

ALTERAÇÕES DA COMPOSIÇÃO DE AÇÚCARES EM GENÓTIPOS DE CAFEIEIRO (*Coffea* sp.) SUBMETIDOS A BAIXAS TEMPERATURAS POSITIVAS

Fábio Luiz Partelli²; Isabel Pais³; Henrique Duarte Vieira⁴; Alexandre Pio Viana⁴; José Cochicho Ramalho⁵

¹ Trabalho financiado pela CAPES, FCT e fundo Europeu FEDER e com apoio da UENF, Gabriel Burgarelli, Tumoru Sera UFG, FUNAPE/UFG, IICT e INRB.

² Professor D.Sc., Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia-GO, partelli@yahoo.com.br

³ Técnica, Instituto Nacional de Recursos Biológicos - INRB, Oeiras-Portugal, isabelppais@sapo.pt

⁴ Professor D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, Campos dos Goytacazes-RJ, henrique@uenf.br, pirapora@uenf.br

⁵ Pesquisador D.Sc., Instituto de Investigação Científica Tropical - IICT, Oeiras-Portugal, cochichor@iict.pt

RESUMO: Temperaturas baixas positivas afetam diversos componentes fisiológicos e bioquímicos da planta. Contudo, as espécies vegetais apresentam mecanismos de aclimação que conferem maior tolerância ao estresse e uma melhor capacidade de recuperação. O objetivo deste trabalho foi a caracterização das alterações na composição de açúcares em genótipos de *Coffea canephora* e *C. arabica*, submetidos a baixas temperaturas positivas, permitindo elucidar os mecanismos envolvidos na tolerância/sensibilidade à baixa temperatura. Plantas com cerca de 1 ano foram colocadas em câmaras de crescimento, onde permaneceram em condições controle a 25/20°C (dia/noite), irradiância 700-900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 380 $\mu\text{L CO}_2 \text{ L}^{-1}$, 70% de umidade relativa e fotoperíodo de 12h durante cerca de 10 dias. As plantas foram depois submetidas sucessivamente a um decréscimo gradual da temperatura (0,5°C diários), desde 25/20°C até 13/8°C, 3 dias a 13/4°C e 14 dias de recuperação. Durante o experimento foram avaliados, ao nível foliar, a concentração de açúcares solúveis. Os genótipos estudados apresentam sensibilidade a baixas temperaturas, mas com tolerância e capacidade de recuperação diferente, o que, conjugado com a análise a outros parâmetros, pode contribuir para uma correta escolha de cultivares e para o melhoramento do gênero *Coffea* no que diz respeito à tolerância a baixas temperaturas. O Catucaí IPR 102 apresentou os maiores valores absolutos dos açúcares solúveis relacionados com osmopregulação e estabilização de membranas após os 3 ciclos de 13/4°C. A manutenção de maior grau de funcionalidade no Catucaí poderá assim estar ligada à subida e/ou maiores teores de alguns açúcares durante a imposição de baixas temperaturas, nomeadamente, sacarose, rafinose, frutose e manitol.

Palavras-chave: *Coffea* sp., baixa temperatura, estresse, açúcares solúveis, sacarose

COMPOSITION CHANGES OF SUGARS IN COFFEE GENOTYPES (*Coffea* sp.) SUBMITTED TO LOW POSITIVE TEMPERATURES

ABSTRACT: Low positive temperatures may influence several plant physiological and biochemical components. However, plants possess acclimation mechanisms that confer higher tolerance to such limiting conditions and better recovery ability after the stress. The objective of the present work was to characterize the changes of the contents of soluble sugars in *Coffea canephora* and *C. arabica* genotypes submitted to low positive temperatures, in order to elucidate the mechanisms involved in cold tolerance/sensitivity. One year old plants were placed under control conditions of 25/20 °C (day/night), irradiance of 700-900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 380 $\mu\text{L CO}_2 \text{ L}^{-1}$, 70% relative humidity and a photoperiod of 12 h, for about 10 days. The plants were then submitted successively to 1) a gradual temperature decrease (0.5 °C per day) from 25/20 °C to 13/8 °C, 2) a 3 day chilling cycle (3 x 13/4 °C) and to 3) a recovery period of 14 days. During the experiment the contents of soluble sugars were evaluated in leaves. The studied genotypes have cold sensitivity, but display differential tolerance and recovery capabilities, where, these results together with the analysis of other parameters may contribute for a correct selection of genotypes and breeding of *Coffea* genus in what concerns to cold tolerance. The Catucaí IPR 102 showed the higher values of the soluble sugars with regarded the membrane osmoregulation and stabilization before the 3 cycles of 13/4°C. The maintenance of a higher functional status in Catucaí could be in turn related to the increase and/or higher contents of some sugars during the cold imposition, among them sucrose, raffinose, fructose and mannitol.

Key words: *Coffea* sp., chilling, stress, soluble sugars, sucrose

INTRODUÇÃO

O gênero *Coffea* é representado por pelo menos 103 espécies, destacando-se comercialmente *C. arabica* e *C. canephora* (Davis et al., 2006). A produção mundial do café nos últimos anos tem sido superior a 110 milhões de sacas, produzido principalmente nos países considerados em desenvolvimento (ICO, 2008). O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (*Coffea* sp.), que gera divisas, postos de trabalho e promove o desenvolvimento onde é produzido e/ou processado. Na safra de 2006/2007, a produção brasileira de *C. arabica* foi de 33 milhões de sacas e de *C. canephora* foi de 9,5 milhões, numa área de 2,15 milhões de hectares com 5,67 bilhões de cafeeiros (Conab, 2007),

sendo exportados em 2007, 28 milhões de sacas, o que equivale a 65% da produção e, aproximadamente, 29% das exportações mundiais do produto (ICO, 2008).

Para as plantas em geral, temperaturas baixas positivas afetam diversos componentes do processo fotossintético. O cafeeiro, quando cultivado em latitudes superiores a 15° S, apresenta um decréscimo acentuado na taxa de crescimento nos meses com baixas temperaturas (Barros e Maestri, 1974; Bauer et al., 1990; Libardi et al., 1998; Amaral et al., 2006), ocasionando queda da produtividade. Para além disso, as baixas temperaturas podem danificar o sistema radicular (Allen e Ort, 2001; Queiroz et al., 2000), dificultando também a condutividade hidráulica da água (Aroca et al., 2003), vindo a surgir lesões e até mesmo a morte dos tecidos ou de toda a folha (Rena, 2000).

Contudo, as plantas, nomeadamente os cafeeiros, possuem mecanismos de defesa/aclimatação que passam por alterações quantitativas e qualitativas dos lipídios membranares, aumento da atividade de enzimas antioxidantes e pelo aumento da capacidade de dissipação do excesso de energia, que conferem uma maior tolerância a baixas temperaturas e uma melhor recuperação após o fim do estresse. Tal faz com que a presença desses mecanismos seja fundamental para a implantação e manutenção de uma espécie em uma determinada região, influenciando decisivamente o desempenho e práticas agrícolas, assim como a viabilidade econômica para dada cultura. Assim, essas informações são importantes ferramentas na seleção e no manejo do gênero *Coffea* (Ramalho et al., 2003; Praxedes et al., 2006).

Recentemente, o cultivo de café Conilon em áreas de maior altitude (portanto sujeito a temperaturas mais baixas), tem crescido. Agricultores e pesquisadores acreditam que o cultivo do Conilon, pode ser mais uma alternativa de cultivo nestas condições, uma vez que a espécie apresenta maior tolerância a condições de estresse biótico e abiótico, apesar de ser mais susceptível a baixas temperaturas em comparação ao café Arábica (Ramalho et al., 2003).

A compreensão dos mecanismos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos de resposta do gênero *Coffea*, especificamente as duas principais espécies (*C. arabica* e *C. canephora*), às baixas temperaturas, bem como da posterior recuperação, pode auxiliar no manejo e no processo de seleção de variedades tolerantes a baixas temperaturas. Assim, objetivou-se deste trabalho contribuir para a caracterização das respostas fisiológicas e bioquímicas de dois importantes genótipos de *C. canephora* e um genótipo de *C. arabica*, a baixas temperaturas positivas, permitindo elucidar os mecanismos envolvidos em diferentes suscetibilidade a baixas temperaturas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados genótipos de plantas de *Coffea canephora* cv. Conilon, clone 02 (de maturação precoce) e clone 153 (de maturação tardia) (Bragança et al., 2001), e *C. arabica* cv. Catucaí IPR-102 (Sera et al., 2007), com, aproximadamente, 12 meses de idade, desenvolvidas em vasos contendo 3 L de substrato, em casa de vegetação no Centro de Ecofisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal, do Instituto de Investigação Científica Tropical, Oeiras, Portugal.

As plantas foram transferidas para câmaras de crescimento, onde permaneceram com irradiância de 700-900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, proporcionada por uma combinação otimizada de lâmpadas fluorescentes de alta frequência, de vapor de sódio e de halogênio (Ramalho et al., 2002), concentração ambiente de 380 $\mu\text{L de CO}_2 \text{ L}^{-1}$, umidade relativa de 70%, fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25/20°C, durante 15-20 dias para aclimatação, consideradas de controle.

As plantas foram submetidas a um decréscimo gradual da temperatura (0,5°C diários) desde 25/20°C até 13/8°C, durante 24 dias. Seguidamente, foram submetidas a 3 ciclos consecutivos de 4°C durante a noite e as 4 primeiras horas do dia seguinte, permanecendo a 13°C durante o restante do dia (3 x 13/4°C), sendo elevada posteriormente para 20/15°C no 1º dia e 25/20°C nos seguintes, acompanhando-se a recuperação até aos 14 dias.

Todas as análises foram realizadas em folhas recém maduras em pelo menos seis ocasiões distintas: 25/20°C (controle), 18/13°C (meio do período de aclimatação), 13/8°C (final do período de aclimatação a baixas temperaturas), 3 x 13/4°C (após os três ciclos de baixa temperatura positiva) e durante o período de recuperação a 25/20°C (em duas ocasiões, 7 e 14 dias após os ciclos de temperaturas mínimas). As análises não destrutivas de trocas gasosas foliares, fluorescência da clorofila *a* e contagem de folhas foram também realizadas nas temperaturas de 21/16°C, durante o período de aclimatação e a 25/20°C nos dias 1, 3 e 10 do período de recuperação. A coleta das folhas para as análises destrutivas foi efetuada após 2-2:30 min de iluminação. As folhas de 6-8 plantas de cada genótipo foram colhidas, formando amostras compostas, as quais foram congeladas em N₂ líquido e guardadas a -80°C.

O procedimento de análise de açúcares solúveis baseou-se no método de Damesin e Lelarge (2003), com pequenas alterações de otimização para o cafeeiro. Homogeneizou-se cerca de 100 mg de material foliar em 2 mL de água pura e fria com PVPP (antioxidante), permanecendo os homogenatos em tubos Eppendorf durante 20 min, a 4°C, com agitação. Em seguida centrifugaram-se (12000 g, 5 min, 4°C) as amostras transferindo-se o sobrenadante para outro tubo Eppendorf, que foi colocado sequencialmente num “banho maria” a 100°C por 3 min e no gelo durante 6 min. As amostras foram de novo centrifugadas (12000 g, 15 min, 4°C), aproveitando-se o sobrenadante que foi filtrado para o *vial* do HPLC (cromatografia líquida de alta performance), sendo conservadas a -20°C até o processamento em HPLC.

As amostras foram injetadas em HPLC (Waters, EUA), equipado com detector refratométrico e coluna Sugar-Park1 (Waters, 300 x 6,5 mm) em forno a 90°C. Utilizou-se como eluente H₂O ultrapura, contendo EDTA-Ca a 50 mg L⁻¹, com fluxo de 0,5 mL min⁻¹, isocrático. O volume de injeção foi de 80 μL , com 22 min de tempo de corrida por amostra. A identificação e quantificação de cada açúcar foi realizada com padrões de concentração conhecida..

Foram realizadas 4 repetições por amostra.

Os dados foram submetidos à análise de variância num esquema fatorial (genótipo vs. temperatura, incluindo o período de recuperação) ($P = 0,05$). Utilizou-se o teste Tukey para comparação entre as médias, para um nível de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De modo geral, observaram-se variações significativas do teor dos vários açúcares solúveis detectados por HPLC, quer durante a imposição das baixas temperaturas positivas quer no período após o fim da submissão às condições de estresse (Tabela 1). Deve sublinhar-se que nas condições estudadas as plantas de Catucaí, foram as que apresentaram melhor recuperação da taxa de fotossíntese líquida, seguida pelo Conilon clone 153 (dados não apresentados – Partelli, 2008).

Tabela 1. Concentração de açúcares solúveis (mg g^{-1} de massa seca) em folhas coletadas depois de 2 horas de iluminação, em diferentes genótipos de *Coffea* sp. submetidos a decréscimo gradual de temperatura ($25/20^\circ\text{C}$ até $13/8^\circ\text{C}$), durante 24 dias, 3 ciclos de temperatura de $13/4^\circ\text{C}$ ($3 \times 13/4^\circ\text{C}$) e posterior períodos de recuperação (Rec) a $25/20^\circ\text{C}$ (ao fim de 7 e 14 dias). Cada valor médio é proveniente de 4 repetições.

	Genótipo	Temperaturas e dias de recuperação					
		25/20°C	18/13°C	13/8°C	3x13/4°C	7 Rec	14 Rec
Estaquiase CV: 14,97	Catucaí	25,8Ac	37,6Ab	51,8Aa	34,5Bbc	32,4Bbc	26,4Bc
	Clone 02	15,1Bc	20,6Bbc	28,6Bab	26,6Bab	25,9Bab	33,3Ba
	Clone 153	14,9Bd	37,8Ac	44,5Abc	50,2Aab	58,4Aa	52,8Aab
Rafinose CV: 15,19	Catucaí	23,2Ac	27,8Aabc	36,1Aa	33,2Aab	31,2Babc	26,2ABbc
	Clone 02	28,4Abc	28,1Abc	30,2Abc	23,8Bc	41,8Aa	32,7Ab
	Clone 153	14,4Bb	13,0Bb	14,6Bb	16,8Cab	24,4Ba	24,4Ba
Sacarose CV: 8,63	Catucaí	47,9Bbc	48,2Bbc	40,5Acd	54,2Aab	36,6Bd	61,2Aa
	Clone 02	71,9Aa	59,1Ab	42,4Ad	43,4Bd	54,4Abc	49,0Bcd
	Clone 153	74,3Aa	51,8ABb	42,0Ac	47,3ABbc	51,4Ab	53,5Bb
Glicose CV: 10,54	Catucaí	14,7Ac	16,2Ac	21,9Aa	20,1Aab	17,4Bbc	17,6Bbc
	Clone 02	13,8Ac	16,8Abc	18,2Bab	18,0Aab	21,0Aa	21,1Aa
	Clone 153	6,03Bc	6,70Bc	6,38Cc	8,63Bbc	13,7Ca	10,3Cb
Frutose CV: 6,87	Catucaí	12,9Ad	17,3Ac	25,4Ab	31,9Aa	18,7Bc	19,1Ac
	Clone 02	12,9Ac	15,9Ab	17,3Bb	20,7Ba	21,6Aa	20,2Aa
	Clone 153	8,89Bc	8,61Bc	8,51Cc	10,7Cbc	13,4Ca	12,4Bab
Arabinose CV: 10,75	Catucaí	5,39ABc	7,46Ab	7,88Ab	11,3Aa	10,9Aa	8,13Ab
	Clone 02	4,62Bd	5,73Bcd	7,19Abc	9,61Ba	8,40Bab	6,85Abc
	Clone 153	5,94Aab	4,53Bb	4,95Bab	6,31Ca	6,47Ca	5,16Bab
Manitol CV: 9,06	Catucaí	5,52Bd	14,1Ac	23,9Ab	38,0Aa	12,8Bc	8,33Cd
	Clone 02	7,83Be	9,81Bde	12,6Ccd	20,1Bb	23,1Aa	13,5Bc
	Clone 153	10,6Ac	14,3Ab	15,0Bb	18,0Ba	10,5Bc	16,1Aab

Médias seguidas por mesma letra maiúscula, na coluna, e por mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV = Coeficiente de variação.

De entre as alterações observadas, houve aumento na concentração de glicose e frutose nas temperaturas de $13/8^\circ\text{C}$ e $3 \times 13/4^\circ\text{C}$ em Catucaí e no clone 02 (Tabela 1), como em *C. dewevrei* (Ramalho et al., 2003) ou em *Arabidopsis thaliana* (Klotke et al., 2004), mas não no clone 153, como também já observado em *C. canephora* cv. Apoatã e *C. arabica* cv. Icatu (Ramalho et al., 2003), mostrando haver diferentes impactos em diferentes genótipos. O aumento destes monossacáridos poder-se-à dever ao seu menor uso pelo metabolismo celular. No caso do clone 02, esse aumento parece decorrer igualmente da inibição da síntese de sacarose (por eventual inibição da enzima sacarose-P sintetase - SPS), já que este açúcar diminui significativamente ao longo do período de aclimação (de $25/20^\circ\text{C}$ até $13/8^\circ\text{C}$). O aumento de glicose e frutose em folhas fotossinteticamente ativas poderá também resultar de um declínio a translocação e uso destes açúcares (Morcuende et al., 1996). Já em Catucaí o nível de sacarose não sofreu variações significativas (exceto no fim do experimento) pelo que os aumentos de glicose e frutose se deverão a uma menor utilização destes açúcares. Já no clone 153, cujas concentrações de glicose e frutose foram sempre inferiores as dos outros dois genótipos, a manutenção dos níveis de glicose e frutose com concomitante decréscimo de sacarose poderá indicar também que alguma translocação deste açúcar se manteve para outras partes da planta ou mesmo que terá ocorrido degradação de sacarose para utilização de monossacáridos para a respiração, visualizado com o aumento da atividade enzimática da MDH e PK (dados não apresentados).

A afetação da síntese da sacarose nos clones de Conilon em condições de baixas temperaturas foi também observada em clones de *C. canephora* cv. Conilon sensíveis a déficit hídrico (Praxedes et al., 2006) e em *Cucumis sativus* submetida a baixas temperaturas (Miao et al (2007). Nesses estudos, sugere-se que tal decréscimo se terá dado

por redução da disponibilidade da ATP. Por outro lado, será provável que a síntese de sacarose tenha sido afetada, já que a SPS é sensível a baixas temperaturas (Morcuende et al., 1996; Allen e Ort, 2001) e ao déficit hídrico (Praxedes et al., 2006).

A concentração de sacarose em Catucaí manteve-se inalterada, em comparação ao controle, quando submetido a baixas temperaturas, podendo indicar uma maior tolerância, uma vez que a manutenção ou aumento da concentração de sacarose proporciona maior tolerância às plantas submetidas a esse tipo de estresse (Palonen et al., 2000), fato também relatado por Praxedes et al. (2006), ao avaliar cultivares de café Conilon tolerantes a déficit hídrico.

No que respeita a outros açúcares solúveis, verificou-se que a concentração de rafinose aumentou significativamente com a queda da temperatura apenas em Catucaí, tendendo para valores próximos do controle durante o período de recuperação. Este açúcar poderá estar envolvido na tolerância a baixas temperaturas de Catucaí, já que foi sugerido a sua associação à estabilização de membranas (Morsy et al., 2007), ocorrendo o seu aumento em plantas tolerantes a baixas temperaturas em comparação às sensíveis de *Arabidopsis thaliana* (Klotke et al. (2004) e de *Oryza sativa* (Morsy et al., 2007), assim como durante o processo de aclimação a baixas temperaturas em *Rubus idaeus* (Palonen et al., 2000) e *Olea europaea* (Rejsková et al., 2007).

Por seu lado, a estaquiose aumentou de forma gradual nos três genótipos, corroborando com dados apresentados por Tapernoux-Lüthi et al. (2004), ao submeterem plantas a baixas temperaturas. Foi igualmente sugerido que o aumento de estaquiose e rafinose esteja envolvido no processo de aclimação a baixas temperaturas em *Lonicera caerulea* L. (Imanishi et al., 1998).

No que se refere à arabinose observa-se um aumento da sua concentração nos 3 genótipos com a implementação de baixas temperaturas (Tabela 1) com particular destaque para Catucaí, que apresentou sistematicamente valores mais altos durante todo o período experimental (exceto no controle). Neste açúcar, o clone 02 apresentou aumentos percentuais semelhantes e os valores absolutos mais próximos a Catucaí, rondando ambos os genótipos um aumento de 100% a 3x13/4°C. Entre outras possíveis funções, a arabinose é (tal como a hidroxiprolina) um componente da glicoproteína extensina, que tem um importante papel estrutural da parede celular, sendo particularmente necessária em condições de aclimação a temperaturas negativas de forma a manter a extensibilidade da parede. Assim, um aumento de arabinose pode refletir um aumento de extensina, tal como sugerido por Weiser et al. (1990).

Verificou-se igualmente aumento da concentração do açúcar álcool manitol nos 3 genótipos, com a queda da temperatura (Tabela 1), com Catucaí apresentando as maiores variações percentuais e os maiores valores absolutos a 13/8°C e 3x13/4°C., sendo igualmente o único genótipo a mostrar valores semelhantes ao controle no fim do período de recuperação. O aumento de manitol com as baixas temperaturas pode estar associado à fotorrespiração ocorrida nessas condições, devido ao aumento de maltose, por meio da repartição de amido (Lu e Scharkey, 2006). Contudo, o aumento deste (e outros) açúcar pode contribuir para o mecanismo de ajustamento osmótico (Jiang e Huang, 2001), podendo também apresentar função de proteção (Jiang e Huang, 2001), o que contribuirá para uma melhor tolerância de Catucaí a baixas temperaturas positivas. O genótipo Catucaí apresentou quase sempre os maiores valores absolutos dos açúcares solúveis relacionados com osmoregulação e estabilização de membranas (Morsy et al., 2007; Rejsková et al., 2007) a 13/8°C (fim do período de aclimação) e após os 3 ciclos de 13/4°C (exceto para a estaquiose), podendo essas alterações serem consideradas como estando intimamente relacionadas com a capacidade de aclimação a baixas temperaturas (Palonen et al., 2000). É também o genótipo que mais frequentemente apresenta valores próximos do seu controle para os vários açúcares estudados, revelando uma recuperação do metabolismo de produção (refletido também na sua completa recuperação da taxa de fotossíntese líquida) e consumo de açúcares.

CONCLUSÕES

O Catucaí IPR 102 apresentou os maiores valores absolutos dos açúcares solúveis relacionados com osmoregulação e estabilização de membranas após exposição a baixas temperaturas (principalmente após 3 ciclos de 13/4°C).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, D.J.; ORT, D.R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. **Trends in Plant Science**, v.6, p.36-42, 2001.
- AMARAL, J.A.T.; RENA, A.B.; AMARAL, J.F.T. Crescimento vegetativo sazonal do cafeeiro e sua relação com fotoperíodo, frutificação, resistência estomática e fotossíntese. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.377-384, 2006.
- AROCA, R.; VERNIERI, P.; IRIGOYEN, J.J.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; TOGNONI, F.; PARDOSSI, A. Involvement of abscisic acid in leaf and root of maize (*Zea mays* L.) in avoiding chilling-induced water stress. **Plant Science**, v.165, p.671-679, 2003.
- BARROS, R.S.; MAESTRI, M. Influência dos fatores climáticos sobre a periodicidade de crescimento vegetativo do café (*Coffea arabica* L.). **Revista Ceres**, v.21, p.268-279, 1974.
- BAUER, H.; COMPLOJ, A.; BODNER, M. Susceptibility to chilling of some central-African cultivars of *Coffea arabica*. **Field Crops Research**, v.24, p.119-129, 1990.

- BRAGANÇA, S.M.; CARVALHO, C.H.S.; FONSECA, A.F.; FERRÃO, R.G. Variedades clonais de café Conilon para o Estado do Espírito Santo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.765-770, 2001.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Primeiro levantamento de café 2007/2008**. Acesso em: 15 de Fevereiro de 2007. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3BoletimCafe.pdf>.
- DAMESIN, C.; LELARGE, C. Carbon isotope composition of current-year shoots from *Fagus sylvatica* in relation to growth, respiration and use of reserves. **Plant, Cell and Environment**, v.26, p.207-219, 2003.
- DAVIS, A.P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D.M.; STOFFELEN, P. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.152, p.465-512, 2006.
- ICO, International Coffee Organization. **Trade statistics**. Disponível em: http://www.ico.org/coffee_prices.asp. Acesso em 21 fev. 2008.
- IMANISHI, H.; SUZUKI, T.; MASUDA, K.; HARADA, T. Accumulation of raffinose and stachyose in shoot apices of *Lonicera caerulea* L. during cold acclimation. **Scientia Horticulturae**, v.72, p.255-263, 1998.
- JIANG, Y.; HUANG, B. Osmotic adjustment and root growth associated with drought preconditioning-enhanced heat tolerance in kentucky bluegras. **Crop Science**, v.41, p.1168-1173, 2001.
- KLOTKE, J.; KOPKA, J.; GATZKE, N.; HEYER, A.G. Impact of soluble sugar concentrations on the acquisition of freezing tolerance in accessions of *Arabidopsis thaliana* with contrasting cold adaptation - evidence for a role of raffinose in cold acclimation. **Plant, Cell and Environment**, v.27, p.1395-1404, 2004.
- LIBARDI, V.C.M.; AMARAL, J.A.T.; AMARAL, J.F.T. Crescimento vegetativo sazonal do cafeeiro (*Coffea canephora* Pierre var. Conilon) no sul do Estado do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.6, p.23-28, 1998.
- LU, Y.; SCHARKEY, T.D. The importance of maltose in transitory starch breakdown. **Plant, Cell and Environment**, v.29, p.353-366, 2006.
- MIAO, M.; XU, X.; CHEN, X.; XUE, L.; CAO, B. Cucumber carbohydrate metabolism and translocation under chilling night temperature. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p.621-628, 2007.
- MORCUENDE, R.; PÉREZ, P.; MARTÍNEZ-CARRASCO, R.; MOLINO, I.M.; PUENTE, L.S. Long- and short-term responses of leaf carbohydrate levels and photosynthesis to decreased sink demand in soybean. **Plant, Cell and Environment**, v.19, p.976-982, 1996.
- MORSY, M.; JOUVE, L.; HAUSMAN, J-F.; HOFFMANN, L.; STEWART, J. Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p.157-167, 2007.
- PALONEN, P.; BUSZARD, D.; DONNELLY, D. Changes in carbohydrates and freezing tolerance during cold acclimation of red raspberry cultivars grown in vitro and in vivo. **Physiologia Plantarum**, v.110, p.393-401, 2002.
- PARTELLI, F.L. **Aspectos microbiológicos, nutricionais, fisiológicos e bioquímicos em cafeeiro**. 2008. 227. Dissertação (Doutorado em Produção Vegetal) – Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- PRAXEDES, S. C.; DAMATTA, F.M.; LOUREIRO, M.E.; FERRÃO, M.A.G.; CORDEIRO, A.T. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, v.56, p.263-273, 2006.
- QUEIROZ, C.G.S.; MARES-GUIA, M.L.; MAGALHÃES, A.C. Microcalorimetric evaluation of metabolic heat rates in coffee (*Coffea arabica* L.) roots of seedlings subjected to chilling stress. **Thermochimica Acta**, v.351, p.33-37, 2000.
- RAMALHO, J.C.; MARQUES, N.C.; SEMEDO, J.N.; MATOS M.C.; QUARTIN, V.L. Photosynthetic performance and pigment composition of leaves from two tropical species is determined by light quality. **Plant Biology**, v.4, p.112-120, 2002.
- RAMALHO, J.C.; QUARTIN, V.L.; LEITÃO, E.; CAMPOS, P.S.; CARELLI, M.L.C.; FAHL, J.I.; NUNES, M.A. Cold acclimation ability and photosynthesis among species of the tropical *Coffea* genus. **Plant Biology**, v.5, p.631-641, 2003.
- RENA, A.B. **Conseqüências fisiológicas das baixas temperaturas no cafeeiro**. Circular Técnica. Lavras: EPAMIG/CRSM, 2000, n.99.
- REJSKOVÁ, A.; PATKOVÁ, L.; STODULKOVÁ E.; LIPAVSKA, H. The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (*Olea europaea* L.) under in vitro conditions. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p.174-184, 2007.
- SERA, G.H.; SERA, S.; ITO, D.S.; AZEVEDO, J.A.; RIBEIRO FILHO, C.; MATA, J.S. Partial resistance to fruit necrosis associated to *Colletotrichum* spp. among Arabic Coffee genotypes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, p.395-402, 2007.
- TAPERNOUX-LÜTHI, E.M.; BÖHM, A.; KELLER, F. Cloning, functional expression, and characterization of the raffinose oligosaccharide chain elongation enzyme, galactan:galactan galactosyltransferase, from common bugle leaves. **Plant Physiology**, v.134, p.1377-1387, 2004.
- WEISER, R.L.; WALLNER, S.J.; WADDELL J.W. Cell wall and extensin mRNA changes during cold acclimation of pea seedlings. **Plant Physiology**, v.93, p.1021-1026, 1990.