

LUCIANA MARQUES DE CARVALHO

EFEITOS MORFOFISIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÕES NOTURNAS
A BAIXAS TEMPERATURAS SOBRE MUDAS DE
Coffea canephora PIERRE E *C. arabica* L.

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
ABRIL - 1997

LUCIANA MARQUES DE CARVALHO

EFEITOS MORFOFISIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÕES NOTURNAS
A BAIXAS TEMPERATURAS SOBRE MUDAS DE
Coffea canephora PIERRE E *C. arabica* L.

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 8 de novembro de 1996.

Prof.^a Aristéa Alves Azevedo
(Conselheiro)

Prof. Paulo Roberto Cecon
(Conselheiro)

Prof. Paulo Roberto Mosquim

Prof. Wagner Campos Otoni

Prof. Eldo Antônio Monteiro da Silva
(Orientador)

A Deus.
A minha família.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

À Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária (EMCAPA) e à Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais (EPAMIG), pela cessão do material vegetal.

Ao professor Eldo A. Monteiro da Silva, pela orientação e pela amizade.

Ao professor Paulo R. Cecon, pela orientação nos estudos estatísticos e pelas sugestões durante a realização dos experimentos.

Aos professores Aristéa A. Azevedo, Paulo R. Mosquim e Wagner Campos Otoni, pelas críticas e pelas sugestões.

Ao Tônico, da EMATER/EPAMIG, pela colaboração na obtenção e pelo cuidado das plantas.

Aos professores e demais usuários do Laboratório de Morfologia Animal, pela permissão para utilização de equipamento e pela boa convivência com todos.

Aos técnicos Rosane e Zilda, pela amizade e pela colaboração.

Aos funcionários José Maria e José Carlos, pela colaboração nos cuidados com as plantas na casa de vegetação

Aos professores José Eugênio, Cristina e José Pires, pela minha formação acadêmica.

A meus pais, Amélia e Fernando, e à tia Nerina, pela dedicação incondicional em todos os momentos de minha vida.

Ao Marcelo, pelo incentivo, pelo apoio, pela compreensão e pelo carinho constantes.

Aos amigos Renita, Andrés, Francisco, Diolina, Célia, Karen e Andréia, pelo apoio e pela amizade.

Aos professores, funcionários, colegas e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Luciana Marques de Carvalho, filha de Fernando Pires de Carvalho e Amélia Marques de Carvalho, nasceu em Belo Horizonte, Minas Gerais, no dia 8 de abril de 1971.

Iniciou, em 1989, o curso de Ciências Biológicas, na Universidade Federal de Minas Gerais, concluindo-o em 1993.

Foi bolsista de Iniciação Científica da FAPEMIG, no período de novembro de 1991 a julho de 1993, no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Minas Gerais.

Em março de 1994, iniciou o curso de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa.

CONTEÚDO

	Página
EXTRATO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	5
2.1. Material vegetal	5
2.2. Tratamento por frio	5
2.3. Taxa fotossintética líquida e processos afins	7
2.4. Estudos morfoanatômicos	8
2.5. Análises estatísticas.....	10
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
3.1. Taxa fotossintética líquida e processos afins	11
3.2. Efeitos morfoanatômicos	27
4. RESUMO E CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
APÊNDICE	50

EXTRATO

CARVALHO, Luciana Marques de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, abril de 1997. **Efeitos morfofisiológicos de exposições noturnas a baixas temperaturas sobre mudas de *Coffea canephora* Pierre e *C. arabica* L.** Professor Orientador: Eldo A. Monteiro da Silva. Professores Conselheiros: Aristéa Alves Azevedo e Paulo Roberto Cecon.

Nas regiões tropicais, onde se cultiva o café, podem ocorrer ocasionais noites frias, com temperaturas abaixo de 10°C durante uma ou duas horas. A fim de comparar dois cultivares de cafeeiro e investigar os efeitos de exposições a baixas temperaturas por seis horas consecutivas ou por duas horas, em diferentes partes da noite sobre cafeeiros, submeteu-se plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon (linhagem 81.11, clone 29) e *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho (UFV 2144, linhagem 2077-2-5 44) a estresse por frio. Foram cinco os tratamentos: controle (1); exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas consecutivas, durante uma única noite (2); exposição por duas horas a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ no início (3); no meio; (4) e no fim (5) de três noites consecutivas. Não houve efeito sobre os valores das taxas fotossintéticas líquidas, transpiratórias e de condutância estomática. A espessura das lâminas foliares das plantas de *C. canephora* Pierre cv. Conilon quando expostas a baixa temperatura no início, meio ou fim de noite aumentou, mas no caso da exposição por seis horas consecutivas, durante uma única noite, não houve modificação. O aumento na espessura foi explicado apenas por alterações nos tecidos parenquimáticos. Comparando-se os dois cultivares de cafeeiro, verificou-se que as plantas de *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho, independente do tratamento, apresentaram taxas fotossintéticas, transpiratórias e de condutância estomática bem menores do que as plantas do cultivar Conilon, e médias maiores

de emissão de fluorescência inicial. A menor eficiência do sistema antena das plantas de Catuaí Vermelho, quando comparadas com as de Conilon, se refletiu nas baixas taxas de fotossíntese líquida, transpiratória e de condutância estomática. As plantas de Catuaí Vermelho apresentam, em corte paradérmico, células epidérmicas com contorno sinuoso e maiores do que as presentes nas lâminas foliares das plantas de Conilon. Além disso as plantas de Catuaí Vermelho apresentam estômatos predominantemente paracíticos na epiderme foliar, enquanto as plantas de Conilon apresentam maior número de estômatos e tendência ao tipo actinocítico.

ABSTRACT

CARVALHO, Luciana Marques de, M.S., Federal University of Viçosa, april 1997.
Morphophysiological effects of exposure to low night temperatures on *Coffea canephora* PIERRE and *C. arabica* L. seedlings. Adviser: Eldo A. Monteiro da Silva. Committee Members: Aristéa Alves Azevedo and Paulo Roberto Cecon.

In tropical regions where coffee is grown, low night temperatures below 10°C lasting up to two hours can occasionally occur. The objective of this study was to compare the effects on two coffee cultivars of exposure to low temperatures during six consecutive hours or during two hours, in different parts of the night. *Coffea canephora* cv. Conilon (lineage 81.11, clone 29) and *C. arabica* cv. Catuaí Vermelho (UFV 2144, lineage 2077-2-544) were subjected to chilling stress under five treatments: control; exposure to $8 \pm 1^\circ\text{C}$ for six consecutive hours during one night and three treatments of two hours exposure to $8 \pm 1^\circ\text{C}$ in the beginning, middle and end of three consecutive nights. There was no effect on the values of net photosynthesis, transpiration and stomatal conductance rates. Leaf thickness of the Conilon plants increased following low temperature in the beginning, middle and end of the night; however, there was no change following six consecutive hours exposure. The increase in leaf thickness was explained only by alterations in the parenchyma tissues. Catuaí plants presented lower rates of net photosynthesis, transpiration and stomatal conductance than Conilon plants as well as higher initial fluorescence emission averages, regardless of treatment. The lower antenna system efficiency of Catuaí plants was reflected in the low rates of net

photosynthesis, transpiration and stomatal conductance. In paradermal sections, Catuaí epidermal cells are sinuous in outline and larger than those of Conilon. Also, Catuaí stomata are predominantly paracytic while Conilon stomata are more numerous tending to an actinocytic type.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador e produtor mundial de café, planta tropical de origem africana. Das aproximadamente 100 espécies de cafeeiro, duas são largamente comercializadas no mundo: *Coffea arabica* L. (café arábica) e *C. canephora* Pierre (café robusta). No Brasil, a maior parte do café plantado é arábica, existindo o robusta em poucas áreas: Espírito Santo, norte do Rio de Janeiro, Minas Gerais (Vale do Rio Doce), Mato Grosso, Rondônia, sul da Bahia e Acre (BORIN, 1971; FAZUOLI, 1986).

A produção de café robusta vem crescendo e concorrendo com a de arábica, embora a qualidade da bebida produzida pelo primeiro seja inferior. O robusta apresenta algumas vantagens comerciais: é cotado no mercado internacional a preço mais reduzido, é bastante usado na indústria de café solúvel e pode ser usado em misturas com o arábica, barateando, assim, o custo do produto final. Devido a maior sensibilidade do café arábica ao fungo *Hemileia vastatrix*, causador da ferrugem, principal fonte de prejuízo à produção do arábica, o *C. canephora* Pierre cv. Conilon, o qual é menos sensível a esse patógeno, passou a apresentar interesse econômico para algumas áreas do território nacional (BORIN, 1971; FAZUOLI, 1986).

Danos à produtividade são freqüentemente causados por condições ambientais desfavoráveis: extremos de temperatura, falta ou excesso de água, alta radiação solar ultravioleta, excesso de salinidade no solo e presença de poluentes tóxicos (SMILLIE e HETHERINGTON, 1983). Por isso, estudos relativos à produtividade sob condições inadequadas têm sido alvo crescente de interesse científico e econômico (YORDANOV, 1992).

A maioria das plantas tropicais, como o café, é muito susceptível a temperaturas entre 0 e 12°C (LEVITT, 1980; BAUER et al., 1985 e 1990). A fotossíntese é um dos processos primeiro e mais largamente afetado por extremos de temperatura (BAUER et al., 1985 e 1990; HALLGREN et al., 1991). A capacidade fotossintética de plantas de café expostas por várias semanas a temperaturas pouco acima do limite de sensibilidade ao frio decresce consideravelmente (BAUER et al., 1985). Por outro lado, exposições esporádicas e breves ao frio podem comprometer o crescimento e desenvolvimento das plantas, ou ao menos, a sua produtividade (BAUER et al., 1990). Várias evidências vêm sendo acumuladas, indicando que as taxas fotossintéticas dependem das condições de temperatura imediatamente anteriores ao momento das medições de fotossíntese (CROOKSTON et al., 1974). Segundo IZHAR e WALLACE (1967) e GRANTZ (1989), as taxas de absorção de CO₂ e de condutância estomática são drasticamente reduzidas nas manhãs subseqüentes a ocasionais noites frias. Reduções na atividade fotossintética podem ter diferentes causas: danos na estrutura dos cloroplastos e estômatos (DRAKE e SALISBURY, 1972; DRAKE e RASCHKE, 1974); alterações na freqüência, padrão de distribuição dos estômatos (HUNER, 1985) e resistência estomática (IZHAR e WALLACE, 1967; CROOKSTON et al., 1974); redução na translocação de fotoassimilados e acúmulo de amido nos cloroplastos (BAUER et al., 1985; SHATTERS JR. e WEST, 1995); ou mudança na atividade das enzimas fotossintetizantes (PEOPLES e KOCH, 1978; MARTIN et al., 1981).

Qualquer condição subótima pode, além de afetar direta ou indiretamente o metabolismo fotossintético, alterar a emissão de fluorescência a partir das moléculas de clorofila *a* (LYONS, 1973; SMILLIE e HETHERINGTON, 1983). Da energia solar absorvida pelas moléculas de clorofila parte é usada para dirigir as reações “químicas” da fotossíntese e parte é dissipada de vários modos, como a emissão de fluorescência. Diante do total de energia absorvida pelas plantas, a emissão de fluorescência representa uma perda muito pequena de energia, que potencialmente poderia ser usada na fotossíntese e por essa razão, é considerada indicador da atividade fotossintética (RADENOVIC et al., 1994). Baixas temperaturas reduzem a taxa de fotossíntese, aumentando a proporção de centros de reação fechados e inibindo o ciclo de reparo do fotossistema II (FSII) e dos processos que protegem as plantas de fotoinibição (JANDA et al., 1994). Nos últimos anos tornou-se evidente que fotoinibição resulta não só da exposição de plantas a irradiâncias maiores do que a utilizável na fotossíntese ou dissipada em processos prejudiciais ao aparato fotossintético, mas também de fatores, como as baixas temperaturas e déficit hídrico, que causam decréscimo na atividade

fotossintética (JANDA et al., 1994). O mecanismo exato de fotoinibição ainda não é totalmente conhecido, mas há evidências de que o principal sítio de prejuízo localiza-se no FSII. Sabe-se que níveis mínimos de fluorescência são obtidos quando todos os centros de reação estão abertos e que, quando todos estão fechados, a fluorescência é máxima (KRAUSE, 1988). A desnaturação térmica do FSII pode, por exemplo, ser detectada por um abrupto aumento na emissão de fluorescência inicial ou de origem (F_0), a uma temperatura crítica. Este aumento pode fornecer informação sobre a fluidez das membranas tilacoidais (TERZAGHI et al., 1989), uma vez que o FSII é a parte mais termolábil do sistema fotossintetizante e a temperatura na qual as enzimas do FSII se desnaturam é influenciada pela fluidez das membranas tilacóides (BERRY e BJORKMAN, 1980). A razão entre fluorescência variável (F_v) e fluorescência máxima (F_m) indica a capacidade fotoquímica do FSII e um decréscimo desse parâmetro é um dos sinais mais confiáveis da ocorrência de fotoinibição (JANDA et al., 1994; RADENOVIC et al., 1994).

Além dos danos metabólicos, baixas temperaturas podem conferir às folhas aparência encharcada, pontuada, clorótica e murcha (McMAHON et al., 1994). Em termos morfoanatômicos, a resposta ao estresse de temperatura pode incluir colapso de células do mesofilo e formação de camada necrótica interna (MCCONNELL e SHEEHAN, 1978), redução do volume de espaços intercelulares e aumento da espessura das folhas (BANDURSKI et al., 1953). Em cafeeiros, as folhas estão entre os órgãos que sofrem severos danos por frio (BODNER e LARCHER, 1987; BAUER et al., 1990). Mas, além das folhas, outros órgãos sofrem danos por baixa temperatura. SILVA et al. (1976) verificaram, nos caules de cafeeiros (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo) expostos a temperaturas extremas (abaixo de 15°C e acima de 35°C), redução da translocação de fotoassimilados. Nas plantas submetidas a baixas temperaturas uma das causas dessa redução, segundo SILVA et al. (1976), pode ter sido uma obstrução dos poros dos tubos crivados produzida pelo colapso do material citoplasmático que recobre as paredes internas dos tubos crivados.

Períodos extensos de baixa temperatura são, em geral, letais às plantas e períodos mais curtos podem atrasar ou modificar permanentemente o seu crescimento e desenvolvimento (CREENCIA e BRAMLAGE, 1971; MARTIN et al., 1981). GRIMSTAD (1995) verificou que “pulsos” (exposições por duas horas) de baixa temperatura restringem o crescimento da parte aérea em plantas de pepino e tomate. A taxa de redução do crescimento parece variar de acordo com o momento do dia ou da noite em que o “pulso” de baixa temperatura é aplicado. GRIMSTAD (1995) cita trabalhos semelhantes com calanchoe, petunia,

crisântemo, *Vigna sinensis*, *Chenopodium rubrum*. Apesar da freqüência dessas noites frias ser alta, são exíguos os estudos sobre os efeitos de breves exposições a baixas temperaturas. As poucas pesquisas sobre estresse por baixas temperaturas em café tratam de exposições por dez ou mais horas consecutivas e não relatam efeitos morfoanatômicos.

Conhecimentos sobre os efeitos morfofisiológicos de extremos de temperatura sobre as plantas e suas condições posteriores de recuperação são imprescindíveis. Além disso, estresse por frio não é necessariamente, de todo, prejudicial. É importante alertar para a possibilidade de se usufruir de alterações induzidas, na planta, por estresses ou tratamentos por baixas temperaturas (MORRIS , 1982).

Os objetivos deste estudo foram (1) investigar os efeitos de exposições noturnas a $8 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sobre a fotossíntese e alguns aspectos da anatomia foliar em plantas de café robusta (*C. canephora* Pierre cv. Conilon) e arábica (*C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho); (2) verificar se há diferentes efeitos quando a exposição a $8 \pm 1^{\circ}\text{C}$ é por seis horas consecutivas em uma única noite ou por duas horas em três noites; (3) verificar se o efeito sobre os cafeeiros difere quando a exposição a $8 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ocorre no início, meio ou fim de noite.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal

Foram utilizadas mudas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon (linhagem 81.11, clone 29) e mudas de *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho (UFV 2144, linhagem 2077 -2 -5-44), as quais foram cultivadas em casa de vegetação de outubro de 1995 a março de 1996. As mudas de *C. canephora* Pierre (dois a três pares de folhas), obtidas por propagação vegetativa a partir do ramo ortotrópico da planta matriz, foram fornecidas pela Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária (Marilândia, ES) e as mudas de *C. arabica* L. (três a quatro pares de folhas), obtidas a partir de sementes, foram adquiridas na Empresa Agropecuária do Estado de Minas Gerais (Viçosa, Minas Gerais). Cada muda foi transferida para um vaso plástico preto, com aproximadamente 0,003 m³ de capacidade, contendo uma mistura de solo (Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico) e esterco de curral curado, na proporção de 70% e 30%, respectivamente. A composição química do solo foi determinada pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Solos, da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais (Apêndice A). Os cafeeiros foram irrigados três vezes por semana e uma semana após o transplante receberam adubação foliar (Apêndice A) por meio de pulverização.

2.2. Tratamento por frio

Em Viçosa (MG), como em toda a região tropical, onde se cultiva café, além de geadas podem ocorrer ocasionais noites frias com temperaturas baixas e

não-congelantes. Os extremos de temperatura, em geral, persistem por uma ou duas horas (Apêndice A).

A fim de se detectar a possível localização de danos visuais nas folhas e definir a temperatura a ser utilizada nos tratamentos, foram feitos alguns ensaios preliminares com temperaturas entre 5 e $8 \pm 1^\circ\text{C}$ e tempo de exposição de até dez horas consecutivas, por até três noites seguidas. Em cada ensaio, três plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon foram expostas a mesma faixa de baixa temperatura, em câmara fria (com volume de $4,4 \text{ m}^3$; do Laboratório de Biofísica do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa) e sob condição de escuro. Não foram feitos ensaios com plantas de *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho, porque estas foram utilizadas apenas para fins de comparação. As plantas expostas a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ por três horas apresentaram alteração na coloração dos $2/3$ superiores da folha. Após dez horas a essa temperatura, a extensão da área com danos progrediu e no dia seguinte evoluiu para necrose e murcha. Em função das injúrias foliares causadas pela temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$, e considerando a dificuldade de estudos anatômicos feitos a partir de folhas com grandes regiões necrosadas ou murchas, resolveu-se testar o efeito de temperaturas maiores do que $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Foram, assim, realizados ensaios com temperaturas de 6 a 8°C . A $8 \pm 1^\circ\text{C}$ observou-se, após seis horas de exposição, mudança no aspecto e coloração das folhas do segundo, terceiro e do quarto pares de folhas abertas mais apicais. Enquanto as folhas do segundo par apresentaram coloração amarronzada nos $2/3$ superiores das folhas, nas faces superior e inferior, as folhas do terceiro e quarto nó apresentaram tal coloração na região das margens (na porção mediana e apical) e no ápice da superfície inferior, e uma coloração verde amarronzada nas mesmas regiões da superfície superior da folha. Com a observação da ocorrência, a 5 , 6 , 7 e $8 \pm 1^\circ\text{C}$, de danos visuais nas margens e ápice das folhas e a partir dos resultados descritos por BODNER e LARCHER (1987) para cafeeiros, definiu-se essas áreas como regiões de coleta de amostra foliar para análise anatômica. A partir do resultado desses ensaios e sabendo que, segundo BORIN (1971), a temperatura inferior crítica para as plantas da espécie *C. canephora* Pierre é 8°C , decidiu-se utilizar essa faixa de temperatura nos experimentos de tese.

Os tratamentos por baixa temperatura ($8 \pm 1^\circ\text{C}$) foram conduzidos em câmara fria (com $9,20 \text{ m}^3$ de volume; do Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa) e em condição de escuro. Por razões de ordem técnica e burocrática esses tratamentos precisaram ser realizados em câmara fria diferente da utilizada nos ensaios preliminares (Quadro1). Cada tratamento contou com cinco plantas, uma por vaso, constituindo cada qual uma repetição. Após cada período de frio, as plantas

Quadro 1 - Características das câmaras frias utilizadas nos ensaios preliminares (1) e no experimento de tese (2)

Câmara fria	Altura (m)	Comprimento (m)	Largura (m)	Volume (m ³)
1	2,40	2,30	1,67	9,22
2	2,40	1,37	1,35	4,44

foram reconduzidas à casa de vegetação; enquanto as plantas do tratamento-controle foram mantidas durante todo o tempo em casa de vegetação (temperatura média de 25°C), em razão da não existência de ambiente semelhante ao da câmara fria, mas com temperatura superior (Apêndice A). Foram cinco os tratamentos: (1) controle; (2) exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$, em uma noite, por seis horas consecutivas (das 24:00 às 6:00 horas); (3) exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$, por duas horas, no início (das 18:00 às 20:00 horas); (4) no meio (das 23:00 à 1:00 hora) e (5) no fim (das 4:00 às 6:00 horas) de três noites consecutivas.

2.3. Taxa fotossintética líquida e processos afins

Os efeitos de breves exposições de cafeeiros às baixas temperaturas noturnas sobre o metabolismo fotossintético foram determinados a cada dois dias, de 8:00 às 10:30 horas, durante uma semana, a partir da última exposição ao frio. Foram utilizadas as folhas abertas mais apicais, com comprimento variando entre 14 e 17 cm. As taxas fotossintéticas líquidas (A), transpiratórias (E), e de condutância estomática (G_s), as temperaturas foliares internas (T_f) e as concentrações de dióxido de carbono na cavidade subestomática (C_{SE}) foram determinadas por meio do analisador de gases a infravermelho, portátil, modelo LCA-2 (“Analytical Development Co. Ltd.”, Hoddeston, Inglaterra). As medições foram feitas em “sala especial” com temperatura ambiente mantida em torno de 20°C, concentração de CO_2 atmosférica e taxa de fluxo de fótons saturante (900 e 1.100 $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente, para as plantas dos cultivares Conilon e Catuaí Vermelho), previamente determinada mediante curva de irradiância de saturação, para cada cultivar.

A emissão de fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v) e razão F_v/F_m a partir das moléculas de clorofila **a** foi acompanhada com o uso de um fluorômetro portátil - “Plant Efficiency Analyser”, PEA, modelo PO2.002 (Hansatech Instruments Ltd., King’s Lynn, Norfolk, Inglaterra). As folhas utilizadas para essas medições foram as mesmas empregadas nas medições da taxa fotossintética líquida, após pré-condicionamento no escuro, por uma hora, para garantir o estado oxidado dos centros de reação fotossintéticos. A medição dos sinais de fluorescência foi feita em casa de vegetação entre 10:30 e 11:30 horas da manhã.

2.4. Estudos morfoanatômicos

Para o estudo anatômico, tiras foliares com até 5 mm de largura, próximas e paralelas às margens, foram obtidas com o uso de lâminas de barbear, a partir das folhas abertas do segundo par a partir do ápice (Figura 1). O local das coletas foi determinado, como já mencionado, a partir dos resultados dos ensaios preliminares. Foram feitas oito coletas de amostras foliares para análise anatômica, conforme Quadro 2.

As amostras foliares foram fixadas em glutaraldeído 3% (v/v) a 4°C por 30 horas; em seguida, lavadas em tampão de fosfato de potássio 0,1M, pH = 7,5, desidratadas em série alcoólica progressiva e incluídas em historesina (Technovit, da Khulzer). Os blocos, assim obtidos, foram guardados em dessecador a vácuo até serem utilizados. Para estudo em microscopia de luz, cortes de 5 mm de espessura, feitos a partir do material embocado, com micrótomo rotativo (Jung), foram coloridos com azul de toluidina e montados em bálsamo do Canadá entre lâmina e lamínula (BERLYN e MIKSCHE, 1976). A observação e documentação foram realizadas em fotomicroscópio Zeiss-Duocal. A espessura da lâmina foliar (EST), do mesofilo (ESM), do parênquima paliçádico (ESPP) e do parênquima lacunoso (ESPL) foi estimada por meio de medições em dez campos microscópicos de cada material em estudo, com o auxílio de ocular de tambor micrométrico. A espessura das epidermes (ESEP) abaxial e adaxial foi obtida por diferença, mediante a expressão $ESEP = EST - ESM$.

A fim de estudar mais detalhadamente as células epidérmicas propriamente ditas e os estômatos foram feitos cortes paradérmicos em folhas de plantas dos dois cultivares de cafeeiro. Os cortes foram montados entre lâmina e lamínula com água e glicerina, observados e desenhados com o auxílio de câmara clara acoplada a microscópio de luz Zeiss-Duocal. Foi feito, ainda, cálculo do

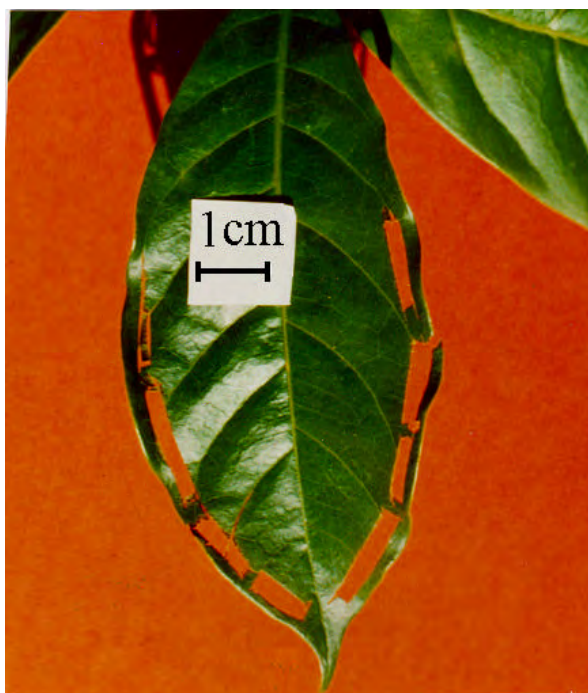


Figura 1 - Fotografia de folha de cafeeiro de *Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho, mostrando as regiões a partir de onde foram feitas as coletas de amostras para estudos morfo-anatômicos.

Quadro 2 - Horário de coleta das amostras de material foliar das plantas de cada um dos tratamentos por baixa temperatura noturna ($8 \pm 1^\circ\text{C}$) para posterior estudo anatômico

Coletas (n ^o)	Horários de coleta das amostras por tratamento					
		Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3	Trat. 4	Trat. 5
1 ^o noite de tratamento	(1)	18:00	24:00	18:00	23:00	04:00
	(2)	20:00	06:00	20:00	01:00	06:00
3 ^o noite de tratamento	(3)	18:00	24:00	18:00	23:00	04:00
	(4)	20:00	06:00	20:00	01:00	06:00
10 ^a noite após tratamento	(5)	18:00	24:00	18:00	23:00	04:00
	(6)	20:00	06:00	20:00	01:00	06:00
30 ^a noite após tratamento	(7)	18:00	24:00	18:00	23:00	04:00

índice estomático por meio da expressão $IST = \frac{\text{número de estômatos}}{\text{número de estômatos} + \text{número total de células epidérmicas}}$.

2.5. Análises estatísticas

O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, em um esquema de parcelas subdivididas, tendo, nas parcelas, o fatorial 2×5 (dois cultivares e cinco tratamentos) e nas subparcelas, os dias anteriores (dia 0) e posteriores (1, 3, 5 e 7) ao tratamento por baixas temperaturas, com cinco repetições. A unidade experimental constituiu-se de uma planta por vaso. Os resultados foram interpretados por meio de análise de variância e de regressão, sendo que as médias dos fatores qualitativos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Taxa fotossintética líquida e processos afins

No Quadro 3 observa-se o resumo da análise de variância das taxas fotossintética líquida (A), transpiratória (E), e de condutância estomática (G_s), da temperatura foliar (T_f) e concentração de dióxido de carbono (C_{SE}) na cavidade subestomática. Verifica-se que os valores dos parâmetros A, E, G_s e C_{SE} para as plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon e *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho foram estatisticamente diferentes. Os dois cultivares de café só não se diferenciaram estatisticamente, de acordo com o Quadro 3, quanto a temperatura foliar.

Nos Quadros de 4 a 6 estão representadas as médias das taxas fotossintética líquida (Quadro 4), transpiratória (Quadro 5) e de condutância estomática (Quadro 6) de ambos cultivares nos dias anteriores (dia 0) e posteriores (dias 1, 3, 5 e 7) ao tratamento por baixas temperaturas noturnas. Esses quadros indicam que os dois cultivares apresentaram taxas fotossintética líquida (Quadro 4), transpiratória (Quadro 5) e de condutância estomática (Quadro 6) estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As maiores médias foram obtidas pelas plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon, diferentemente dos resultados encontrados por SONDAHL e CROCOMO (1974) e SONDAHL et al. (1976), mas em concordância com os resultados de DA MATTA (1995). Trabalhos referentes aos valores da taxa de fotossíntese líquida de cafeeiros são escassos, e apresentam ampla variação. Segundo NUNES et al. (1969) e SONDAHL et al. (1976) os valores das taxas de fixação de dióxido de carbono (CO_2) de plantas de *C. canephora* Pierre

Quadro 3 - Resumo das análises de variância para taxa fotossintética líquida (A), transpiratória (E), de condutância estomática (G_s), temperatura foliar (T_f) e concentração de CO_2 na cavidade subestomática (C_{SE}) de cafeeiros, nos dias anterior e posteriores aos tratamentos por baixa temperatura noturna ($8 \pm 1^\circ C$)

FV	GL	QM				
		A	E	G_s	T_f	C_{SE}
Cultivar (C)	1	399,30**	169,07**	0,8453**	48,71 ^{NS}	95.648**
Tratamento (T)	4	5,97 ^{NS}	0,83 ^{NS}	0,0031 ^{NS}	210,66 ^{NS}	1.779 ^{NS}
C * T	4	1,65 ^{NS}	0,36 ^{NS}	0,0014 ^{NS}	159,88 ^{NS}	150 ^{NS}
Erro (a)	40	6,53	0,56	0,0026	177,25	1.021
Dia (D)	4	2,38**	0,66**	0,0035**	98,19 ^{NS}	1.233**
C * D	4	0,14 ^{NS}	0,07 ^{NS}	0,0008*	193,05 ^{NS}	370 ^{NS}
D * T	16	1,73**	0,45**	0,0016**	204,71 ^{NS}	412**
C * D * T	16	0,52*	0,13*	0,0007**	174,14 ^{NS}	248 ^{NS}
Resíduo	160	0,32	0,07	0,0003	184,05	171

* e **, NS = Significativo a 5 e 1% e não-significativo, pelo teste “F”, respectivamente.

Quadro 4 - Valores médios de fotossíntese líquida ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon e *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho no tratamento-controle (Trat. 1), nos dias anterior (dia 0) e posteriores (dias 1, 3, 5 e 7) à exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas consecutivas numa única noite (Trat. 2), exposição no início (Trat. 3), meio (Trat. 4) e fim (Trat. 5) de três noites consecutivas

Tratamento	Dia	Cultivar	
		Conilon	Catuaí Vermelho
1	0	3,98 a	1,99 b
	1	3,75 a	2,50 b
	3	4,16 a	1,64 b
	5	4,85 a	2,91 b
	7	4,74 a	2,56 b
2	0	5,54 a	3,47 b
	1	5,37 a	2,17 b
	3	5,72 a	2,60 b
	5	5,07 a	2,47 b
	7	5,31 a	2,76 b
3	0	4,11 a	2,04 b
	1	4,86 a	2,26 b
	3	4,67 a	1,58 b
	5	5,54 a	3,46 b
	7	5,35 a	2,68 b
4	0	4,67 a	1,76 b
	1	5,71 a	2,63 b
	3	5,44 a	3,67 b
	5	5,47 a	3,47 b
	7	5,95 a	2,95 b
5	0	5,71 a	2,63 b
	1	5,35 a	2,69 b
	3	5,37 a	2,17 b
	5	5,72 a	2,60 b
	7	5,07 a	2,47 b

As médias seguidas por pelo menos uma mesma letra, nas linhas, não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 5 - Valores médios de taxa de transpiração ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon e *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho no tratamento-controle (Trat. 1), nos dias anterior (dia 0) e posteriores (dias 1, 3, 5 e 7) à exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas consecutivas numa única noite (Trat. 2), exposição no início (Trat. 3), meio (Trat. 4) e fim (Trat. 5) de três noites consecutivas

Tratamento	Dia	Cultivar	
		Conilon	Catuaí Vermelho
1	0	2,50 a	1,01 b
	1	2,59 a	1,35 b
	3	2,92 a	1,92 b
	5	3,23 a	1,43 b
	7	2,79 a	1,25 b
2	0	3,12 a	1,54 b
	1	3,13 a	1,27 b
	3	2,89 a	1,37 b
	5	3,07 a	1,39 b
	7	2,86 a	1,26 b
3	0	2,46 a	1,05 b
	1	3,13 a	1,25 b
	3	2,78 a	0,89 b
	5	3,12 a	1,74 b
	7	2,89 a	1,28 b
4	0	2,78 a	0,97 b
	1	3,44 a	1,58 b
	3	3,15 a	1,79 b
	5	3,12 a	1,74 b
	7	3,08 a	1,48 b
5	0	3,44 a	1,58 b
	1	2,89 a	1,28 b
	3	3,13 a	1,27 b
	5	3,04 a	1,37 b
	7	3,07 a	1,39 b

As médias seguidas por pelo menos uma mesma letra, nas linhas, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 6 - Valores médios de taxa de condutância estomática ao vapor d'água ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon e *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho no tratamento-controle (Trat. 1), nos dias anterior (dia 0) e posteriores (dias 1, 3, 5 e 7) à exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas consecutivas numa única noite (Trat. 2), exposição no início (Trat. 3), meio (Trat. 4) e fim (Trat. 5) de três noites consecutivas

Tratamento	Dia	Cultivar	
		Conilon	Catuaí Vermelho
1	0	0,1370 a	0,0310 b
	1	0,1310 a	0,0430 b
	3	0,1250 a	0,0230 b
	5	0,1630 a	0,0390 b
	7	0,1300 a	0,0390 b
2	0	0,1610 a	0,0520 b
	1	0,1450 a	0,0310 b
	3	0,1760 a	0,0440 b
	5	0,1860 a	0,0390 b
	7	0,1720 a	0,0480 b
3	0	0,1240 a	0,0310 b
	1	0,1940 a	0,0400 b
	3	0,1160 a	0,0220 b
	5	0,1610 a	0,0520 b
	7	0,1550 a	0,0370 b
4	0	0,1160 a	0,0260 b
	1	0,1710 a	0,0400 b
	3	0,1590 a	0,0560 b
	5	0,1610 a	0,0520 b
	7	0,1780 a	0,0460 b
5	0	0,1710 a	0,0400 b
	1	0,1550 a	0,0370 b
	3	0,1440 a	0,0310 b
	5	0,1760 a	0,0440 b
	7	0,1860 a	0,0390 b

As médias seguidas por pelo menos uma mesma letra, nas linhas, não diferem, estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

são, em geral, inferiores aos de *Coffea arabica* L., apesar de haver alguma variação genética entre os diversos cultivares estudados. Como as condições de temperatura e irradiação utilizadas para os dois cultivares foram as mesmas, esses mesmos autores alertaram para a possibilidade dessas condições não terem sido as mais adequadas para as plantas de *C. canephora* Pierre. SONDAHL et al. (1976) obtiveram para plantas de *C. canephora* Pierre cv. Guarini taxas fotossintéticas líquidas em torno de $3,96 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, enquanto DA MATTA (1995) obteve taxas de 2,8 e $4,9 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para plantas de café Conilon cultivadas no inverno e no verão, respectivamente.

Os valores de taxa fotossintética líquida encontrados para *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho foram similares aos descritos por NUTMAN (1937), para plantas de *C. arabica* L. cv. Arábica e por DA MATTA (1995), para plantas de *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho; mas inferiores aos descritos por TIÓ (1962), BIERHUIZEN et al. (1969), NUNES et al. (1968; 1969), SONDAHL et al. (1976), YAMAGUCHI e FRIEND (1979), KUMAR e TIESZEN (1980) e FRISCHKNECHT et al. (1982), para plantas de *C. arabica* L. cv. Arábica. NUTMAN (1937) mediu a taxa de fotossíntese líquida em cafeeiros (*C. arabica* L. cv. arábica) cultivados no campo e obteve valores relativamente baixos: em torno de $2,8 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$. TIÓ (1962), BIERHUIZEN et al. (1969), NUNES et al. (1969), SONDAHL et al. (1976), YAMAGUCHI e FRIEND (1979) e FRISCHKNECHT et al. (1982), para cafeeiros (*C. arabica* L.) cultivados em casa de vegetação, obtiveram por meio de um analisador de gases a infravermelho, em sistema de circuito fechado, encerrando a planta inteira no aparelho, valores de taxa de fotossíntese líquida intermediários entre $3,2$ e $4,0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$; enquanto KUMAR e TIESZEN (1980) obtiveram para folhas unidas à planta e colocadas numa câmara, em condições de laboratório, por meio de um analisador de gases a infravermelho, de circuito aberto, valores mais elevados, superiores a $8,0 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A variação entre os valores de taxa fotossintética líquida de cafeeiros pode ser atribuída às diferenças genéticas entre os materiais estudados (NUNES et al., 1968; SONDAHL et al., 1976), não podendo ser descartadas, no entanto, as eventuais variações metodológicas associadas a obtenção dos resultados (FAHL et al., 1992).

Os baixos valores da taxa fotossintética líquida de cafeeiros podem, segundo TIÓ (1962), ser explicados pelo aumento da temperatura foliar durante as medições, o que pode ocorrer devido a iluminação direta. Apesar da temperatura ambiente ter sido mantida em torno de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, a temperatura foliar variou entre 24 e 31°C , nesse experimento. Sugere-se que os baixos valores das taxas fotossintéticas líquidas aqui apresentadas pelas plantas de *C. arabica* L. cv. Catuaí

Vermelho sejam em parte decorrentes do aumento da temperatura foliar. As plantas de *C. canephora* Pierre por serem oriundas de regiões africanas caracterizadas por um clima equatorial típico, são mais adaptadas a temperaturas foliares mais elevadas do que as plantas de *C. arabica* L., as quais são originárias das terras africanas tropicais (BORIN, 1971).

No Quadro 3, verifica-se, ainda, que a diferença entre os resultados obtidos para as plantas de cada tratamento não foi significativa para quaisquer das variáveis analisadas. Isso fica mais evidente nos Quadros de 7 a 10, onde comparam-se os tratamentos a partir das médias de taxa fotossintética líquida (Quadro 7), transpiratória (Quadro 8), de condutância estomática (Quadro 9) e concentração de CO₂ na cavidade subestomática (Quadro 10) obtidas pelas plantas de cada tratamento. No Quadro 7, observa-se que não houve diferença na taxa de fotossíntese líquida entre os tratamentos por baixa temperatura em nenhum dos dias analisados e em nenhum dos cultivares estudados. Sugere-se que as taxas fotossintéticas líquidas das plantas de *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho tenham sido mais afetadas pelas altas temperaturas foliares no decorrer das medições do que pelos tratamentos por baixas temperaturas.

BAUER et al. (1985) submetem plantas de cafeeiro arábica a temperaturas entre 0,5 e 8°C por 12 horas seguidas, durante a noite, e obtiveram reduções entre 20 e 50% na taxa fotossintética líquida. Enquanto em cafeeiros expostos a 8 ± 1°C verificaram-se decréscimos na ordem de 20% nas taxas fotossintéticas líquidas, nas plantas expostas a 0,5°C as folhas tornaram-se muito necrosadas e nenhuma absorção de CO₂ pode ser detectada. A partir desses resultados sugere-se que as plantas de café arábica, do presente trabalho, quando expostas a temperaturas de 8 ± 1°C por seis horas, durante a noite, não apresentaram redução significativa nas taxas fotossintéticas porque o tempo de exposição não foi suficiente para induzir decréscimos significativos. Além disso, segundo BORIN (1971), dentre as espécies de cafeeiro, o arábica é o mais resistente às variações climáticas, não suportando temperaturas inferiores ou em torno de 0°C e o robusta não suporta temperaturas inferiores a 8°C, nem oscilações climáticas acentuadas.

Nas plantas de *C. arabica* L. expostas a baixas temperaturas, BAUER et al. (1985) verificaram que as reduções na taxa de absorção de CO₂ ocorriam uma a duas horas após o retorno a ambiente iluminado. Tal comportamento só pode ser observado, segundo esses autores, no primeiro dia após o tratamento, pois dentro de dois a seis dias, dependendo da severidade do tratamento, há recuperação completa. Como, no presente trabalho, a preocupação foi em proceder-se todas as medições fotossintéticas no mesmo horário (entre 8:00 e 10:30 horas da

manhã), negligenciou-se o intervalo de tempo entre a exposição a baixa temperatura e o início das medições fotossintéticas em cada tratamento. Desse modo, se houve alguma súbita alteração no padrão fotossintético, essa não pode ser verificada.

Os resultados obtidos diferiram dos esperados a partir do teste preliminar, feito com temperatura de $8 \pm 1^\circ\text{C}$. Considerando-se que devido a problemas técnicos e burocráticos foi necessário utilizar câmaras frias diferentes (Quadro 1), para os testes preliminares e experimentos posteriores, algumas variações ambientais entre as duas câmaras podem ter ocorrido. As condições de umidade relativa do ar e o controle da temperatura podem ter sido diferentes e podem ter afetado diferentemente às plantas.

O aparecimento de danos causados por baixas temperaturas em plantas, depende não só da espécie e tipo de tecido foliar, mas também da severidade e duração da exposição a baixas temperaturas (LYNCH, 1990). Outras variáveis ambientais contribuem para isto, como a condição de irradiação e a umidade relativa do ar. Em plantas expostas a baixa temperatura sob alta irradiância, por exemplo, há, em geral, maior inibição da fotossíntese do que quando resfriadas no escuro (BOWERS, 1994). E plantas resfriadas em ambiente com baixa umidade relativa, em geral, murcham devido a reduzida absorção de água, insuficiente para compensar a perda de água por transpiração (BOWERS, 1994).

No Quadro 8, em que se comparam os valores de taxa transpiratória, apresentados pelos cafeeiros *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho dos tratamentos por baixa temperatura, não se observa diferença estatística significativa entre estes, no decorrer dos sete dias de experimento. No entanto, quanto a taxa transpiratória, encontrou-se diferença significativa entre os tratamentos, para as plantas de *C. canephora* Pierre cv. Conilon, nos dias 0 e 1. Como houve diferença inclusive no dia 0 (dia controle), sugere-se que essas diferenças não sejam decorrentes dos tratamentos por baixas temperaturas, mas de diferenças entre as plantas. Provavelmente o número de plantas por tratamento foi muito pequeno. Seria interessante que em trabalhos posteriores um maior número de plantas por tratamento fosse utilizado e fossem feitos ao lado das medições fisiológicas, estudos anatômicos detalhados, envolvendo os tipos predominantes de estômatos, densidade e padrão de distribuição desses e análises de correlação entre esses dados e a taxa transpiratória.

No Quadro 9 não se observa diferença estatística significativa entre os valores de taxa de condutância estomática para as plantas de nenhum dos dois cultivares de cafeeiro estudados. No Quadro 10, os valores médios de concentração de CO_2 na cavidade subestomática são comparados entre os tratamentos,

Quadro 10 - Valores médios de concentração de CO₂ (ppm) na cavidade subestomática de plantas dos dois cultivares de café no tratamento-controle (Trat. 1), nos dias anterior (dia 0) e posteriores (dias 1, 3, 5 e 7) à exposição a 8 ± 1°C por seis horas consecutivas numa única noite (Trat. 2), exposição por duas horas no início (Trat. 3), meio (Trat. 4) e fim (Trat. 5) de três noites consecutivas. Valores médios obtidos fixando-se as respectivas combinações entre cultivar e tratamento

Tratamento	Dias				
	0	1	3	5	7
1	262,22 a	251,80 a	246,80 a	248,20 a	259,18 a
2	234,00 b	240,70 a	244,30 a	233,50 a	248,70 ab
3	250,20 ab	258,40 a	245,60 a	234,00 a	256,40 ab
4	243,50 ab	242,50 a	237,00 a	234,00 a	241,30 ab
5	242,50 ab	256,40 a	240,70 a	244,30 a	233,50 b

As médias seguidas por uma mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

fixando-se o cultivar e o tempo em dias de tratamento. Verificou-se diferença estatística significativa, entre os tratamentos, para as plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon e *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho apenas nos dias 0 e 7. Como tais diferenças ocorreram tanto no dia 0 quanto no dia 7, sugere-se que não sejam devido aos tratamentos por baixas temperaturas. Nota-se certa semelhança entre o comportamento das taxas fotossintética líquida, transpiratória e de condutância estomática e da concentração de CO₂ na cavidade subestomática para as plantas de ambos cultivares. DA MATTA (1995) observou similaridade entre o comportamento da taxa fotossintética, condutância estomática e concentração interna de CO₂, apenas para o cultivar Catuaí Vermelho.

A observação do resumo das análises de variância da fluorescência inicial (F₀), da máxima (F_m), da variável (F_v) e da razão F_v/F_m apresentado no Quadro 11, revela que os cultivares Conilon e Catuaí Vermelho diferem estatisticamente

quanto aos valores médios obtidos para F_o , F_v e F_v/F_m . Segundo MACIEJEWSKA e BAUER (1992), a razão F_v/F_m indica a capacidade fotoquímica do fotossistema II. O fato dos valores de F_v/F_m serem diferentes para cada um desses cultivares indica que a capacidade fotoquímica do sistema fotossintetizante de cada um deles é diferente.

No Quadro 12, comparam-se os resultados de F_o obtidos para os dois cultivares, com as respectivas combinações entre tratamentos e dias após tratamento fixadas, e verifica-se que são estatisticamente diferentes. Verifica-se que as plantas do cultivar Catuaí Vermelho apresentaram, predominantemente, maiores médias de emissão de F_o do que as de Conilon. Isto sugere maior eficiência do sistema antena das plantas de Conilon.

No Quadro 11, observa-se, ainda, com base nos resultados de emissão de fluorescência a partir das moléculas de clorofila **a** das plantas dos cinco tratamentos analisados, que estes diferiram entre si estatisticamente quanto a F_o , F_m e F_v . Apesar da emissão de fluorescência máxima e variável ter sido alterada pelos tratamentos por baixa temperatura, a capacidade fotoquímica (F_v/F_m) do sistema não o foi. JANDA et al. (1994), estudando plantas jovens de milho expostas a tratamentos por baixa temperatura, verificaram que quando o tratamento de frio é conduzido em condições de escuro, não há alteração no parâmetro F_v/F_m mesmo após 48 horas de exposição a 5°C. Entretanto, quando as plantas são expostas a baixas temperaturas sob irradiação luminosa, esse parâmetro decresce continuamente. Cafeeiros *C. arabica* L. quando expostos a baixas temperaturas, tanto sob condições de escuro (BAUER et al., 1985; 1990) quanto sob irradiâncias de 850 a 900 μmol de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (DA MATTA, 1995), apresentaram redução nas taxas fotossintéticas líquidas e sintomas visuais de injúria, mas não há relatos de efeito sobre a capacidade fotoquímica. Sugere-se que para afetar a capacidade fotoquímica os tratamentos por baixa temperatura precisam ser realizados com temperaturas mais baixas ou sob irradiância luminosa. Talvez a taxa de fotossíntese líquida não tenha sofrido alteração quando as plantas foram expostas a $8 \pm 1^\circ\text{C}$, ao menos em parte, porque a capacidade fotoquímica do sistema não chegou a ser prejudicada. Para café, a maioria dos trabalhos encontrados, referentes ao efeito de baixas temperaturas não congelantes, sobre a fotossíntese (NUNES et al., 1968 e 1969; KUMAR e TIESZEN, 1980; BAUER et al. 1985; 1990; BODNER e LARCHER, 1987) relatam estudos em condições de escuro, e dentre esses apenas em BAUER et al. (1990) e DA MATTA (1995) mediu-se a emissão de fluorescência, mas mesmo nesses não se estudou os efeitos sobre a razão F_v/F_m . BAUER et al. (1990)

Quadro 11 - Resumo da análise de variância dos parâmetros associados a emissão de fluorescência a partir das moléculas de clorofila em cafeeiros Conilon e Catuaí Vermelho nos dias anterior e posteriores à exposição a tratamentos por baixa temperatura noturna ($8 \pm 1^\circ\text{C}$)

FV	GL	QM			
		F _o	F _m	F _v	F _v /F _m
Cultivar (C)	1	173.028**	1.711 ^{NS}	361.798*	0,2684*
Tratamento (T)	4	72.484**	450.129**	566.092**	0,0145 ^{NS}
C * T	4	83.715**	20.568 ^{NS}	113.185 ^{NS}	0,0127 ^{NS}
Erro (a)	40	16.496	102.286	84.732	0,0059
Dia (D)	4	144.773**	2.993.083**	3.488.663**	0,1556**
D * C	4	28.277 ^{NS}	237.849*	435.037**	0,0078 ^{NS}
D * T	16	34.626*	1.029.332**	1.101.467**	0,3068**
D * C * T	16	61.861**	132.717*	139.212 ^{NS}	0,0167 ^{NS}
Resíduo	160	17.865	73.702	96.308	0,0070

*, ** e ns Indicam significância a 5 e 1% de probabilidade, ou não-significância, pelo teste “F”, respectivamente.

verificaram, em plantas dos cultivares Catuaí Vermelho, Caturra e Agaro de *Coffea arabica* L., imediatamente após 12 horas de exposição a $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$, redução na emissão de fluorescência variável inferior a da taxa de absorção de CO₂. Isso sugere, segundo esses mesmos autores, que após tratamento por baixa temperatura, a absorção fotossintética de CO₂ seja limitada por processos que não têm efeito sobre a fluorescência variável.

Observando-se o Quadro 13, verifica-se que como antes de qualquer tratamento por baixa temperatura ser imposto às plantas já se observava diferença entre os tratamentos, não se pode explicar nenhuma alteração nesses dados como efeito dos tratamento por baixa temperatura.

Quadro 12 - Valores médios de emissão de fluorescência inicial (F_0) de café Conilon e Catuaí Vermelho no tratamento-controle (Trat. 1), nos dias anterior (dia 0) e posteriores (dias 1, 3, 5 e 7) à exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas consecutivas numa única noite (Trat. 2), exposição por duas horas no início (Trat. 3), meio (Trat. 4) e fim (Trat. 5) de três noites consecutivas

Tratamento	Dia	Conilon	Catuaí Vermelho
1	0	711,60 b	862,00 a
	1	777,90 a	538,40 b
	3	798,80 a	798,00 b
	5	705,40 b	815,20 a
	7	1.022,60 a	841,30 b
2	0	722,60 b	996,20 a
	1	757,00 b	808,80 a
	3	847,20 a	846,60 b
	5	969,20 a	951,20 b
	7	751,80 b	1.208,20 a
3	0	774,00 b	776,80 a
	1	778,60 b	872,80 a
	3	835,80 a	797,00 b
	5	705,80 b	717,60 a
	7	1.022,60 a	827,80 b
4	0	841,00 b	942,00 a
	1	733,80 b	1.015,00 a
	3	798,60 b	804,20 a
	5	793,20 a	734,60 b
	7	818,20 b	1.050,00 a
5	0	814,80 b	896,80 a
	1	799,40 a	750,60 b
	3	771,00 b	911,60 a
	5	829,40 b	836,20 a
	7	798,60 b	895,40 a

As médias seguidas por pelo menos uma mesma letra, nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

3.2. Efeitos morfoanatômicos

Observou-se, apenas em algumas plantas, independente do tratamento, encurvamento das margens foliares ou aspecto “encharcado”, mas sem alteração posterior na coloração. Esse aspecto, segundo BOWERS (1994), é devido a perda da semipermeabilidade da membrana e liberação de eletrólitos para o espaço livre. De acordo com BODNER e LARCHER (1987) algumas folhas, embora parecendo estar normalmente verdes e saudáveis de início, dentro de várias horas a um dia, desenvolvem regiões de infiltração, as quais podem, parcialmente, desaparecer no próximo dia. Em outras folhas, ainda segundo os mesmos autores, imediatamente após exposição ao frio, o dano resultante pode tornar-se visível, mediante o aparecimento de uma coloração preta-amarronzada.

BAUER et al. (1990) observaram em cafeeiros *C. arabica* L. necrose foliar em consequência de baixas temperaturas e encontraram correlação altamente significativa entre a extensão da área da necrose foliar e a diminuição da taxa fotossintética líquida. Segundo MARLATT (1974), quando o tempo de exposição ao frio é exíguo, nenhuma lesão aparece, as margens foliares, apenas, tornam-se pálidas e encurvadas para cima, ao longo de toda a superfície adaxial. A partir disso sugere-se que o tempo de exposição a baixas temperaturas, nessa câmara fria, como já discutido em relação aos efeitos sobre a taxa fotossintética líquida e processos afins, foi insuficiente para induzir o aparecimento de sintomas visuais. Nos ensaios preliminares observou-se tais sintomas, o que indica que houve diferença entre as condições oferecidas pelas duas câmaras frias utilizadas (Quadro 1). Além disso, como esses sintomas de injúria por baixa temperatura variam de poucos milímetros a vários centímetros em diâmetro, nem sempre são muito evidentes (MARLATT, 1974).

Segundo BOWERS (1994), plantas resfriadas em ambiente com baixa umidade relativa, em geral, murcham devido a reduzida absorção de água, insuficiente para compensar a perda de água por transpiração. Essa perda de água pode ser um efeito, segundo WRIGHT e SIMON (1973) e LYNCH (1990), da exposição a baixas temperaturas, ou resultar do resfriamento da raiz, a qual pelo aumento da resistência à passagem de água, reduz o suprimento de água até às folhas. WRIGHT e SIMON (1973) submeteram plantas de pepino a 5°C em atmosferas com 85% ou 100% de umidade relativa (UR) e verificaram redução nas taxas de respiração e fotossíntese líquida similares nas duas condições de umidade. No entanto, com 85% de UR houve, ainda, grande perda de água e conseqüente diminuição no peso fresco inicial e murchamento das folhas, além de diminuição de fosfolipídeos de membrana (WRIGHT e SIMON, 1973). Segundo WRIGHT e

SIMON (1973) plantas submetidas a tratamento por baixas temperaturas, em ambiente com alta umidade relativa, apresentam sintomas de injúria menos severos e variados do que plantas expostas ao frio em ambientes com umidade relativa mais baixa: não perdem peso fresco e os protoplastos não apresentam perda de grandes quantidades de eletrólitos para a face externa das paredes celulares, a partir das quais podem ser liberados para o espaço livre. Mesmo com 85% de umidade relativa WRIGHT e SIMON (1973) verificaram redução no peso fresco e murcha. Portanto, pequenas diferenças na umidade relativa entre as duas câmaras podem ser responsáveis pela existência ou não de murcha ou outros sintomas de injúria por baixa temperatura. A alta umidade relativa ameniza parcialmente os efeitos de murcha, os quais ocorrem em virtude do aumento da perda de água a partir dos estômatos e a diminuição da condutividade hidráulica das raízes à baixa temperatura (LYNCH, 1990). A umidade relativa dentro da câmara fria, onde foram feitos os testes preliminares, deve ter sido inferior a da câmara fria onde estes experimentos foram realizados. Pode ser, também, que o termostato da câmara fria onde foram conduzidos os tratamentos por baixa temperatura estivesse em más condições e, assim, quando da abertura da câmara para colocação das plantas a temperatura subiria e demoraria muito para voltar a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ e se estabilizar.

No Quadro 14, observa-se o resumo da análise de variância da espessura da lâmina foliar (EST), da espessura do mesofilo (ESM), das epidermes adaxial e abaxial (ESEP), dos parênquimas paliçádico (ESPA) e lacunoso (ESPL). Verifica-se que os dois cultivares de cafeeiro estudados diferem, estatisticamente, entre si quanto aos valores medidos desses parâmetros nos dias anterior e posteriores aos tratamentos por baixa temperatura.

Na Figura 2 observam-se fotomicrografias de cortes transversais em lâminas foliares de *Coffea canephora* L. cv Conilon (a) e *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho (b) do tratamento-controle. Ambas apresentam simetria dorsiventral e caracterizam-se pela presença de epidermes adaxial e abaxial unisseriada, mesofilo constituído por uma camada de parênquima paliçádico, junto à epiderme adaxial, e seis a sete camadas de parênquima lacunoso. As células do parênquima lacunoso das plantas de *C. canephora* Pierre cv. Conilon são maiores no eixo paralelo à epiderme do que no eixo perpendicular a esta, enquanto as células das plantas de *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho são mais esféricas (Figura 2). A espessura da lâmina foliar é um pouco maior nos cafeeiros do cultivar Conilon, como pode ser visto no Quadro 15. Neste Quadro compa-ram-se os dois cultivares de cafeeiro, com base nas médias obtidas para a espessura das lâminas foliares de Conilon (C1) e Catuaí Vermelho (C2) antes (0 horas)

Quadro 14 - Resumo da análise de variância para dados de espessura da lâmina foliar de plantas de cafeeiro Conilon e Catuaí Vermelho expostas a tratamentos por baixa temperatura noturna ($8 \pm 1^\circ\text{C}$)

FV	GL	QM				
		EST	ESM	ESEP	ESPP	ESPL
Cultivar (C)	1	595,12**	449,65**	8,79**	4,06**	549,67**
Tratamento (T)	4	88,72**	76,15**	1,83**	5,97**	44,44**
C * T	4	7,95**	7,57**	0,30 ^{NS}	1,57**	15,45**
Erro (a)	40	0,97	1,55	0,14	0,42	0,59
Coleta (CO)	7	15,80**	9,51**	0,77**	1,96**	5,26**
CO * C	7	13,51**	1,67**	0,16 ^{NS}	2,82**	5,07**
CO * T	28	7,88**	8,85**	1,17**	1,41**	5,17**
CO * C * T	28	12,01**	11,96**	0,49**	1,16**	8,93**
Resíduo	280	0,76	1,52	0,08	0,18	0,54

*, ** e NS indicam significância a 5 e 1% ou não-significância, pelo teste “F”, respectivamente.

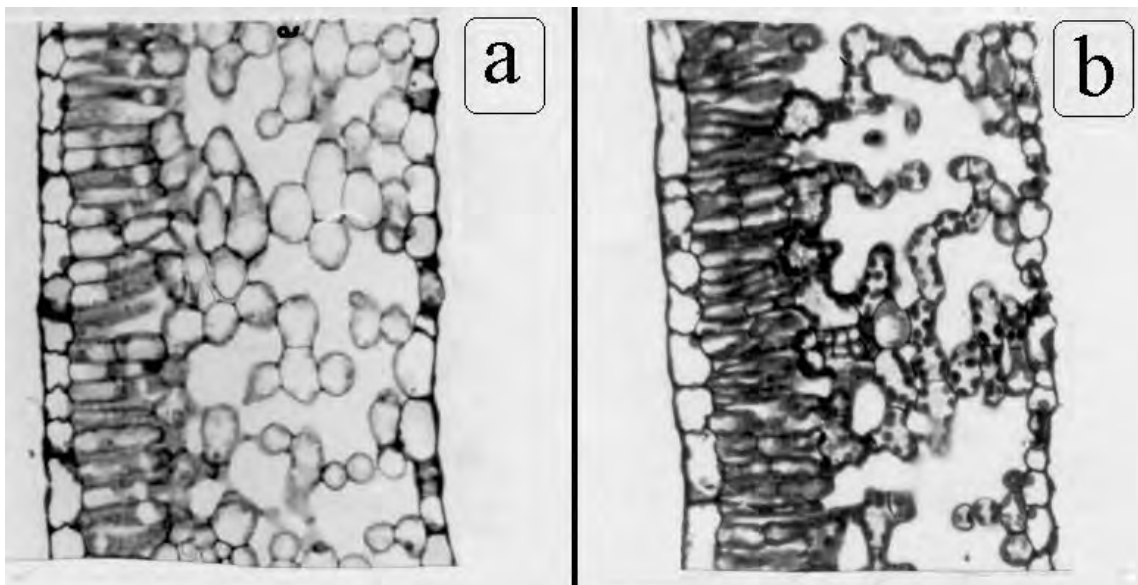


Figura 2 - Fotomicrografias de cortes transversais em folhas de *Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho (a) e *C. canephora* Pierre cv. Conilon (b) do tratamento-controle.

e após (698 horas) exposição a tratamentos por baixa temperatura. Verifica-se que as médias do cultivar C2 foram, predominantemente, maiores do que as de C1. Os dados do Quadro 15 referem-se as médias obtidas a partir de medições nas lâminas preparadas com material proveniente de folhas abertas, ainda não totalmente expandidas, próximo e paralelo à margem, mas com posição variada dentro da folha (Figura 1). Ainda no Quadro 15, foram comparados os resultados obtidos pelas plantas em cada tratamento por baixa temperatura a partir das médias de espessura da lâmina foliar dos dois cultivares estudados. Encontrou-se diferença entre os tratamentos até mesmo na coleta de 0 horas. Segundo McMAHON et al. (1994), o efeito das baixas temperaturas é diferente para cada planta e principalmente para cada região da folha: ápice, meio e base. A partir disso, sugere-se que, em trabalhos posteriores, as coletas de material foliar, feitas nas regiões apical, mediana e basal das folhas, sejam estudadas separadamente a fim de verificar se há, de fato, efeito diferente das baixas temperaturas sobre cada uma dessas regiões em estudo.

Na Figura 3 observa-se uma representação de corte paradérmico na superfície inferior de folhas de plantas de *C. canephora* Pierre cv. Conilon (a) e *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho (b). Estes revelam que o estômato (ostíolo + duas células-guardas) é menor em largura e comprimento na epiderme das plantas de Conilon (Figura 3a) do que nas plantas do cultivar Catuaí Vermelho. Os estômatos (st) nas folhas de cafeeiro Catuaí Vermelho são predominantemente paracíticos (Figura 3b), como pode ser observado na Figura 3b, de 50 estômatos observados, 30 são paracíticos. E os estômatos das lâminas foliares do cultivar Conilon são, além de em maior número (Figura 3a), o que é expresso pelo índice estomático (quadro16), de tipo mais variado: de paracítico à actinocítico (Figura 3a). Plantas de *C. canephora* Pierre cv. Guarini, segundo SONDAHL et al. (1976), também apresentam maior número de estômatos (282,5) por área (mm²) do que cafeeiros *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho (206,6), e os primeiros também são menores em comprimento e largura (SONDAHL et al., 1976). Além disso, como as médias de taxa transpiratória encontradas no presente trabalho foram maiores para as plantas de *C. canephora* Pierre cv. Conilon do que para as de *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho, propõe-se que a habilidade para suportar ou reduzir a temperatura foliar por transpiração seja maior no cultivar Conilon de *C. canephora* Pierre do que no cultivar Catuaí Vermelho de *C. arabica* L.. As plantas de Conilon por apresentarem maior número de estômatos têm maior capacidade potencial para reduzir as altas temperaturas foliares. Observou-se, ainda, que os estômatos presentes nas lâminas foliares do cultivar Conilon são menores do que os presentes em Catuaí Vermelho, como pode ser visto na Figura 3.

Quadro 15 - Valores médios da espessura total (μm) da lâmina foliar de café Conilon (C1) e Catuaí Vermelho (C2) no tratamento-controle (Trat. 1), antes (coleta de 0 hora) e após (demais coletas) exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas consecutivas numa única noite (Trat. 2), exposição por duas horas no início (Trat. 3), meio (Trat. 4) e fim (Trat. 5) de três noites consecutivas

Coleta (h)	Cultivar	Tratamentos				
		1	2	3	4	5
0	C1	23,30aA	20,20bcB	21,72bA	21,00bB	19,22cB
0	C2	20,90cB	23,50bA	22,46bA	25,24aA	23,12bA
2	C1	21,74abcB	23,10aA	20,24cB	22,02abB	21,30bcB
2	C2	23,78abA	23,52bA	23,78abA	25,20aA	24,52abA
48	C1	20,58aB	20,56aB	21,06aB	20,80aB	21,26aB
48	C2	21,92cA	22,78cA	26,20abA	27,60aA	24,86bA
50	C1	19,40bB	19,58bB	22,74aA	21,62aB	21,26aB
50	C2	23,64aA	23,88aA	20,66bB	24,80aA	24,50aA
216	C1	19,36bB	21,88aB	22,36aB	22,40aB	22,26aA
216	C2	22,40cA	24,94bA	24,94bA	27,60aA	22,80cA
218	C1	19,48cB	19,78cB	23,00abB	24,00aB	22,20bB
218	C2	23,64bcA	23,50cA	25,10bA	28,20aA	24,80bcA
696	C1	18,40bB	19,78bB	23,78aB	24,10aA	24,60aA
696	C2	22,96bA	23,80bA	26,60aA	24,30bA	23,30bB
698	C1	21,50cB	20,90cB	24,10bA	24,80aB	24,60bA
698	C2	23,62abA	23,80abA	25,10aA	26,60aA	22,30bB

As médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula nas colunas, para o mesmo horário, não diferem, estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Além disso, as células epidérmicas propriamente ditas (ep) das plantas do cultivar Catuaí Vermelho apresentam contorno sinuoso e são maiores do que as de Conilon (Figura 3).

Os gráficos de regressão linear, apresentados nas Figuras de 4 a 8, apresentam a estimativa da tendência da espessura da lâmina foliar (Figura 4), espessura das epidermes abaxial e adaxial (Figura 5), espessura do mesofilo (Figura 6), espessura do parênquima paliçádico (Figura 7) e espessura do parênquima lacunoso (Figura 8) de plantas de cafeeiro Conilon e Catuaí Vermelho submetidas a tratamentos por baixas temperaturas noturnas. A espessura das lâminas foliares (Figura 4) dos cafeeiros Conilon aumentou após exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ no início (Figura 4c), meio (Figura 4d) ou fim de noite (Figura 4e), enquanto a espessura das lâminas de Catuaí Vermelho não sofreu alteração. As lâminas foliares das plantas expostas por seis horas seguidas a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ (Figura 4b) e as do tratamento-controle (Figura 4a) não apresentaram qualquer variação, apesar da duração total e temperatura de exposição terem sido as mesmas dos tratamentos representados nas Figuras 4c, 4d e 4e.

A temperatura é uma condição ambiental continuamente sujeita a mudanças tanto durante o dia quanto com as estações do ano. Com essas mudanças vêm modificações nas taxas de processos celulares como crescimento, divisão celular, fotossíntese, respiração, síntese de lipídeos, alteração e reparo de membranas, por meio de efeitos na cinética de reações bioquímicas (BOWERS, 1994). As condições estressantes exercem muitos efeitos sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. Esses efeitos se manifestam estruturalmente a nível subcelular, celular, tissular e sobre os órgãos vegetais. Uma possível explicação para a aparente contradição apresentada pode ser efeitos diferentes sobre o processo de crescimento. Segundo SWEENEY (1969), o crescimento é controlado em muitos organismos pelo ritmo circadiano e pode ser manipulado por breves exposições a altas ou baixas temperaturas ou falta de algum nutriente importante. Sugere-se que plantas expostas a baixas temperaturas em uma única noite, mesmo sendo por mais horas, apresentem efeitos menores ou diferentes sobre o crescimento, em relação a plantas expostas a baixa temperatura em três noites consecutivas, mas com período de exposição, por noite, menor. Provavelmente porque estaria perturbando o metabolismo em apenas uma noite, no primeiro caso, e por três noites no segundo caso. Talvez para haver efeito das baixas temperaturas de exposição noturna sobre a espessura seja mais importante três noites consecutivas de exposição a baixa temperatura do que um tempo maior de exposição numa única noite (seis horas).

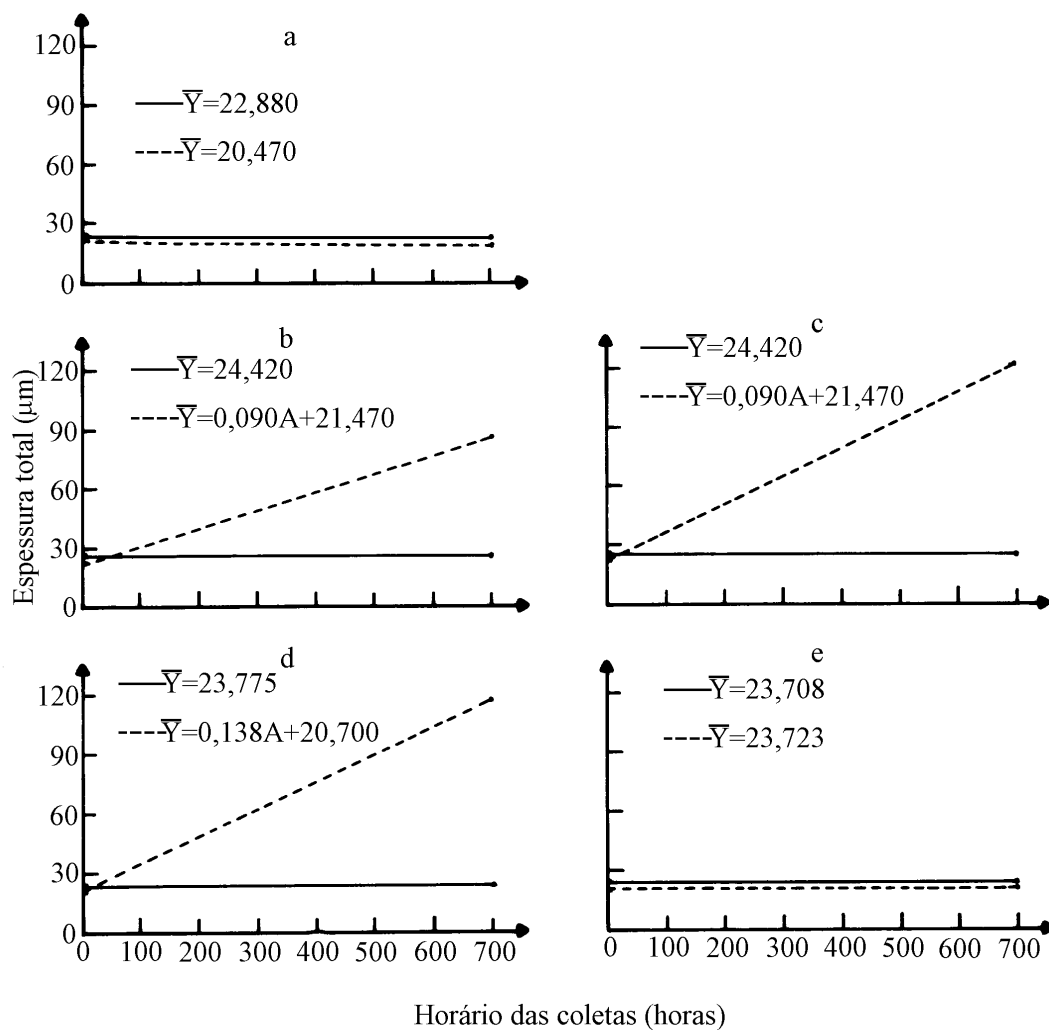


Figura 4 - Estimativa da espessura média das lâminas foliares de cafeeiros Catuaí Vermelho (—) e Conilon (-----) em função das horas de coleta no tratamento-controle (a), exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas contínuas (b), ou por duas horas no início (c), meio (d) ou fim (e) de três noites consecutivas.

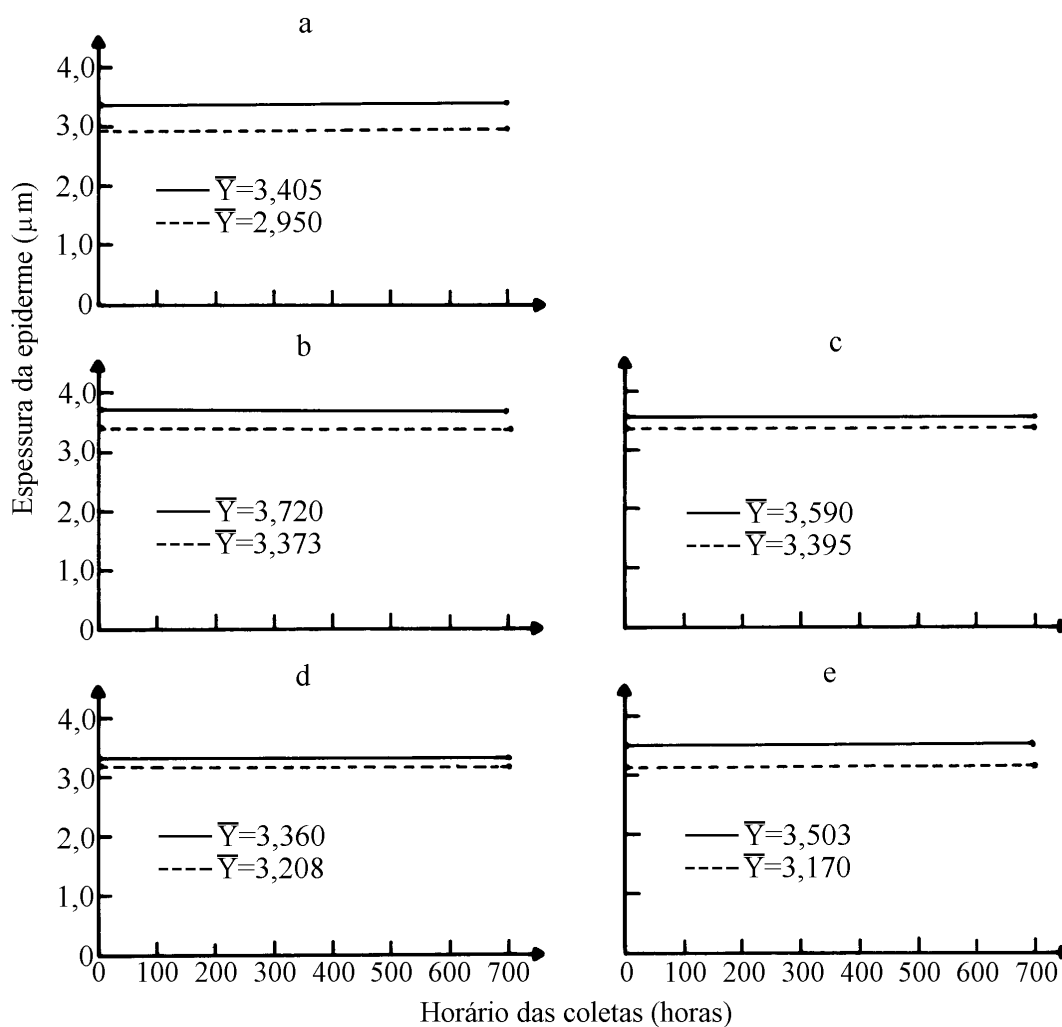


Figura 5 - Estimativa da espessura média das epidermes adaxial+abaxial lâminas foliares de cafeeiros Catuaí Vermelho (—) e Conilon (-----), em função das horas das coletas de amostras foliares no tratamento-controle (a), exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas contínuas (b), ou por duas horas no início (c), meio (d) ou fim (e) de três noites.

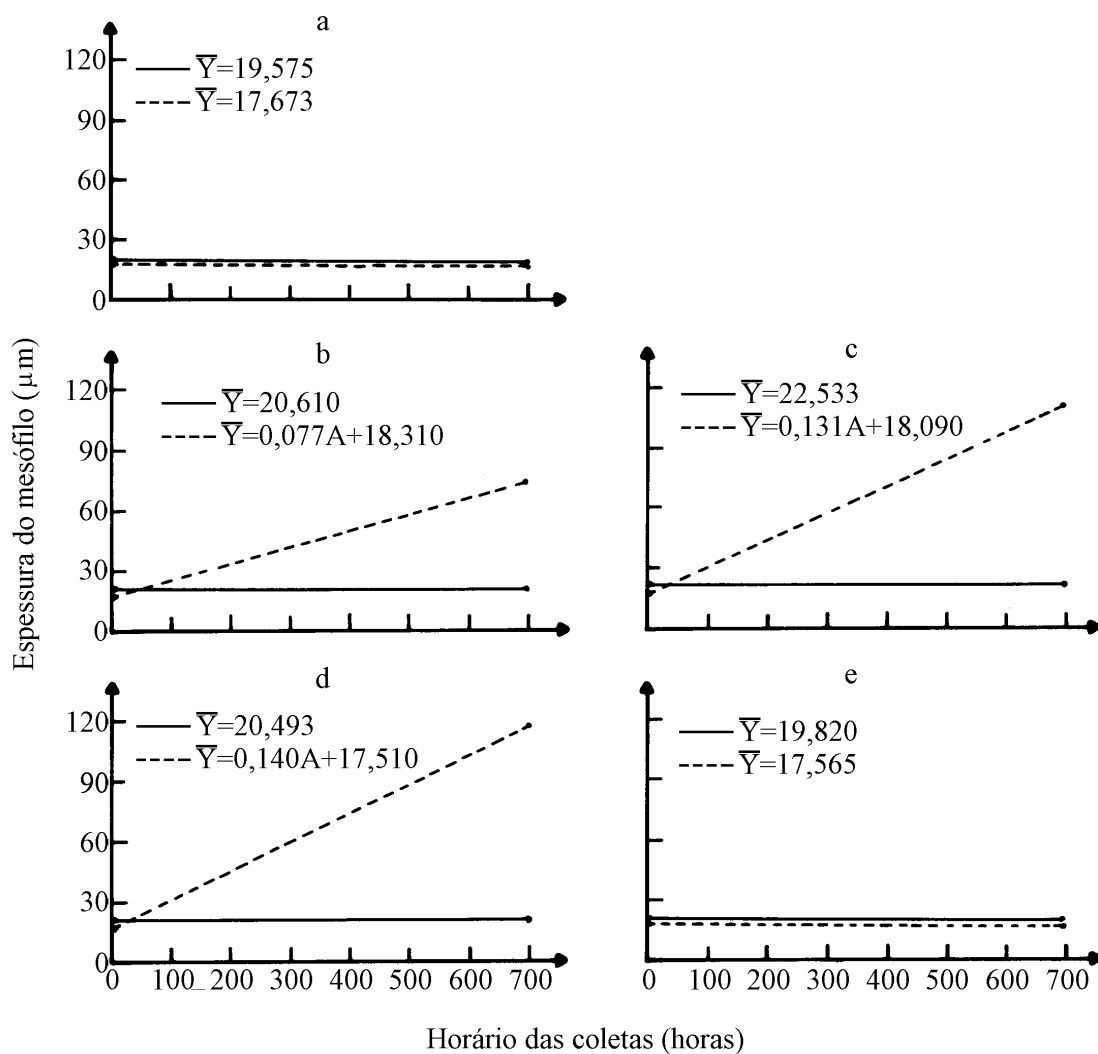


Figura 6 - Estimativa da espessura média do mesófilo das lâminas foliares de cafeeiros Catuaí Vermelho (—) e Conilon (-----), em função das horas de coleta das amostras foliares no tratamento-controle (a), exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas contínuas (b), ou por duas horas no início (c), meio (d) ou fim (e) de três noites.

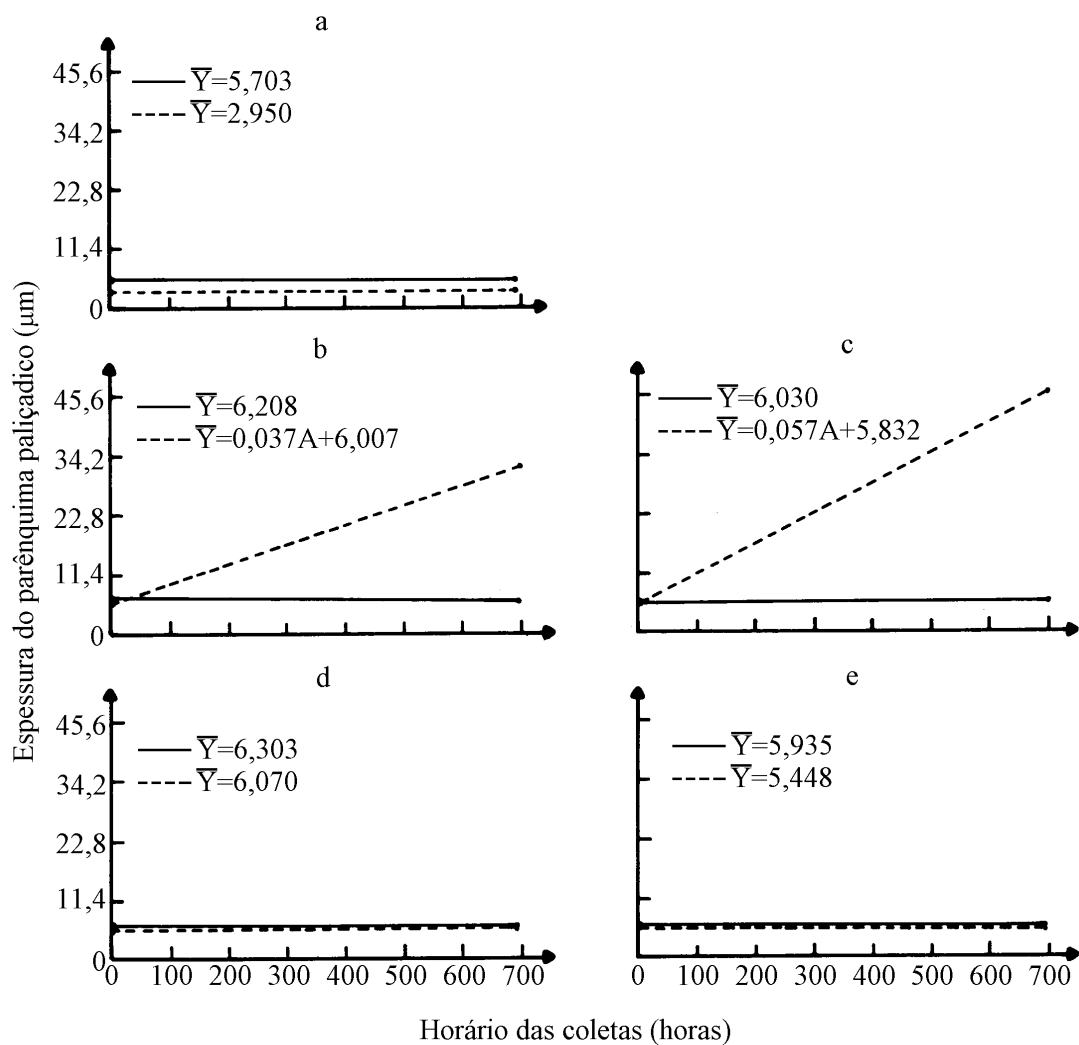


Figura 7 - Estimativa da espessura média do parênquima paliçadico das lâmi-nas foliares de cafeeiros Catuaí Vermelho (—) e Conilon (-----), em função das horas de coleta das amostras foliares no tratamento-controle (a), exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas contínuas (b), ou por duas horas no início (c), meio (d) ou fim (e) de três noites.

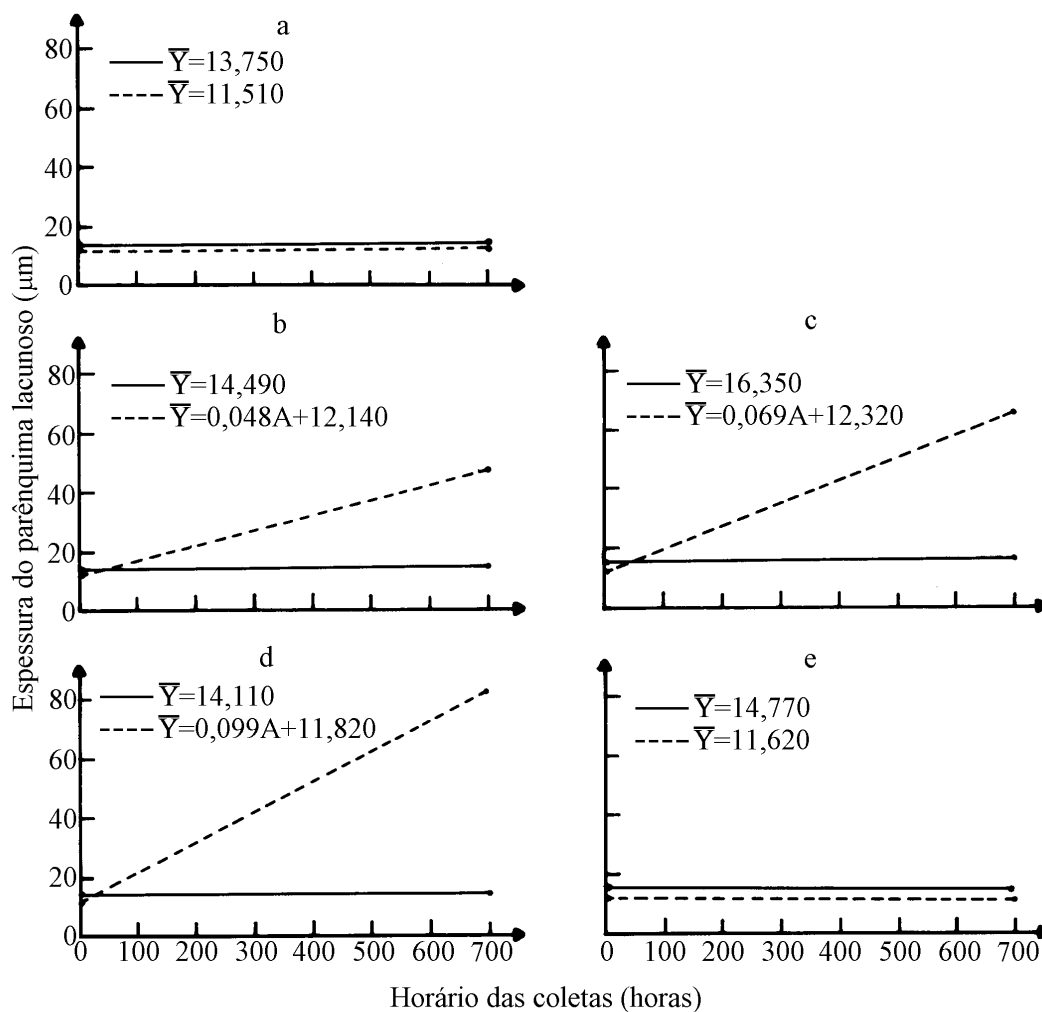


Figura 8 - Estimativa da espessura média do parênquima lacunoso das lâminas foliares de cafeeiros Catuaí Vermelho (—) e Conilon (-----), em função das horas de coleta das amostras foliares, no tratamento-controle (a), exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas contínuas (b), ou por duas horas no início (c), meio (d) ou fim (e) de três noites.

O aumento na espessura das lâminas de café Conilon pode ser explicado pelo aumento na espessura do mesofilo (Figura 6), uma vez que as epidermes (abaxial + adaxial), como pode ser visto na Figura 5, não apresentaram variação na espessura. A resposta inicial à injúria de frio, segundo BANDURSKI et al. (1953), ocorre nas células dos tecidos parenquimáticos do mesofilo, as quais são mais susceptíveis ao frio do que a epiderme. O aumento na espessura do mesofilo nas lâminas foliares de Conilon expostas a baixa temperatura no início (Figura 6c) ou meio (Figura 6d) da noite foi em decorrência de aumento na espessura do parênquima paliçádico (Figuras 7c e 7d) e lacunoso (Figuras 8c e 8d). E o aumento nas plantas expostas a baixa temperatura no fim da noite é explicado por aumento apenas na espessura do parênquima lacunoso. BANDURSKI et al. (1953) cultivaram plantas de tomate a 4°C e explicaram o aumento detectado na espessura da lâmina foliar, principalmente, por alterações no parênquima lacunoso. O aumento na espessura dos tecidos pode ser devido a aumento no número de camadas celulares (BANDURSKI et al., 1953), aumento em expansão nas células constituintes ou aumento na espessura das paredes destas (ROMBERGER et al., 1993) ou aumento no volume de espaços intercelulares (BANDURSKI et al., 1953).

Na Figura 9 observam-se fotomicrografias de cortes transversais em lâminas foliares de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon dos tratamentos controle (Figura 9a e 9b), e dos tratamentos que apresentaram alteração na espessura da lâmina foliar: exposição a baixa temperatura no início (Figuras 9c e 9d), meio (Figuras 9e e 9f) e fim (Figuras 9g e 9h) de três noites. Verifica-se que não houve aumento perceptível no número de camadas celulares, mas há um aparente aumento em expansão, principalmente nas células do lacunoso. A partir disso, sugere-se que o aumento na espessura dos tecidos parenquimáticos pode ser explicado por aumento em expansão das células parenquimáticas, e talvez também por aumento na espessura das paredes celulares e aumento no volume de espaços intercelulares.

O parênquima lacunoso consiste de células de forma irregular, com muitas ramificações, que são separadas por grandes espaços de ar (CUTTER, 1987). A presença de um sistema de espaços intercelulares bem desenvolvido é importante para facilitar a rápida troca de gases. O parênquima paliçádico, cujas células têm forma mais regular e apresentam-se densamente reunidas, é mais especializado para a fotossíntese, não só por apresentar maior número de cloroplastos por área mais também por ter maior área superficial (FAHN, 1990). Como alterações no parênquima lacunoso só foram observadas quando a exposição a baixa temperatura se estendia por três noites consecutivas, sugere-se

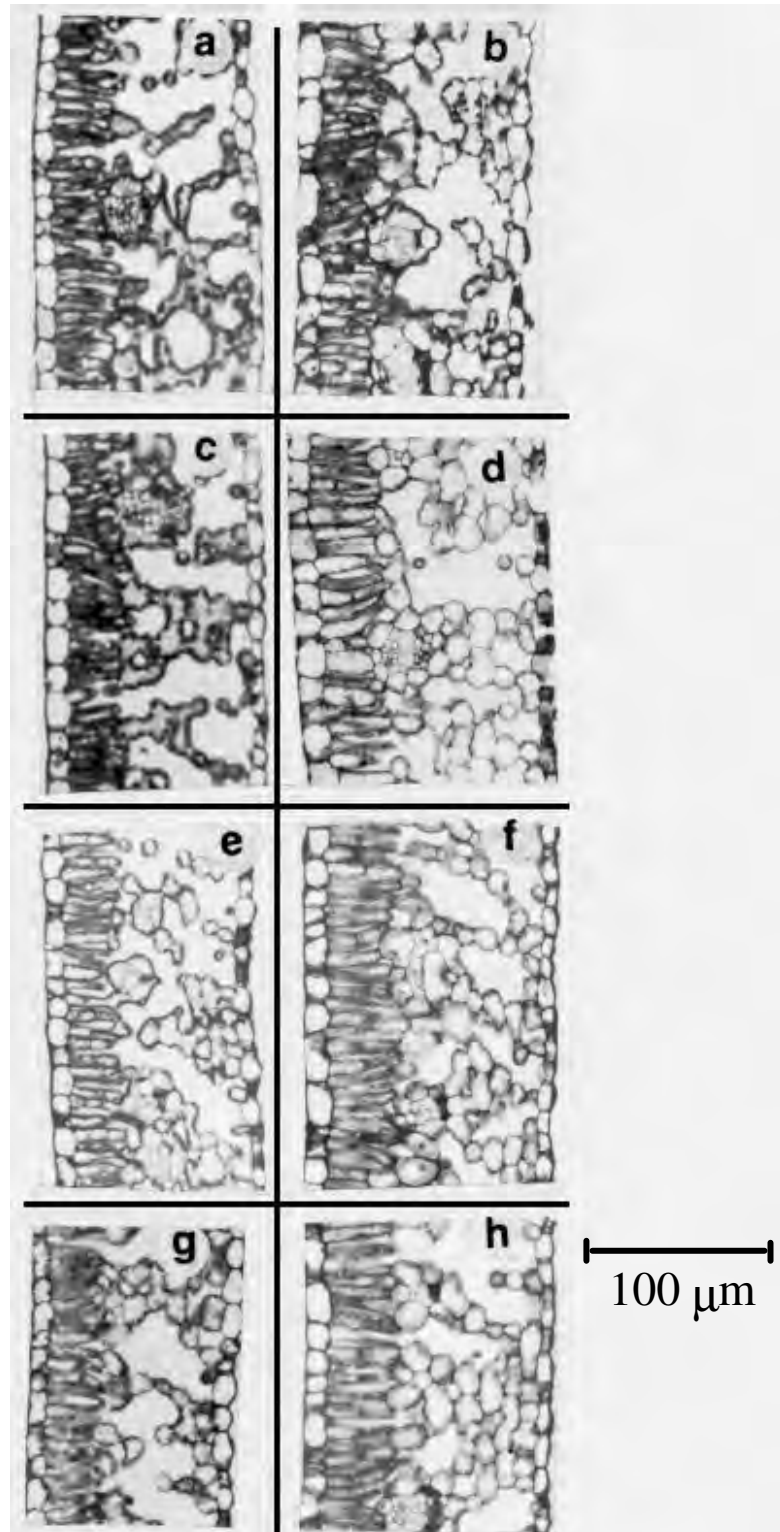


Figura 9 - Fotomicrografias de cortes transversais em folhas de plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon antes (a, c, e, g) e 698 horas (ou 30 dias) após (b, d, f, h) exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ no início (c, d), meio (e, f) ou fim (g, h) de três noites e no tratamento-controle (a, b).

que o efeito sobre a anatomia foliar aumentaria prolongando-se o tempo de exposição a baixas temperaturas. Seria interessante verificar se houve aumento no volume de espaços intercelulares e investigar se, anteriormente, houve extravazamento de solutos celulares para os espaços intercelulares, obliterando-os e tornando necessário esse aumento.

Embora não tenha sido detectado efeito das baixas temperaturas nas taxas de fotossíntese líquida, de transpiração e de condutância estomática, foi possível verificar alteração na emissão de fluorescência a partir das moléculas de clorofila *a* e na espessura das lâminas foliares das plantas de *Coffea canephora* Pierre cv. Conilon. A alteração na emissão de fluorescência sugere mudança nas propriedades de membrana. E o aumento em espessura dos tecidos parenquimáticos em *C. canephora* Pierre cv. Conilon, como já discutido, provavelmente ocorreu em função de aumento no volume das células (expansão) e ou dos espaços intercelulares. Neste trabalho, as taxas fotossintéticas líquidas de Catuaí Vermelho, provavelmente, foram mais afetadas pelo aumento da temperatura foliar durante as medições do que pelos tratamentos de baixa temperatura. A explicação para isso pode estar na origem das duas espécies. O cafeeiro robusta é oriundo das terras baixas equatoriais africanas e o arábica das terras altas tropicais africanas. Provavelmente, portanto, o cafeeiro robusto é mais adaptado a temperaturas foliares maiores.

Trabalhos anteriores comparando plantas de *Coffea arabica* L. e *C. canephora* Pierre encontraram valores de taxa fotossintética líquida maiores nas plantas dos cultivares de *C. arabica* L., mas o cultivar de *C. canephora* Pierre utilizado nestes era outro. A produtividade apresentada pelas plantas do cafeeiro Conilon é considerada alta, quando comparada a produtividade dos outros cultivares de *C. canephora* Pierre descritos na literatura (SONDAHL et al., 1976). Os dois cultivares de cafeeiro diferenciam-se, estatisticamente, quanto a aspectos da anatomia foliar e quanto às taxas fotossintéticas líquidas, transpiratórias, de condutância estomática e padrão de emissão de fluorescência. As maiores taxas fotossintética líquida, transpiratória e de condutância estomática das plantas *C. canephora* Pierre cv. Conilon podem, em parte, ser explicadas pelo maior número de estômatos por número total de células na epiderme foliar inferior. Além disso, em *C. canephora* Pierre cv. Conilon há, entre os tipos de estômatos presentes na epiderme abaxial, uma tendência a ocorrência do tipo actinocítico, em contraste ao tipo paracítico, predominante em *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho. As células-guardas dos estômatos do tipo actinocítico ficam em contato com um maior número de células epidérmicas propriamente ditas do que as células-guardas do tipo paracítico. Isso propicia uma maior eficiência na troca

de gases entre estômatos e demais células epidérmicas. Estudos relativos ao padrão de vascularização e de distribuição dos estômatos na lâmina foliar, assim como análises de correlação entre o tipo de estômato predominante e as taxas de fotossíntese líquida poderiam contribuir muito para esclarecer a interrelação entre a anatomia interna e os mecanismos fisiológicos relacionados a tolerância e ou resistência a condições de crescimento adversas.

Desde que os processos fotossintéticos ocorrem nos cloroplastos do mesófilo seria interessante examinar os efeitos de baixas temperaturas noturnas no conteúdo de amido desses, a fim de estudar a relação entre deposição de fotoassimilados e crescimento. Seria interessante, ainda, verificar se houve efeitos sobre a ultraestrutura das células do mesófilo, principalmente na parede e nos cloroplastos. Estudos do ritmo circadiano de cafeeiros e dos efeitos dos tratamentos por baixa temperatura sobre a taxa de crescimento provavelmente elucidariam porque só houve alteração na espessura dos tecidos quando a exposição foi por três noites, e porque quando a exposição ao frio foi no fim da noite não houve alteração na espessura do parênquima paliçádico.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Este trabalho teve como objetivos investigar os efeitos de exposições noturnas a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ sobre a fotossíntese e alguns aspectos da anatomia foliar em cafeeiros robusta e arábica; verificar se há diferentes efeitos quando a exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ é por seis horas consecutivas em uma única noite ou por duas horas em três noites; e verificar se o efeito sobre os cafeeiros difere quando a exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ é no início, meio ou fim de noite. Com esse fim, mudas de café arábica (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho) e robusta (*C. canephora* Pierre cv. Conilon) foram cultivadas em vasos com $0,003\text{m}^3$ de solo, em condições de casa de vegetação. Submeteram-se as plantas a cinco diferentes tratamentos por baixa temperatura: (1) tratamento-controle; (2) exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ numa única noite, por seis horas consecutivas; (3) exposição a $8 \pm 1^\circ\text{C}$, por duas horas, no início; (4) no meio e (5) no fim de três noites consecutivas. Compararam-se os dois cultivares, fixando-se as respectivas combinações de tratamento e tempo após início do tratamento, quanto ao desempenho fotossintético e verificaram-se diferirem estatisticamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. As maiores taxas fotossintética líquida, transpiratória e de condutância estomática foram as dos cafeeiros do cultivar Conilon. Quanto a emissão de fluorescência, espessura da lâmina foliar, das epidermes (adaxial + abaxial), do parênquima paliádico e do parênquima lacunoso os dois cultivares diferiram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As plantas de *C. arabica* L. cv. Catuaí Vermelho apresentaram tecidos foliares mais espessos e maior emissão de fluorescência a partir das moléculas de clorofila **a**. Os dois cultivares de cafeeiro estudados diferiram, ainda, quanto ao número e tamanho dos estômatos e das demais células epidérmicas da superfície abaxial das folhas. Essas diferenças, principalmente o maior número de

estômatos do cultivar Conilon, ajudam a explicar as maiores taxas fotossintéticas, transpiratórias e de condutância estomática desse cultivar. Quando submetidas a $8 \pm 1^\circ\text{C}$, as plantas de nenhum dos cultivares apresentou alteração nas taxas de fotossíntese líquida, de transpiração e de condutância estomática, temperatura foliar e concentração de CO_2 na superfície evaporante. Verificou-se que as taxas fotossintéticas de Catuaí Vermelho, provavelmente, foram mais afetadas pelo aumento da temperatura foliar durante as medições do que pelos tratamentos por baixa temperatura. Investigaram-se possíveis modificações na emissão de fluorescência a partir das moléculas de clorofila, por tal medida ser considerada indicador da atividade fotossintética. Ao contrário do observado para a taxa fotossintética líquida, detectou-se efeito dos tratamentos por baixa temperatura sobre as variáveis relacionadas a fluorescência: o padrão de emissão de fluorescência inicial (F_0), máxima (F_m) e variável (F_v) mudou. No entanto, alterações na capacidade fotoquímica (razão F_v/F_m) não foram encontradas. Os efeitos das baixas temperaturas noturnas sobre a anatomia foliar verificados consistiram em aumento na espessura das lâminas foliares das plantas do cultivar Conilon expostas à baixa temperatura por duas horas no início, meio ou fim de três noites. Esses aumentos ocorreram nos tecidos parenquimáticos, pois em nenhum dos casos observou-se alteração na espessura da epiderme.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANDURSKI, R.S., SCOTT, F.M., PFLUG, M., WENT, F.W. The effect of temperature on the color and anatomy of tomato leaves. **Amer. J. Bot.**, Columbus, v.40, p.41-46, 1953.
- BAUER, H., WIERER, R., HATHEWAY, W.H., LARCHER, W. Photosynthesis of *Coffea arabica* after chilling. **Physiol. Plant.**, Copenhagen, v. 64, p.449-454, 1985.
- BAUER, H., COMPLOJ, A., BODNER, M. Susceptibility to chilling of some central-African cultivars of *Coffea arabica*. **Field Crops Res.**, Amsterdam, v.24, p.119-129, 1990.
- BERLYN, G.P., MIKSCHE, J.P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Iowa: The Iowa State Univ. Press, 1976. 326 p.
- BERRY, J., BJORKMAN, O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Annu. Rev. Plant Physiol.**, Palo Alto, v.31, p.491-543, 1980.
- BIERHUIZEN, J. F., NUNES, M. A., PLOEGMAN, C. Studies on the productivity of coffee. II. Effect of soil moisture on photosynthesis and transpiration of *Coffea arabica*. **Acta Bot. Neerl.**, Amsterdam, v. 18, p.367-374, 1969.
- BODNER, M., LARCHER, W. Chilling susceptibility of different organs and tissues of *Saintpaulia ionantha* and *Coffea arabica*. **Angew. Bot.**, Berlin, v.61, p.225-242, 1987.
- BORIN, J. **Introdução ao estudo do café**. São Paulo: Guarany, 1971. 144p.

- BOWERS, M. C. Environmental effects of cold on plants In: ROBERT, E., WILKINSON, M. (Ed.) **Plant environment interactions**. New York: Dekker, 1994. p.391-403.
- CREENCIA, R. P., BRAMLAGE, W. J. Reversibility of chilling injury to corn seedlings. **Plant Physiol.**, Copenhagen, v. 47, p.389-392, 1971.
- CROOKSTON, R.K., O'TOOLE, J., LEE, R., OZBUM, J.L., WALLACE, D.H. Photosynthetic depression on beans after exposure to cold for one night. **Crop Sci.**, Madison, v.14, p.457- 464, 1974.
- CUTTER, E.G. A folha. In:———. **Anatomia vegetal: experimentos e interpretação**. Trad.: Gabriela Vera Maria Caruso Catena. São Paulo: Livraria Roca, 1987. v.1, p.148-163.
- DA MATTA, F.M. **Desempenho fotossintético do cafeeiro em resposta a tensões abióticas**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 67p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- DRAKE, B., RASCHKE, K.. Prechilling of *Xanthium strumarium* L. reduces net photosynthesis and, independently, stomatal conductance, while sensitizing the stomata to CO₂. **Plant Physiol.**, Copenhagen, v. 53, p. 808-812, 1974.
- DRAKE, B. G., SALISBURY, F.B. Aftereffects of low and high temperature pretreatment of leaf resistance, transpiration and leaf temperature in *Xanthium*. **Plant Physiol.**, Copenhagen, v.50, p.572-575, 1972.
- FAHL, J.I., CARELLI, M.L.C., MAGALHÃES, A.C. Medida da fotossíntese líquida por cromatografia a gás em folhas intactas de cafeeiro. (*Coffea arabica* L.) **R. bras. Bot.**, São Paulo, v.15, p.57-65, 1992.
- FAHN, A. The leaf. In:———. **Plant anatomy**. 4. ed. Oxford: Pergamon Press,. 1990. p. 225-229.
- FAZUOLI, L.C. Genética e melhoramento do cafeeiro. In: RENA, A. B., MALAVOLTA, E., ROCHA, M., YAMADA, T. (Ed.) **Cultura do cafeeiro; fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1986. p.87-106.
- FRISCHKNECHT, P.M., ELLER, B. M., BAUMANN, T.W. Purine alkaloid formation and CO₂ gas exchange in dependence of development and of environmental factors in leaves of *Coffea arabica* L. **Planta**, Berlin, v.156, p.295-301, 1982.
- GRANTZ, D.A. Effect of cool temperatures on photosynthesis and stomatal conductance in field-grown sugarcane in Hawaii. **Field Crops Res.**, Amsterdam, v. 22, p.143-155, 1989.

- GRIMSTAD, S.O. Low temperature pulse affects growth and development of young cucumber and tomato plants. **J. Hort. Sci.**, Ashford Kent, v.70, p.75-80, 1995.
- HALLGREN, J.-E., STRAND, M., LUNDMARK, T. Temperature stress. In: RAGHAVENDRA, A.S. **Physiology of trees**. New York: John Wiley & Sons, 1991. p.301-315.
- HUNER, N.P.A. Morphological, anatomical, and molecular consequences of growth and development at low temperature in *Secale cereale* L. cv. Puma. **Amer. J. Bot.**, Columbus, v.72, p.1290-1306, 1985.
- IZHAR, S., WALLACE, D.H. Effects of night temperature on photosynthesis of *Phaseolus vulgaris*. **Crop Sci.**, Madison, v.7, p.546-547, 1967.
- JANDA, T., SZALAI, G., KISSIMON, J., PÁLDI, E., MARTON, C., SZIGETI, C. Role of irradiance in the chilling injury of young maize plants studied by chlorophyll fluorescence induction measurement. **Photosynthetica**, Prague, v. 30, p.293-299, 1994.
- KRAUSE, G.H. Photoinhibition of photosynthesis: an evaluation of damaging and protective mechanisms. **Physiol. Plant.**, Copenhagen, v.74, p. 566-574, 1988.
- KUMAR, D., TIESZEN, L.L. Photosynthesis in *Coffea arabica*. I Effects of light and temperature. **Expl. Agric.**, Cambridge, v.16, p.13-19, 1980.
- LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stresses: chilling, freezing and high temperature stresses**. 2nd ed. New York: Academic Press, 1980. 497p., v.1.
- LYNCH, D.V. Chilling injury in plants: the relevance of membrane lipids. In: KATTERMAN, F. (Ed.) **Environmental injury to plants**. San Diego: Academic Press, 1990. p.17-31.
- LYONS, J.M.. Chilling injury in plants. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, Palo Alto, v.24, p.445-466, 1973.
- MACIEJEWSKA, U., BAUER, H. Effect of cold acclimation on chlorophyll fluorescence in winter rape leaves (Brief communication). **Photosynthetica**, Prague, v.27, p. 559-562, 1992.
- MARLATT, R.B. Chilling injury in *Sansevieria*. **HortScience**, Amsterdam, v. 9, p.539-540, 1974.

- MARTIN, B., ORT, D.R., BOYER, J.S. Impairment of photosynthesis by chilling - temperature in tomato. **Plant Physiol.**, Copenhagen, v. 68, p.329-334, 1981.
- McCONNELL, D.B., SHEEHAN, T.J. Anatomical aspects of chilling injury to leaves of *Phalaenopsis* Bl. **HortScience**, Amsterdam, v.13, p.705- 706,1978.
- McMAHON, M.J., PERTUIT JR., A.J., ARNOLD, J.E. Effects of chilling on *Epscia* and *Dieffenbachia*. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, Alexandria, v.119, p.80-83, 1994.
- MORRIS, L.L. Chilling injury of horticultural crops: an overview. **HortScience**, Amsterdam, v.17, p.161-162, 1982.
- NUNES, M. A.;BIERHUIZEN, J.F., PLOEMAN, C. Studies on productivity of coffee. I Effect of light, temperature and CO₂ concentration on photosynthesis of *Coffea arabica*. **Acta Bot. Neerl.**, Amsterdam, v.17, p. 93-102, 1968.
- NUNES, M. A., BIERHUIZEN, J.F., PLOEMAN, C. Studies on productivity of coffee. III Differences in photosynthesis between four varieties of coffee. **Acta Bot. Neerl.**, Amsterdam, v.18, p.420-424, 1969.
- NUTMAN, F.J. Studies of the physiology of *Coffea arabica*. I Photosynthesis of coffee leaves under natural conditions. **Ann. Bot.**, London, v.1, p. 353-367, 1937.
- PEOPLES, T.R., KOCH, D.W. Physiological response of three alfafa cultivars to one chilling night. **Crop Sci.**, Madison, v.18, p.255-258, 1978.
- RADENOVIC, C.; MARKOVIC, D. & JEREMIC, M. Delayed chlorophyll fluorescence in plant models (Rev.). **Photosynthetica**, Prague, v.30, p.1-24, 1994.
- ROMBERGER, J.A., HEJNOWICZ, Z., HILL, J.F. **Plant structure: function and development. A treatise on anatomy and vegetative development, with special reference to woody plants.** Berlin: Springer-Verlag, 1993. p.169-173.
- SHATTERS JR., R.G., WEST, S. H. Response of *Digitaria decumbens* leaf carbohydrate levels and glucan degrading enzymes to chilling night temperature. **Crop Sci.**, Madison, v.35, p. 516-523, 1995.
- SILVA, J.E., SANT'ANNA, R., FERREIRA, L.G.R. Influência da temperatura sobre a translocação axial de fotoassimilados e na formação de lesões no caule de cafeeiros (*Coffea arabica* L.). **R. Ceres**, Viçosa, v. 23, p.209-221, 1976.

- SMILLIE, R.M., HETHERINGTON, S.E. Stress tolerance and stress-induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence in vivo: chilling, freezing, ice-cover, heat and high light. **Plant Physiol.**, Copenhagen, v.72, p.1043-1050, 1983.
- SONDAHL, M. R.I., CROCOMO, O.J. Medida da eficiência fotossintética em cafeeiros utilizando $^{14}\text{CO}_2$. **Arq. Biol. Tecnol.**, Curitiba, v.17, p.11-23, 1974.
- SONDAHL, M. R. I., CROCOMO, O.J. SODEK, L. Measurement of ^{14}C incorporation by illuminated intact leaves of coffee plants from gas mixtures containing $^{14}\text{CO}_2$. **J. Exp. Bot.**, Oxford, v.27, p. 1187-1195, 1976.
- SWEENEY, B.M. **Rhythmic phenomena in plants**. London: Academic Press, 1969. 147p.
- TERZAGHI, W.B., FORK, D.C., BERRY, J.A., FIELD, C.B. Low and high temperature limits to PSII: a survey using trans-parinac acid, delayed light emission, and F_0 chlorophyll fluorescence. **Plant Physiol.**, Copenhagen, v.91, p.1494-1500, 1989.
- TIÓ, M.A. Effect of light intensity on the rate of apparent photosynthesis in coffee leaves. **J. agric. Univ Puerto Rico**, Rio Piedras, v. 46, p. 159-166, 1962.
- WRIGHT, M., SIMON, E.W. Chilling injury in cucumber leaves. **J. Exp. Bot.**, Oxford, v. 24, p.400-411, 1973.
- YAMAGUCHI. T., FRIEND, D.J.C. Effect of leaf age and irradiance on photosynthesis of *Coffea arabica*. **Photosynthetica**, Prague, v.13, p. 271-278, 1979.
- YORDANOV, I. Response of photosynthetic apparatus to temperature stress and molecular mechanisms of its adaptations (Rev.). **Photosynthetica**, Prague, v. 26, p.517-531, 1992.

APÊNDICE

APÊNDICE

Quadro 1A - Composição do solo utilizado no experimento

Carb.	pH água	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC		V	m
									efet.	total		
%		--- mg/dm ³ ---								cmolc/dm ³		----- % -----
1	5,9	51,5	117	0,0	2,1	1,7	1,8	4,12	4,12	5,92	69,6	0,0

P e K: Extrator Mehlich 1.
 Al, Ca e Mg: Extrator KCl 1 mol/L.
 H+Al: Extrator Ca(OAc)₂ 0,5mol/L pH 7,0.

Quadro 2A - Composição da solução usada na adubação foliar

Componentes	Concentração (Kmol/m ³)	Volume usado (ml/L)
KH ₂ PO ₄	0,1	10,0
Ca(NO ₃) ₂	1,0	0,5
CaCl ₂	0,5	4,2
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5	15,0
MgSO ₄	1,0	0,8
Micronutrientes	-	1,0
Fe-EDTA	-	2,0
Bentate	-	3,0 g/L

Quadro 3A - Dados de temperatura e umidade relativa (UR%) dos dias mais frios (temperatura abaixo de 10°C), em 1994 e 1995, obtidos em casa de vegetação, por meio de um termohigrografo

Data	Período (h)	T (°C)	UR (%)
10/7/94	6:00-8:00	9	75
06/8/94	5:00-7:00	9	90
07/8/94	6:00-7:00	8	90
08/8/94	6:00-7:00	8	90
09/8/94	7:00-8:00	8	95
10/8/94	6:00-7:00	9	95
07/6/95	6:30-8:00	7	99
08/6/95	6:00-8:00	7	99
09/6/95	5:00-7:00	8	99

Quadro 4A - Dados de temperaturas mínima (T_{\min}) e máxima (T_{\max}) e umidade relativa (UR) obtida quando observou-se temperatura mínima e máxima, respectivamente, durante a fase de medição fotossintética, em casa de vegetação, por meio de um termohigrografo

Data	T_{\min} (°C)	UR (%)	T_{\max} . (°C)	UR(%)
01/12/95	19 (1-7)	100	30 (12-14)	70
02/12/95	18 (6-7)	97	31 (14-16)	48
03/12/95	19 (5-7)	95	33 (15-16)	45
04/12/95	20 (4-7)	97	31 (13-14)	55
05/12/95	21 (1-8)	97	31 (15-16)	55
06/12/95	20 (5-8)	95	30 (14-18)	55
07/12/95	20 (4-8)	95	34 (15-16)	52
08/12/95	23 (4-8)	96	34 (13-14)	52
09/12/95	19 (6-7)	96	32 (14-16)	50
10/12/95	20 (5-8)	95	29 (16-18)	63
11/12/95	21 (2-8)	97	28 (15-17)	70
12/12/95	22 (2-8)	98	26 (16-18)	87
13/12/95	19 (6-10)	98	23 (16-18)	95
14/12/95	19 (3-8)	98	24 (12-14)	85
15/12/95	19 (2-7)	98	25 (15-17)	85
16/12/95	20 (1-8)	98	31 (16-17)	55
17/12/95	20 (2-7)	97	29 (13-16)	70
18/12/95	22 (2-7)	97	33 (13-14)	50
19/12/95	19 (6-8)	97	35 (15-16)	50

* Os dados entre parênteses representam o período (em horas) em que essas temperaturas ocorreram.