e2ncias t\u00e3o baixas quanto 30 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, valor equivalente a cerca de 1,5% da irradi\u00e2ncia m\u00e1xima incidente sobre a copa. Como um todo, os resultados demonstram que o cafeeiro, uma esp\u00e9cie originada de ambientes sombreados e classificada por muitos como “esp\u00e9cie de sombra” (DaMatta et al., 2004), pode aclimatar-se, via altera\u00e7\u00f5es morfo-fisiol\u00f3gicas da folhagem, \u00e0 disponibilidade de luz. Essa capacidade de aclimata\u00e7\u00e3o, conforme discutido a seguir, parece explicar, em certa extens\u00e3o, o sucesso do cultivo de cafezais a pleno sol, como no Brasil, e em sistemas agroflorestais, como no M\u00e9xico e na \u00cdndia, ainda que a produ\u00e7\u00e3o de frutos, nesses sistemas, seja sobretudo reduzida, em fun\u00e7\u00e3o do sombreamento excessivo (DaMatta et al., 2007).

4.1. Aclimata\u00e7\u00e3o a baixas irradi\u00e2ncias

A \u00e1rea foliar unit\u00e1ria e, particularmente, a AFE, aumentaram nas folhas mais sombreadas. O incremento da superf\u00edcie foliar pode ser atribu\u00eddo tanto ao aumento do n\u00famero de c\u00e9lulas, devido ao aumento das divis\u00f5es celulares, quanto ao maior volume celular (Fahn et al., 1990). Nesse sentido, nas folhas das plantas cultivadas \u00e0 sombra, a expans\u00e3o celular pode ter sobrepujado as divis\u00f5es celulares que acarretam aumento do n\u00famero de c\u00e9lulas. Apesar do fato de o n\u00famero de divis\u00f5es celulares ser controlado geneticamente (Nadeau & Sack, 2003), o ambiente pode exercer forte press\u00e3o e alterar esse padr\u00e3o; dessa forma, folhas sombreadas, freq\u00fcentemente, apresentam incremento do n\u00famero de divis\u00f5es celulares, como forma de aumentar a \u00e1rea foliar, conforme descrito

para *Populus* sp. (Ceulemans et al., 1995). Em alguns casos, tanto o número de divisões celulares quanto a área média das células podem ser aumentados com a diminuição da intensidade luminosa (Salisbury, 1927; Friend & Pomeroy, 1970; Yano & Terashima, 2001).

Sob baixa irradiância, a folha do cafeeiro exibe características típicas de folhas de sombra, com parênquimas paliçádico e lacunoso menos desenvolvidos que em folhas de sol, e com maior abundância de espaços de ar, resultando em folhas mais finas e menos densas e, portanto com maior AFE, i.e., aumento da área por unidade de massa. A espessura do parênquima paliçádico, que variou em aproximadamente 100%, quando se confronta as folhas sob menor e maior nível de irradiância, é uma evidência anatômica de que as folhas do cafeeiro possuem alta plasticidade a diferentes níveis de irradiância. Saliente-se que, em café, o aumento da AFE com o aumento do sombreamento tem sido relatado por outros autores (e.g., Morais et al., 2004; Araújo et al., 2008). Em todo o caso, a maior proporção de parênquima lacunoso nas folhas de sombra concorre para aumentar o espalhamento interno da luz no mesofilo e, pois, aumentando a absortância foliar (Lambers et al., 1998) e, em última instância, aumentando a eficiência do uso da irradiância.

Fisiologicamente, a baixa I_c deve permitir a obtenção de um balanço positivo de carbono sob irradiâncias extremamente baixas. Os valores reduzidos de I_c observados nas folhas mais sombreadas situam-se no limite inferior da faixa de valores de I_c registrados em café ($2 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Rena et al., 1994). Isso esteve provavelmente associado com uma menor taxa respirat\u00f3ria, maior concentra\u00e7\u00e3o de clorofilas totais em base de massa e maior raz\u00e3o Cl/N. A maior raz\u00e3o Cl/N naquelas folhas indica maior aloca\u00e7\u00e3o de N para produ\u00e7\u00e3o de pigmentos fotossint\u00e9ticos em detrimento de compostos diretamente envolvidos na fixa\u00e7\u00e3o do CO_2 (Evans, 1989; Ellsworth & Reich, 1993). Por outro lado, esperar-se ia uma redu\u00e7\u00e3o na raz\u00e3o Cl a/b – uma das principais respostas observadas em plantas (folhas) desenvolvidas \u00e0 sombra (Walters, 2005). Contudo, a raz\u00e3o Cl a/b n\u00e3o foi afetada pelas varia\u00e7\u00f5es da irradi\u00e2ncia. Essa raz\u00e3o \u00e9 um indicador da propor\u00e7\u00e3o de complexos coletores de luz associados ao FSII (CCL-II) em rela\u00e7\u00e3o a outros complexos contendo clorofilas (Murchie & Horton, 1997). Sugere-se, ent\u00e3o, que, independentemente da irradi\u00e2ncia interceptada, as folhas n\u00e3o alteraram a propor\u00e7\u00e3o relativa de CCL-II. Uma evid\u00eancia adicional de que n\u00e3o houve altera\u00e7\u00f5es em CCL-II prov\u00e9m da const\u00e2ncia da concentra\u00e7\u00e3o de

neoxantina, um carotenóide associado exclusivamente ao CCL-II (Strock et al. 2008). Como consequência, espera-se uma constância da razão FSII/FSI e, portanto, a aclimação à baixa disponibilidade de luz deve ter ocorrido sem uma otimização da alocação de N, especialmente porque um aumento em CCL-II está fortemente associado ao aumento da eficiência fotossintética do uso do N (Walters, 2005). Em todo o caso, o elevado índice de plasticidade da I_c permite, por exemplo, que o café se aclimate a condições lumínicas bem distintas (e.g., sob sombreamento comum em sistemas agroflorestais e em plantios adensados, e pleno sol).

Apesar de não ter havido variação na razão Cl a/b , a razão α/β -Caroteno aumentou progressivamente com a redução da disponibilidade de luz, o que pode ser interpretado como uma resposta de aclimação às baixas irradiâncias (Logan et al., 1996). Nesse contexto, a baixa concentração de anteraxantina, e níveis não detectados de zeaxantina, refletem a falta de necessidade de as folhas dos tratamentos T_1 e T_2 investirem em capacidade de dissipação térmica, um fato facilmente explicável em função da baixa irradiância interceptada (Horton et al., 2008). Porém, a capacidade de fotoproteção daquelas folhas deve ser limitada quando expostas a irradiâncias relativamente elevadas, conforme se depreende pelo menor nível de NPQ sob $600 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 3). Registre-se que, independentemente da base de expressão, o estoque de violaxantina + anteraxantina + zeaxantina foi apenas ligeiramente inferior (17-35%) nas folhas de T_1 em relação às de T_4 , enquanto os valores absolutos de NPQ nas últimas foram quase 100% maiores. Estes resultados sugerem que a conversão de violaxantina a anteraxantina, e desta a zeaxantina, deve ser limitada nas folhas mais sombreadas, possivelmente em função de uma menor atividade da desepoxidase da violaxantina (VDE). Isso poderia explicar, em parte, o porque de mudas de café, quando transferidas de viveiros sombreados para o campo (ou quando o interior da copa é abruptamente exposto a altas irradiâncias, como ocorre após podas severas), exibirem, usualmente, sintomas típicos de escaldadura (danos fotooxidativos).

4.2. Aclimação a altas irradiâncias

As plantas podem apresentar diversos meios para se protegerem contra irradiâncias potencialmente fotoinibitórias. Neste trabalho, a redução da concentração de clorofilas, nas

folhas de T₄ em relação às folhas de T₁, deve ter auxiliado na redução da absorvância foliar e, associada com os menores valores da eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do PSII (F_v'/F_m') reduzido a quantidade total de energia efetivamente absorvida pelos fotossistemas. Decréscimos na concentração de clorofilas totais em folhas submetidas a maiores níveis de irradiância podem estar associados a processos fotooxidativos (e.g., Krause, 1988), ou estar relacionado com alterações na organização dos fotossistemas, de modo a servir como um mecanismo fotoprotetor (e.g., Elvira et al., 1998; Ottander et al., 1995). A segunda hipótese é mais provável, uma vez que não houve qualquer indício de dano oxidativo (razão $F_v'/F_m' \geq 0,82$), apesar da grande diferença (25 vezes) da irradiância interceptada entre as folhas dos tratamentos mais contrastantes. Conforme esperado, houve um decréscimo na razão Cl/Car nas folhas sob maiores níveis de luz, de modo a permitir-lhes um aumento na capacidade de dissipação da energia de excitação, principalmente via ciclo das xantofilas (Demmig-Adams & Adams, 1996a; Ma et al., 2003). Com efeito, a elevação na concentração de carotenóides e/ou uma redução da concentração de clorofilas pode auxiliar as plantas a minimizarem a fotooxidação (Corcuera et al., 2005).

Os menores valores de F_v'/F_m' , nas folhas sob maiores irradiâncias, indicam uma redução na eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do PSII. Reduções em F_v'/F_m' provavelmente estiveram associadas com o aumento no NPQ. Aumentos em NPQ estão linearmente relacionados com a dissipação da energia de excitação na forma de calor pelo complexo-antena associado ao PSII (Demmig-Adams et al., 1996a), e o mecanismo de dissipação da energia luminosa do CCL-II está estritamente associado com a interconversão dos pigmentos do ciclo das xantofilas (Morosinotto et al., 2003; Horton et al., 2008). As folhas dos tratamentos T₃ e T₄ apresentaram maior concentração de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina, bem como maiores valores do estado de desepoxidação (DEPS), envolvendo os componentes do ciclo das xantofilas, indicando uma maior capacidade de dissipação de energia luminosa nestes tratamentos, em comparação com as folhas dos tratamentos T₁ e T₂. O grau de desepoxidação depende de quatro fatores: (i) tamanho do pool de violaxantina, (ii) fração de violaxantina que está disponível para desepoxidação, (iii) pH do lúmen e (iv) presença de ascorbato. O pool de violaxantina depende da espécie e condição de crescimento, e geralmente aumenta sob alta

irradiância ou quando outro estresse afeta a atividade fotossintética (Thayer & Bjorkman, 1990; Bilger et al., 1990; Demmig-Adams & Adams, 1996b; Verhoeven et al., 1996). Geralmente, a acidificação do lúmen para a desepoxidação ocorre quando a intensidade de luz excede a capacidade fotossintética. A concentração de ascorbato é aparentemente alta em plantas aclimatadas a altas irradiâncias para suportar a atividade da VDE (Logan et al., 1998). Provavelmente, sob alta irradiância, a taxa de transporte de elétrons foi elevada, com conseqüente acidificação do lúmen, devido ao armazenamento momentâneo de prótons, de modo a estabelecer-se um gradiente de pH favorável à atividade da VDE. A pressumível maior atividade da VDE sob maiores irradiâncias estaria intimamente relacionada com a maior concentração de zeaxantina, particularmente nas folhas de T₄. Além dos componentes do ciclo das xantofilas, o β -caroteno e a luteína, cujas concentrações (independentemente da base de expressão usada) aumentaram com o aumento da irradiância interceptada, parecem importantes como um mecanismo de fotoproteção em café. Registre-se que o β -caroteno é um potente extintor de clorofila tripleto nos complexos-antena (Trebest et al., 2002) e, portanto, o incremento de sua concentração indica uma maior capacidade de fotoproteção das folhas de sol. Aparentemente, a luteína pode desempenhar um papel na dissipação térmica, mas se desconhece o mecanismo pelo qual isso ocorre (Pogson et al., 1998). Os resultados aqui apresentados corroboram com os de Ramalho et al. (2000), no que diz respeito à aclimatação a altas irradiâncias, com exceção do padrão de resposta da luteína que, diferentemente deste experimento, não foi alterado em resposta à irradiância do referido estudo.

Comparando-se as folhas dos tratamentos T₃ e T₄, observou-se pouca diferença na extensão do NPQ a 300 ou a 600 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 3). Entretanto, as concentrações de zeaxantina (tanto em base de área como de massa) foram quase 300% maiores nas folhas mais iluminadas. Apesar da apregoada relação entre NPQ e zeaxantina (Demmig-Adams et al., 1996b), alguns estudos com mutantes deficientes em zeaxantina têm demonstrado que apenas uma fração relativamente pequena do estoque de zeaxantina é de fato necessária para o desenvolvimento da completa capacidade de extinção não-fotoquímica associada com a zeaxantina (Niyogi et al., 1998; Horton et al. 2008). Tomados em conjunto, essas informações suportam a sugestão de que níveis elevados de zeaxantina podem estar relacionados com outros processos fotoprotetores além do NPQ (Baroli et al.,

2003; Niinemets et al., 2003). Possivelmente, a zeaxantina, *per se*, pode atuar diretamente como um antioxidante no cloroplasto, especialmente protegendo componentes altamente insaturados das membranas dessa organela (Havaux e Niyogi, 1999; Baroli et al., 2003). Isso auxiliaria na fotoproteção das folhas de T₄, que permanecem, provavelmente, sob maior pressão de excitação (taxas fotossintéticas similares, porém sob maiores irradiâncias) que as folhas de T₃. Caso ocorrente, essa fotoproteção adicional se tornaria particularmente importante, na medida em que não se detectou nenhuma diferença nas atividades de três das principais enzimas do metabolismo antioxidante, ao compararem-se aquelas folhas.

Quando a capacidade de dissipação do excesso de energia de excitação é saturada, a atuação eficiente do sistema enzimático antioxidativo pode ser de fundamental importância na proteção celular, limitando a ocorrência do estresse oxidativo. Enquanto a SOD é distribuída em vários compartimentos celulares (*e.g.* mitocôndria, cloroplasto), a APX é tipicamente cloroplastídica (Bray et al., 2000), enquanto a CAT se restringe basicamente aos peroxissomos (Buchanan & Wolosiuk, 2006). Neste trabalho, a atividade das enzimas antioxidantes diferiu entre os tratamentos em extensão relativamente alta. Sugere-se, portanto, uma elevada capacidade de ajustamento do sistema enzimático antioxidante do cafeeiro, em resposta à variabilidade espacial da irradiância. É digno de nota o fato de o índice de plasticidade associado à CAT ter sido maior que aquele associado à SOD e APX. Registre-se que a CAT é a principal enzima responsável pela remoção de H₂O₂ produzido na fotorrespiração (Buchanan & Wolosiuk, 2006) e, portanto, a maior plasticidade dessa enzima deve refletir, pelo menos indiretamente, variações na magnitude da taxa de fotorrespiração na copa do cafeeiro.

4.3. Desempenho fotossintético das folhas de sombra e de sol em resposta à disponibilidade de luz

Diferentemente do esperado, as variações em J_{\max} , V_{\max} e A_{CO_2} foram mínimas, ou mesmo inexistentes, entre as folhas dos tratamentos analisados. Em função das diferenças na concentração de N por unidade de área, e também de diferenças de AFE entre as folhas dos tratamentos, a quantidade de maquinaria fotossintética por unidade de área foliar deve também ter variado. Por conseguinte, comparando-se as folhas de T₁ e T₄, os valores de A_{CO_2} , se expressos em base de massa ou em base de N, seriam 73% e 50%,

respectivamente, maiores nas folhas mais sombreadas. Aparentemente, estes resultados são consistentes com um padrão de aclimação da maquinaria bioquímica de plantas de sol, e que esse padrão não se modificaria, mesmo quando uma folha está sob irradiâncias substancialmente inferiores à sua irradiância de saturação. Com efeito, Araújo et al. (2008) propuseram que variáveis fisiológicas diretamente envolvidas com o ganho de carbono do cafeeiro não se ajustariam à disponibilidade de luz; todavia, aqueles autores não avaliaram folhas tão intensamente sombreadas como as deste estudo. Em todo o caso, a baixa capacidade de o cafeeiro ajustar a sua maquinaria bioquímica da fotossíntese à disponibilidade de luz parece traduzir-se numa estratégia de alocação ineficiente de recursos. Isso representa uma desvantagem do ponto de vista agrônômico, devido principalmente aos elevados custos metabólicos/energéticos para manutenção de uma maquinaria fotossintética robusta em folhas submetidas a baixíssimos níveis de irradiância.

Uma questão intrigante emerge ao se compararem os dados da Tabela 2 e Figuras 2 e 3: por que as folhas mais sombreadas, tendo a mesma capacidade de utilização fotoquímica da irradiância absorvida (evidenciado pelo padrão similar de resposta de qP e Φ_{FSII} à luz) e a mesma capacidade metabólica para utilizar o CO_2 (pelo menos quando em alta concentração), exibiram diferenças tão marcantes em A_{RFA} ? Usualmente, menor A_{RFA} em folhas de sombra tem sido atribuído a um menor investimento dessas folhas em enzimas e outros componentes da maquinaria fotossintética associados à fixação e redução do CO_2 (Walters, 2005; Niinemets, 2007). Essa explicação, pelas razões supramencionadas, não justifica os dados presentes. A única explicação plausível para o fato de as folhas mais sombreadas exibirem menor A_{RFA} sob níveis normais de CO_2 (38 Pa) deve estar associada a uma baixa condutância mesofílica. Apesar de essas folhas serem mais finas e com mais espaços intercelulares, o que favoreceria a difusão gasosa até o cloroplasto (componente físico da condutância mesofílica) (Warren et al., 2003), tem-se relatado, sistematicamente, que o sombreamento leva a uma menor condutância mesofílica associada a componentes metabólicos (e.g., atividade de aquaporinas e da anidrase carbônica) (Flexas et al., 2008). Em todo o caso, independentemente da irradiância, tem-se demonstrado que o cafeeiro exhibe baixa condutância mesofílica (Hanba et al., 2003; Araújo et al., 2008), mas uma capacidade fotossintética potencial relativamente elevada ($30-40 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; DaMatta et al., 2007), o que largamente explica as baixas taxas de fotossíntese normalmente

encontradas (Silva et al., 2004; Araújo et al., 2008; Chaves et al., 2008; DaMatta et al., 2008) e a baixa eficiência fotossintética do uso do N (Araújo et al., 2008). Os dados ora apresentados parecem suportar a baixa eficiência fotossintética do cafeeiro, em nível de dossel, caracterizada por um investimento desnecessário em formar uma maquinaria bioquímica robusta, porém com baixas taxas de fotossíntese.

5-Conclusões Gerais

Os resultados sugerem que o cafeeiro possui algumas características com alta plasticidade fisiológica/bioquímica e anatômica à disponibilidade de luz, particularmente a I_c , que deve estar intimamente relacionada com a aclimação do café a baixas irradiâncias, e a capacidade fotoprotetora (concentrações de zeaxantina, DEPS e NPQ), estreitamente associada com a dissipação do excesso de energia radiante na forma de calor, evidenciando uma aclimação adequada a altos níveis de luz, o que se traduz pela ausência de fotoinibição mesmo na folhagem mais exposta à irradiância. Em síntese, o cafeeiro apresenta algumas características morfofisiológicas com plasticidade fenotípica adequada para lhe permitir ajustar-se à disponibilidade de luz. Todavia, a capacidade de aclimação à irradiância parece ocorrer às expensas de uma alocação ineficiente de recursos, como o N. Tomados em conjunto, estes resultados explicam, em boa extensão, o sucesso do cultivo da espécie à sombra ou a pleno sol, ainda que tenha evoluído em ambientes tipicamente de sombra, e explicam, em parte, também, a necessidade de aplicação de altas doses de adubos, particularmente os nitrogenados, para suportar altas produções de frutos.

6-Referências

- Araujo, W.L.; Dias, P.C.; Moraes, G.A.B.K.; Celin, E.F.; Cunha, R.L.; Barros, R.S.; DaMatta, F.M.** (2008) Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. *Plant Physiology and Biochemistry* (doi: 10.1016/j.plaphy.2008.05.005).
- Atroch, E.M.A.C.; Soares, A.M.; Alvarenga, A.A.; Castro, E.M.** (2001) Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forticata* Link submetidas a diferentes condições de sombreamento. *Ciência e Agrotecnologia* **25**: 853-862.
- Balaguer, L.; Martínez-Ferri, E.; Valladares, F.; Pérez-Corona, M.E.; Baquedano, F.J.; Castillo, F.J.; Manrique, E.** (2001) Population divergence in the plasticity of the response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology* **15**: 124-135.
- Baroli, I.; Do, A.D.; Yamane, T.; Niyogi, K.K.** (2003) Zeaxanthin accumulation in the absence of a functional xanthophyll cycle protects *Chlamydomonas reinhardtii* from photo-oxidative stress. *The Plant Cell* **15**: 992-1008.
- Bilger, W.; Bjorkman, O.** (1990) Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbancy changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research* **25**: 173-185.
- Boyer, J.S.** (1995) Advances in drought tolerance in plants. *Advances in Agronomy* **56**: 187-218.
- Bray, E.A.; Bailey-Serres, J.; Weretilnyk, E.** (2000) Responses to abiotic stresses. *In* Buchanan, B.B.; Gruissen, W.; Jones, R.L, eds, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists. Rockville, USA pp.1158-1203.
- Buchanan, B.B.; Wolosiuk, R.A.** (2006) Photosynthesis: carbon reactions. *In* Taiz, L.; Zeiger, E. eds 4th, *Plant Physiology*, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, England, pp.159-195.
- Cannell, M.G.R.** (1985) Physiology of coffee crop. *In* Clifford, M.N.; Wilson, K.C. eds, *Coffee, Botany, Biochemistry and Production of Bean and Beverage*. Croom Helm, London, UK, pp.108-134.
- Cataldo, D.A.; Schrader, L.E.; Youngs, V.L.** (1974) Analysis by digestion and colorimetric assay of total nitrogen in plant tissues high in nitrate. *Crop Science* **14**: 854-856.

Cataldo, D.A.; Haroon, M.; Schrader, L.E.; Youngs, V.I. (1975) Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **6**: 71-80.

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

Ceulemans, R.; Praet, L.V.; Jiang, X.N. (1995) Effects of CO₂ enrichment, leaf position and clone on stomatal index and epidermal cell density in poplar (*Populus*). *New Phytologist* **131**: 99-107.

Corcuera, L.; Morales, F.; Abadía, A.; Gil-Pelegrín, E. (2005) Seasonal changes in photosynthesis and photoprotection in a *Quercus ilex* subsp. *ballota* woodland located in its upper altitudinal extreme in the Iberian Peninsula. *Tree Physiology* **25**: 599-608.

DaMatta, F.M.; Maestri, M. (1997) Photoinhibition and recovery of photosynthesis in *Coffea arabica* and *C. canephora*. *Photosynthetica* **34**: 439-446.

DaMatta, F.M.; Rena, A.B. (2002) Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. *In* Zambolim, L. ed, O estado da arte de tecnologias na produção de café. UFV, Viçosa, pp. 93-135.

DaMatta, F.M. (2004) Fisiologia do cafeeiro em sistemas arborizados. *In* Matsumoto, S.N. ed, Arborização de Cafezais no Brasil. UESB, Vitória da Conquista, pp. 85-119.

DaMatta, F.M.; Ronchi, C.P.; Barros, R.S.; Maestri, M. (2007) Ecophysiology of coffee growth and production. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **19**: 485-510.

DaMatta, F.M.; Cunha, R.L.; Antunes, W.C.; Martins, S.C.V.; Araujo, W.L.; Fernie, A.R.; Moraes, G.A.B.K. (2008) In field-grown coffee trees source-sink manipulation alters photosynthetic rates, independently of carbon metabolism, via alterations in stomatal function. *New Phytologist* **178**: 348-357.

Demmig-Adams, B.; Adams, W.W. (1996) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **43**: 599-626.

Demming-Adams, B.; Adams, W.W.; Baker, D.H.; Logan, B.A.; Bowling, D.R.; Verhoeven, A.S. (1996) Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum* **98**: 253-264.

Dias, P.C. (2006) Variação espacial da fotossíntese e de mecanismos de fotoproteção no cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 34p. (Tese MS).

Ellsworth, D.S.; Reich, P.B. (1993) Canopy structure and vertical patterns of photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia* **96**: 169-178.

Elvira, R.; Alonso, S.; Castilho, J.; Gimeno, B.S. (1998) On the response of pigments and antioxidants of *Pinus halepensis* to mediterranean climate factors and long-term ozone exposure. *New Phytologist* **138**: 419-432.

Evans, J.R. (1989) Photosynthesis and nitrogen relationship in leaves of C₃ plants. *Oecologia* **78**: 9-19.

Fahl, J.I.; Carelli, M.L.C.; Vega, J.; Magalhães, A.C. (1994) Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica* L.). *Journal of Horticultural Science* **69**: 161-169.

Fahn, A. (1990) *Plant Anatomy*. 2nd edition. Butterworth Heinemann, Oxford, USA, 588p.

Farquhar, G.D.; Caemmerer, S.; Berry, J.A. (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* **149**: 78-90.

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

Foyer, C.H.; Lescure, J.C.; Lefebvre, C.; Morot-Gaurdy, J.F.; Vicentz, M.; Vancheret, H. (1994) Adaptation of photosynthetic electron transport, carbon assimilation, and carbon partitioning in transgenic *Nicotiana plumbaginifolia* plants to change in nitrate reductase activity. *Plant Physiology* **104**: 171-178.

Freitas, R.B.; Oliveira, L.E.M.; Delú-Filho, N.; Soares, A.M. (2003) Influência de diferentes níveis de sombreamento no comportamento fisiológico de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). *Ciência e Agrotecnologia* **27**: 804-810.

Friend, D.J.; Pomeroy, M.E. (1970) Changes in cell size and number associated with the effects of light intensity and temperature on the leaf morphology of wheat. *Canadian Journal of Botany* **48**: 85-90.

Giannopolitis, C.N.; Ries, S.K. (1977) Superoxide dismutases I: occurrence in higher plants. *Plant Physiology* **59**: 309-314.

- Habermann, G.; Machado, E.C.; Rodrigues, J.D.; Medina, C.L.** (2003) CO₂ assimilation, photosynthetic light responses curves and water relations of “Pera” sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **15**: 79-87.
- Hanba, Y.T.; Kogami, H.; Terashima, I.** (2003) The effect of internal CO₂ conductance on leaf carbon isotope ratio. *Isotopes in Environmental and Health Studies* **39**: 5-13.
- Harley, P.C.; Sharkey, T.D.** (1991) An improved model of C₃ photosynthesis at high CO₂: reversed O₂ sensitivity explained by lack of glycerate re-entry into the chloroplast. *Photosynthesis Research* **27**: 169-178.
- Havaux, M.; Niyogi, K.K.** (1999) The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **96**: 8762–8767.
- Havir, E.A.; McHale, N.A.** (1987) Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology* **84**: 450-455.
- Hollinger, D.Y.** (1989) Canopy organization and foliage photosynthetic capacity in a broadleaved evergreen montane forest. *Functional Ecology* **3**: 52-62.
- Horton, P.; Johnson, M.P.; Perez-Bueno, M.L.; Kiss, A.Z.; Ruban, A.V.** (2008) Photosynthetic acclimation: Does the dynamic structure and macro-organisation of photosystem II in higher plant grana membranes regulate light harvesting states? *FEBS Journal* **275**: 1069-1079.
- Iio, A.; Fukasawa, H.; Nose, Y.; Kato, S.; Kakubari, Y.** (2005) Vertical, horizontal and azimuthal variations in leaf photosynthetic characteristics within a *Fagus crenata* crown in relation to light acclimation. *Tree Physiology* **25**: 533-544.
- Ishida, A.; Nakano, T.; Matsumoto, Y.; Sakoda, M.; Ang, L.H.** (1999) Diurnal changes in leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence in tropical tree species with contrasting light requirements. *Ecological Research* **14**: 77-88.
- Johansen, D.A.** (1940) *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Co Inc, New York, USA, 423p.
- Johnson, G.N.; Scholes, J.D.; Horton, P.; Young, A.J.** (1993) Relationships between carotenoid composition and growth habit in British plant species. *Plant, Cell and Environment* **16**: 681-686.

Kanechi, M.; Uchida, N.; Yasuda, T.; Yamaguchi, T. (1996) Non-stomatal inhibition associated with inactivation of Rubisco in dehydrated coffee leaves under unshaded and shaded conditions. *Plant and Cell Physiology* **37**: 455-460.

Kozlowski, T.T.; Pallardy, S.G. (1997) *Physiology of Woody Plants*. Academic Press, San Diego, USA, 411p.

Krause, G. H. (1988) Photoinhibition of photosynthesis - an evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum* **74**: 566-574.

Kumar, D.; Tieszen, L.L. (1980) Photosynthesis in *Coffea arabica*. L. Effects of light and temperature. *Experimental Agriculture* **16**: 13-19.

Lambers, H.; Chapin III, F.S.; Pons, T.L. (1998) *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, New York, USA, 539p.

Lichtenthaler, H.K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology* **148**: 350-382.

Lima, A.L.S.; DaMatta, F.M.; Pinheiro, H.A.; Totola, M.R.; Loureiro, M.E. (2002) Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany* **47**: 239-247.

Logan, B.A.; Barker, D.H.; Demmig-Adams, B.; Adams III, W.W. (1996) Acclimation of leaf carotenoid composition and ascorbate levels to gradients in the light environment within an Australian rainforest. *Plant, Cell and Environment* **19**: 1083-1090.

Logan, B.A.; Grace, S.C.; Adams, W.W.; Demmig-Adams, B. (1998) Seasonal differences in xanthophyll cycle characteristics and antioxidants in *Mahonia repens* growing in different light environments. *Oecologia* **116**: 9-17.

Long, S.P.; Bernacchi, C.J. (2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* **54**: 2393-2401.

Ma, Y-Z.; Holt, N.E.; Li, X-P.; Niyogi, K.K.; Fleming, G.R. (2003) Evidence for direct carotenoid involvement in the regulation of photosynthetic light harvesting. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **100**: 4377-4382.

Malkin, R.; Niyogi, K. (2000) Photosynthesis. *In* Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. eds, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists, Rockville, USA, pp. 568-628.

Morais, H.; Medri, M.E.; Marur, C.J.; Caramori, P.H.; Ribeiro, A.M.D.; Gomes, J.C. (2004) Modifications on leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of pigeonpea (*Cajanus cajan*). Brazilian Archives of Biology and Technology **47**: 863-871.

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

Murchie, E.H.; Horton, P. (1997) Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: Chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. Plant, Cell and Environment **20**: 438-448.

Nadeau, J.A.; Sack, F.D. (2003) Control of stomata distribution on the *Arabidopsis* leaf surface. Science **296**: 1697-1700.

Nakano, Y.; Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology **22**: 867-880.

Niinemets, U. (2007) Photosynthesis and resource distribution through plant canopies. Plant, Cell and Environment **30**: 1052-1071.

Niinemets, U.; Kollist, H.; Garcia-Plazaola, J.I.; Hernandez, A.; Becerril, J.M. (2003) Do the capacity and kinetics for modification of xanthophylls cycle pool size depend on growth irradiance in temperate trees? Plant, Cell and Environment **26**: 1787-1801.

Niyogi, K.K.; Grossman, A.R.; Bjorkman, O. (1998) *Arabidopsis* mutants define a central role for the xanthophylls cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion. The Plant Cell **10**: 1121-1134.

O'Brien, T.P.; Feder, N.; McCully, M.E. (1965) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. Protoplasma **59**: 368-373.

Ottander, C.; Campbell, D.; Oquist, G. (1995) Seasonal-changes in photosystem-II organization and pigment composition in *Pinus-Sylvestris*. Planta **197**: 176-183.

Paul, M.J.; Driscoll, S.P. (1997) Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signaling nitrogen deficiency through source: sink imbalance. Plant, Cell and Environment **20**: 110-116.

Paiva, L.C.; Guimarães, R.J.; Souza, C.S. (2001) Aspectos fisiológicos de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) formadas a pleno sol. In Simpósio de Pesquisa de Cafés do Brasil, II, 2001, Vitória. Resumos... Embrapa Café, Brasília, pp.11.

Pogson, B.J.; Niyogi, K.K.; Bjoerkman, O.; DellaPenna, D. (1998) Altered xanthophyll compositions adversely affect chlorophyll accumulation and non-photochemical quenching in *Arabidopsis* mutants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **95**: 13324-13329.

Poorter, L. (2001) Light-dependent changes in biomass allocation and their importance for growth of rain forest tree species. *Functional Ecology* **15**: 113-123.

Ramalho, J.C.; Pons, T.L.; Groeneveld, H.W.; Nunes, M.A. (1997) Photosynthesis responses of *Coffea arabica* leaves to a short-term high light exposure in relation to N availability. *Physiologia Plantarum* **101**: 229-239.

Ramalho, J.C.; Pons, T.L.; Groeneveld, H.W.; Azinheira, H.G.; Nunes, M.A. (2000) Photosynthetic acclimation to high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 43-51.

Rena, A.B.; Barros, R.S.; Maestri, M.; Söndahl, M.R. (1994) Coffee *In* Schaffer, B.; Anderson, P.C. eds, *Environmental Physiology of Fruit Crops: vol II. Sub-Tropical and tropical crops*, CRC press, Boca Raton, USA, pp. 101-122.

Rhizopoulou, S.; Meletiou-Christou, M.S.; Diamantoglou, S. (1991) Water relations for sun and shade leaves of four Mediterranean evergreen sclerophyll. *Journal of Experimental Botany* **42**: 627-635.

Salisbury, E.J. (1927) On the causes and ecological significance of stomatal frequency with special reference to the woodland flora. *Philosophical Transactions of the Royal Society* **216**: 1-65.

Sharkey, T.D. (1985) Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants: physics, physiology and rate limitations. *Botanical Review* **51**: 53-105.

Silva, E.A.; DaMatta, F.M.; Ducatti, C.; Regazzi, A.J.; Barros, R.S. (2004) Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis in Arabica coffee trees. *Field Crops Research* **89**: 349-357.

Strock, M.; Kuldová, K.; Kalina, J.; Spunda, V. (2008) Dynamics of the xanthophyll cycle and non-radiative dissipation of absorbed light energy during exposure of Norway spruce to high irradiance. *Journal of Plant Physiology* **165**: 612-622.

Thayer, S. S.; Bjorkman, O. (1990) Leaf xanthophyll content and composition in sun and shade determined by HPLC. *Photosynthesis Research* **23**: 331-343.

Trebst, A.; Depka, B.; Holländer-Czytko, H. (2002) A specific role for tocopherol and of chemical singlet oxygen quenchers in the maintenance of photosystem II structure and function in *Chlamydomonas reinhardtii*. FEBS Letters **516**: 156-160.

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

Verhoeven, A. S.; Adams, W.W.; Demmig-Adams, B. (1996) Close relationship between the state of the xanthophyll cycle pigments and photosystem II efficiency during recovery from winter stress. Physiologia Plantarum **96**: 567-576.

Walters, R.G. (2005) Towards an understanding of photosynthetic acclimation. Journal of Experimental Botany **56**: 435-447.

Warren, C.R.; Ethier, G.J.; Livingston, N.J.; Grant, N.J.; Turpin, D.H.; Harrison, D.L; Black, T.A. (2003) Transfer conductance in second growth Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) canopies. Plant, Cell and Environment **26**: 1215-1227.

Yano, S.; Terashima, I. (2001) Separate localization of light signal perception for sun or shade type chloroplast and palisade tissue differentiation in *Chenopodium album*. Plant and Cell Physiology **42**: 1303-1310.