

ÁLVARO AUGUSTO GUIMARÃES OLIVEIRA

**ACLIMATAÇÃO DA MAQUINARIA FOTOSSINTÉTICA DO CAFEEIRO
CULTIVADO EM DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ E DE
DISPONIBILIDADE HÍDRICA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal,
para a obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

ÁLVARO AUGUSTO GUIMARÃES OLIVEIRA

**ACLIMATAÇÃO DA MAQUINARIA FOTOSSINTÉTICA DO CAFEEIRO
CULTIVADO EM DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ E DE
DISPONIBILIDADE HÍDRICA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal,
para a obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

Aprovada em: 30 de outubro de 2009.

Prof. Raimundo Santos Barros
(Co-Orientador)

Prof. Marco A. Pedron e Silva

Profª Diolina M. Silva

Dr. Agnaldo R. de Melo Chaves

Prof. Fábio Murilo DaMatta
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, José Hilton Oliveira e Abinar Bernadete Guimarães Oliveira, e à minha irmã, Tamara Caroline G. Vilela, pelo apoio, incentivo e por tudo que representam em minha vida. E, também, dedico à minha namorada, Eleonice Moreira Santos, que passou a fazer parte da minha vida, logo nos meus primeiros meses em Viçosa. Durante todo o meu período de Mestrado, e até hoje, foi e é uma fonte inesgotável de amor, carinho e compreensão, nunca medindo esforços para me ajudar, mesmo nas madrugadas de coleta de dados e amostras do meu experimento.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Vegetal, por intermédio do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal que, por sua excelência, deu toda a estrutura necessária para meu crescimento pessoal e profissional e para a realização de meus trabalhos.

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

Ao meu orientador, Fábio M. DaMatta, sempre presente em cada tomada de decisão. Sua disponibilidade e atenção foram dignas de um excelente orientador e um grande amigo e companheiro, tanto no trabalho quanto fora deste.

Aos Profs. Raimundo Santos Barros e Rogério Ferreira Ribas, pelo aprendizado e co-orientação.

Aos funcionários e demais professores do Departamento de Biologia Vegetal, por terem sido de grande importância para obtenção dos conhecimentos e realização dos trabalhos, bem como, pela atenção e amizade disponibilizadas.

Ao Grupo Café, por ter me recebido e acolhido muito bem, o que fez com que eu os tivesse como pessoas da minha família. Pelo auxílio ímpar durante a execução deste trabalho, seja nas madrugadas no Bromeliário ou ao longo dos dias e noites no laboratório. Em especial, agradeço ao Paulo César (PC), pelo auxílio em todas as etapas do meu trabalho.

Aos colegas de curso, de república e demais amigos, pela recepção e convívio em Viçosa.

BIOGRAFIA

ÁLVARO AUGUSTO GUIMARÃES OLIVEIRA, filho de Abinar Bernadete Guimarães Oliveira e José Hilton Oliveira, nasceu em Itaguara, MG, no dia 03 de maio de 1985. Concluiu o curso de graduação em Agronomia em 2007, pela Universidade Federal de Lavras. No mesmo ano ingressou no Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, em nível de Mestrado, submetendo-se à defesa de dissertação em 30/10/2009.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAIS E MÉTODOS	6
2.1. Condições experimentais	6
2.2. Relações hídricas	7
2.3. Trocas gasosas	8
2.4. Parâmetros de fluorescência	8
2.5. Danos celulares	9
2.6. Área foliar específica	9
2.7. Pigmentos fotossintéticos	9
2.8. Ascorbato (AsA) e Desidroascorbato (DHA)	10
2.9. Glutaciona oxidada (GSSG) e glutaciona reduzida (GSH)	11
2.10. Procedimentos estatísticos	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
3.1. Trocas gasosas e relações hídricas	12
3.2. Parâmetros de fluorescência, mecanismos fotoprotetores e danos celulares	19
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
5. REFERÊNCIAS	31
ANEXO	38

RESUMO

OLIVEIRA, Álvaro Augusto Guimarães, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2009. **Aclimação da maquinaria fotossintética do cafeeiro cultivado em diferentes níveis de luz e de disponibilidade hídrica.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta. Co-Orientadores: Raimundo Santos Barros e Rogério Ferreira Ribas.

O cafeeiro é originário das florestas tropicais da África, onde é encontrado como vegetação de sub-bosque, desenvolvendo-se sob sombra. No Brasil, no entanto, os cafezais vêm sendo conduzidos quase exclusivamente a pleno sol. Cafezais a pleno sol produzem, na maioria dos casos, mais que os plantios à sombra, o que deve envolver altos investimentos em mecanismos fotoprotetores. Hipotetiza-se, pois, que o cultivo de cafezais sombreado reduziria os efeitos negativos do déficit hídrico (DH). Neste estudo, pretendeu-se analisar o desempenho fotossintético, as relações hídricas e o metabolismo antioxidativo em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' cultivadas em vasos, utilizando-se de três níveis de irradiância e três níveis de disponibilidade hídrica. De modo geral, não foi observada significância estatística da interação entre os tratamentos hídricos e lumínicos, mas uma resposta independente e ortogonal. As plantas do ambiente com sombreamento de 35% apresentaram maiores valores médios da taxa de assimilação líquida de carbono sob DH moderado, nos dois horários de medição (08:00 e 12:00h) e, sob DH severo, não se observou diferença significativa na resposta das plantas entre os ambientes lumínicos. A condutância estomática foi sempre maior nas plantas-controle que nas plantas sob DH, independentemente do regime lumínico. A transpiração total das plantas diferiu estatisticamente entre os tratamentos lumínicos e entre os regimes hídricos, apresentando maiores taxas nas plantas dos ambientes com maiores níveis de radiação solar e naquelas mantidas irrigadas. A área foliar total foi similar entre as plantas dos ambientes sombreados e maior em comparação com as plantas a pleno sol. A eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (FSII), assim como a eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII, a eficiência quântica do transporte de elétrons pelo FSII e o coeficiente de extinção fotoquímico não responderam aos regimes hídricos, independentemente dos ambientes lumínicos, exceto sob DH severo, condição na qual o uso da energia na

fotoquímica foi limitado. O coeficiente de extinção não-fotoquímico (NPQ) não variou em resposta ao DH moderado, porém, sob DH severo, observaram-se reduções em NPQ. As plantas sob sombreamento mais intenso (70%), de modo geral, apresentaram maiores valores de concentrações de clorofilas (Cl) totais e da razão Cl *a/b* em comparação com as de outros ambientes de luz, na antemanhã. Os carotenóides (Car) totais e a relação Cl/Car não diferiram significativamente na antemanhã. Ao meio-dia, somente os valores médios das razões Cl *a/b* e Cl/Car diferiram significativamente em relação aos ambientes lumínicos, com as plantas a pleno sol apresentando os menores valores e aquelas do ambiente mais sombreado os maiores. As plantas a pleno sol e sob sombreamento de 35% apresentaram concentrações semelhantes entre si e maiores de anteraxantina e de zeaxantina que as plantas sob 70% de sombreamento, indicando maior necessidade de fotoproteção. Em adição, também apresentaram maior concentração de VAZ (soma das concentrações de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina) e maior grau de desepoxidação dos carotenóides do ciclo das xantofilas. Os danos celulares, avaliados via extravasamento de eletrólitos e produção de aldeído malônico, foram significativamente mais intensos nas plantas submetidas ao déficit hídrico do que nos respectivos controles irrigados, independentemente dos ambientes lumínicos. A partir dos resultados encontrados, acredita-se que o uso do sombreamento de 35% seria interessante por melhorar as condições ambientais, pouco afetando o desempenho agrônomo dessas plantas em comparação com as cultivadas a pleno sol.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Álvaro Augusto Guimarães, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2009. **Acclimation of the photosynthetic apparatus of the coffee grown in different levels of light and water availabilities.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta. Co-advisers: Raimundo Santos Barros and Rogério Ferreira Ribas.

The coffee is indigenous to African tropical forests, where it is found as an understory species growing under shade. In Brazil, however, the coffee plantations have been conducted almost exclusively in full sun. Coffee in full sunlight produce, in most cases, more than shaded plantations, although at the expense of a high investment in photoprotective mechanisms. It is hypothesized that the cultivation of coffee under shade would reduce the negative effects of water deficit (WD). In this study, the photosynthetic performance, the water relations and the antioxidant metabolism were analyzed in plants of *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho'. The plants were grown in pots under three levels of irradiance and three levels of water availability. Overall, there was no statistical significance of the interaction between water and light treatments, but instead an independent and orthogonal response was found. Plants at 35% shading showed higher average rate of net carbon assimilation (A) under moderate WD in the two measurement times (08:00 and 12:00 h); under severe WD A was similar regardless of the light environments. The stomatal conductance (g_s) was always higher in control plants than in droughted plants, regardless of the light regime. The total plant transpiration (E) differed significantly among the light treatments and water regimes; higher E rates were found in well-irrigated plants grown in the sun. The total leaf area was similar between plants in shaded environments and higher than in plants in full sun. The photochemical efficiency (F_v/F_m) of photosystem II (PSII) and the capture efficiency of excitation energy by open reaction centers of PSII (F_v'/F_m'), the quantum efficiency of electron transport by PSII (Φ_{PSII}) and the photochemical quenching (q_P) all did not respond to the water supply, regardless of the light environments except under severe WD condition in which the use of energy in photochemistry was limited. The coefficient of non-photochemical quenching (NPQ) did not vary in response to moderate WD; however, under severe WD, reductions in NPQ were found. Plants under deep shade (70%) generally showed higher concentrations of total chlorophyll (Chl) and Chl a/b ratio

compared with plants from the other light environments, as found at predawn. Total carotenoids (Car) and Chl/Car ratio did not differ significantly at the predawn. The Chl *a/b* and Chl/Car ratios differed significantly in response to the light environments with the plants full sunlight grown showing the lowest ratios and plants from deep shade the largest ones, but only at midday. Plants in full sun and under 35% shading had antheraxanthin and zeaxanthin concentrations similar to each other, but superior to those of the deepest shaded plants, indicating a greater need for photoprotection. In addition, those plants also showed a higher VAZ pool (sum of the concentrations of violaxanthin, antheraxanthin and zeaxanthin) and higher values of DEPS (depoxidation state of the xanthophylls cycle). Cellular damages, evaluated via electrolyte leakage and production of malondialdehyde, were significantly more severe in plants grown under water deficit than in their control counterparts, regardless of the light environment. From the above, it is believed that the use of 35% shading would be an interesting option to improve environmental conditions without negatively impacting the agronomic performance of shaded coffee plants compared with those grown in full sun.

1. INTRODUÇÃO

Existem muitos fatores ambientais potencialmente estressantes para as plantas, principalmente o déficit hídrico e as altas temperaturas e irradiâncias. As constantes modificações climáticas, devido às alterações no ambiente, podem acentuar ainda mais os efeitos deletérios daqueles fatores. De acordo com o “Quarto Relatório de Avaliação do GT1 e GT2 do Painel Intergovernamental sobre Mudanças do Clima” (IPCC 2007a, b), está ocorrendo uma elevação da temperatura média global nos últimos anos, o que também contribui para a ocorrência de mudanças nas estações climáticas, com secas mais intensas e prolongadas. Tais alterações ambientais implicarão em mudanças no zoneamento climático para o cultivo de várias espécies, fazendo-se necessário incorporarem-se áreas anteriormente consideradas marginais, pois aquelas que eram consideradas aptas à agricultura passam a ser restritas ou inaptas, devido às condições climáticas limitantes de temperatura e disponibilidade hídrica. Isso tem sido preconizado para o cafeeiro por Assad et al. (2004), com simulações de aumentos da temperatura média anual. Com um aumento da temperatura média anual de 3°C para regiões de São Paulo, ocorreria uma ampliação das áreas inaptas ao cultivo do cafeeiro, para 70% e, em regiões de Goiás, onde o cultivo do cafeeiro atualmente ocorre com o uso de irrigação, as áreas em condições inaptas alcançariam 99%.

Originário das florestas tropicais da África, onde é encontrado em estado espontâneo como vegetação de sub-bosque, desenvolvendo-se, portanto, permanentemente sob sombra, o cafeeiro expandiu-se e adaptou-se às mais variadas condições ecológicas da faixa tropical. No Brasil, atualmente, os cafezais vêm sendo conduzidos quase exclusivamente a pleno sol, enquanto em muitos países da América Central a espécie é mais freqüentemente cultivada em sistemas arborizados. Não obstante, cafeeiros cultivados a pleno sol produzem satisfatoriamente e, na maioria dos casos, mais que os plantios à sombra. Como consequência, o sombreamento, como prática cultural regular, foi abandonado em várias regiões do mundo, como no Brasil e no Quênia (Malavolta 2000). Ressalta-se, todavia, que, pelo menos no Brasil, as cultivares atualmente plantadas foram selecionadas em ensaios de competição quase sempre conduzidos a pleno sol e, portanto, podem, potencialmente, apresentar

adaptações a altas irradiâncias em extensão superior àquelas selecionadas para ambientes sombreados (DaMatta 2004b). Com efeito, observa-se, freqüentemente, em cafeeiros a pleno sol, redução da área foliar específica, cloroplastos com menos *grana* e menos tilacóides por *granum* (Fahl et al. 1994), alta razão clorofila *a/b* e reversão da fotoinibição relativamente rápida (DaMatta e Maestri 1997), características que podem indicar adaptação à plena irradiância. Essas características devem favorecer a maximização das taxas fotossintéticas do cafeeiro cultivado à plena exposição solar. Em todo o caso, e semelhantemente à maioria das espécies lenhosas tropicais cultivadas originárias de ambientes sombreados, o café exibe baixas taxas de assimilação líquida de carbono (*A*) (DaMatta 2003), mesmo sob condições ótimas de cultivo (Silva et al. 2004). Os máximos valores de *A* registrados em café arábica situam-se na faixa de 7 a 12 $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$, porém, mais amiúde, esses valores giram em torno de 4 a 5 $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ (Araújo et al. 2008; Chaves et al. 2008; Rena et al. 1994). Esses dados indicam que o cafeeiro exibe eficiência fotossintética muito baixa, mesmo em relação à da maioria das plantas lenhosas (Cannell 1985).

A despeito das considerações acima, o cafeeiro, a pleno sol, pode ser submetido a um excesso de energia radiante que, por seu turno, pode limitar a fotossíntese, pela inativação dos centros de reação, devido, em parte, à superexcitação da cadeia de transporte de elétrons, que gera espécies reativas de oxigênio (ERO's) (Blankenship 2006). Em adição, sob condições de seca, na medida em que a fotossíntese decresce, devido à limitação da assimilação do CO_2 , que precede a inativação das reações de transferência de elétrons nos cloroplastos, a intensidade da irradiância interceptada pode, também, exceder largamente àquela necessária para saturar a fotossíntese. Isso pode gerar um excesso de poder redutor, normalmente usado para reduzir o oxigênio molecular, levando à formação de ERO's (DaMatta e Rena 2002). Essas ERO's podem causar peroxidação de lipídeos (Lima et al. 2002), desnaturação de proteínas, mutação do DNA (Asada 1999; Mascher et al. 2002) e ativação de rotas de morte celular programada (Mittler 2002). Além disso, a peroxidação de lipídeos de membrana pode resultar na perda de compartimentalização celular, com o conseqüente aumento do extravasamento de eletrólitos (Asada 1999).

Para se proteger contra níveis de irradiância potencialmente fotoinibitórios, as plantas podem reduzir a absorção da luz, e.g. via redução da

concentração de clorofilas e aumento da reflectância da radiação incidente (Lambers et al. 1998). Adicionalmente, a fotoproteção pode ser alcançada pelo aumento da dissipação do excesso de energia via carotenóides ou pela elevação do metabolismo das ERO's, que, em geral, envolve três mecanismos: (i) a participação de antioxidantes (e.g. α -tocoferol, β -caroteno, luteína, anteraxantina e zeaxantina) associados às membranas lipídicas, (ii) pequenas moléculas antioxidantes solúveis em água (e.g. ascorbato, glutathione) e (iii) antioxidantes enzimáticos incluindo as enzimas dismutase do superóxido, catalase, peroxidases inespecíficas e as enzimas do ciclo ascorbato-glutathione (peroxidase do ascorbato, redutase do monodesidroascorbato, redutase do desidroascorbato e redutase da glutathione). Coletivamente, esses mecanismos podem largamente minimizar potenciais aumentos na concentração de ERO's (Blankenship 2006; Bray et al. 2000; Holt et al. 2005). Sem um sistema fotoprotetor eficaz, pode ocorrer fotoinibição da fotossíntese, caracterizada por um declínio sustentado no rendimento quântico da fotossíntese e um decréscimo da eficiência fotoquímica máxima do fotossistema (FS) II [avaliada pela razão entre fluorescências variável e máxima (F_v/F_m)] e, em muitos casos, por um decréscimo no rendimento quântico potencial do FSII (Corcuera et al. 2005; DaMatta e Maestri 1997; Ögren 1991).

A fotoinibição da fotossíntese pode ser encarada como uma estratégia de aclimatação do FSII, traduzindo-se em proteção contra níveis de luz potencialmente injuriosos (Asada 1999). Assim, a fotoinibição, *per se*, pode não resultar em reduções substanciais na produtividade de cafeeiros cultivados em campo, o que explicaria, em parte, o sucesso do cultivo de variedades comerciais a pleno sol (DaMatta e Maestri 1997). Por outro lado, sob certas condições, como déficit hídrico e temperaturas elevadas associadas a alto déficit de pressão de vapor entre a folha e atmosfera, os mecanismos de defesa da planta podem não ser suficientes para dissipar a energia excedente e, nesse caso, a ocorrência de fotodanos pode ser bastante expressiva. Esses fatores, combinados ou não, podem acarretar uma seqüência de eventos potencialmente catastróficos. Como consequência visível, a escaldadura se manifesta, culminando na abscisão da folha. Nessas condições, a incidência de cercosporiose e ferrugem usualmente aumenta, conseqüentemente levando à abscisão foliar. Desse modo, não somente a folhagem exposta, mas também as folhas mais internas da copa, passam a receber fluxo de fótons superior ao

necessário para saturar a fotossíntese, o que potencializa mais ainda a abscisão das folhas. Em muitos casos, o ramo seca ou pouco cresce, acarretando quebra de produção na colheita seguinte (DaMatta e Rena 2002).

O sombreamento tem sido apontado como uma alternativa eficaz para proteger o cafeeiro contra a ocorrência de danos fotooxidativos, e também por melhorar o desempenho agrônômico da cultura, especialmente em áreas marginais ao cultivo do café (DaMatta 2004b). Deve-se registrar que o sombreamento afeta não somente a disponibilidade de luz ao longo da copa do cafeeiro, mas, também, reduz os extremos de temperatura do ar e do solo, reduz a velocidade dos ventos e promove a manutenção da umidade relativa do ar e o tamponamento da disponibilidade hídrica do solo (Beer et al. 1998). Nessa condição, o gradiente absoluto de pressão de vapor entre os espaços internos da folha e o ar adjacente diminui e a transpiração passa a depender muito mais da resistência do ar, e não da resistência estomática (DaMatta e Rena 2001). Assim, o influxo de CO₂ para a fotossíntese, na medida em que o estômato permanece mais aberto, não é acompanhado direta e efetivamente por perda de vapor d'água, em face de a contribuição da resistência do ar sobrepujar-se àquela da resistência do estômato. Isso deve contribuir para otimizar a utilização da água pela planta (maior eficiência do uso da água) (DaMatta 2004b). Como consequência, cafezais arborizados estarão em um ambiente mais propício para a manutenção das taxas de fotossíntese, com reflexos óbvios sobre a produção. Por outro lado, em cafezais cultivados a pleno sol, na medida em que o dia avança, a transpiração, a princípio, aumenta, em resposta a aumentos discretos no déficit de pressão de vapor. Todavia, incrementos adicionais na demanda evaporativa, como ocorre principalmente à tarde, geram decréscimos na transpiração, em face da alta sensibilidade do estômato do café à redução da umidade relativa. Como consequência, o influxo de CO₂ para os cloroplastos diminui e as taxas de fotossíntese decrescem sobremodo e, assim, reduz-se a utilização fotoquímica da irradiância incidente, gerando excedentes que podem ser danosos à maquinaria fotossintética (DaMatta 2004b). Coletivamente, essas informações sustentam o interesse crescente na replantação do sombreamento em cafezais, particularmente porque essa prática também está associada à conservação de recursos do ambiente, permitindo menor uso de insumos para uma produção sustentável de café (DaMatta e Rena 2002).

Hipotetiza-se, aqui, que o sombreamento, ao reduzir os efeitos negativos do excesso de energia e as taxas de consumo de água, permitiria uma melhor aclimação do cafeeiro ao déficit hídrico. Nesse contexto, pretendeu-se, neste estudo, analisar o desempenho fotossintético, as relações hídricas e o metabolismo antioxidativo em plantas cultivadas sob ambientes lumínicos distintos e submetidas a diferentes disponibilidades de água.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Condições experimentais

Este estudo foi conduzido em Viçosa (20°45' S, 42°54' W, 650 m altitude), Minas Gerais. Foram utilizadas plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho', plantadas em vasos de 12 litros, com substrato de solo:areia (3:1, v:v). As plantas foram cultivadas em três ambientes de luz (pleno sol, e 35 e 70% de sombreamento artificial, utilizando-se de malhas tipo sombrite), abrangendo 12 plantas úteis para cada regime de luz. A adubação e a correção do pH do substrato foram feitas, de acordo com análise de solo e recomendações técnicas usuais para a cultura. Adubações mensais de cobertura foram feitas, aplicando-se 2 g de sulfato de amônio por vaso. Todas as plantas foram irrigadas sempre que necessário, procurando-se manter a umidade do solo próxima à capacidade de campo, até o momento da imposição dos tratamentos de deficiência hídrica. Mensalmente, as plantas eram casualizadas dentro de cada um dos ambientes lumínicos. Após a última irrigação, colocou-se cobertura morta sobre os vasos, a fim de reduzir a perda d'água por evaporação.

Ao atingirem cerca de 15 meses, metade das plantas de cada regime lumínico continuou sendo irrigada periodicamente, recebendo 100% da água evapotranspirada (plantas-controle), enquanto a outra metade foi irrigada com quantidades progressivamente decrescentes de água (plantas sob déficit hídrico). Para tal, a intervalos aproximados de uma semana, as plantas sob déficit receberam 80%, 70%, 60% e 50% da água transpirada pelas plantas-controle (estimada por gravimetria, com balança de precisão de 0,1 g), de modo a permitir a aclimatação das plantas à deficiência hídrica. Para minimizar a evaporação da água do solo, além da cobertura morta adicionada à superfície dos vasos, estes foram cobertos com sacos plásticos, que tiveram uma das extremidades ("boca" do saco plástico) presa ao caule das plantas por meio de fita adesiva, e a extremidade oposta ("fundo" do saco plástico) permanecendo aberta, de modo a permitir as trocas gasosas entre as raízes e a atmosfera externa.

Após o período de aclimação, a irrigação foi suspensa nas plantas sob déficit hídrico. O potencial hídrico da antemanhã (Ψ_{am}) foi acompanhado continuamente, até que atingisse cerca de -1,7 e -3,4 MPa, valores que representariam déficit hídrico moderado e severo, respectivamente (Praxedes et al. 2006). A $\Psi_{am} \sim -1,7$ MPa, foram avaliados as relações hídricas, as trocas gasosas e os parâmetros de fluorescência da clorofila *a*; a $\Psi_{am} \sim -3,4$ MPa, essas características foram também avaliadas, procedendo-se, ainda, à coleta de material vegetal para análises bioquímicas posteriores. As medições fisiológicas e coleta de material vegetal foram feitas em folhas do terceiro ou quarto par, a partir do ápice dos ramos plagiotrópicos. Quando não explicitado, as coletas foram sempre feitas ao meio-dia. O material foi colocado em envelopes de papel alumínio, devidamente identificados, e, então, acondicionados em garrafa térmica contendo nitrogênio líquido e, em seguida, armazenado a -80°C , até o momento das análises.

2.2. Relações hídricas

Potencial hídrico

O potencial hídrico das plantas foi determinado em folhas individuais com uma bomba de pressão tipo Scholander. Nas plantas não-irrigadas, após a completa suspensão da irrigação, o potencial hídrico foi determinado diariamente no período da antemanhã. Nas datas de coleta, tanto as plantas não-irrigadas como as plantas-controle correspondentes tiveram o potencial hídrico medido na antemanhã e ao meio dia.

Transpiração

A transpiração (E) foi estimada por gravimetria, mediante a diferença do peso dos vasos (ΔPV), determinada na antemanhã. Este valor foi dividido pela área foliar total de cada planta (AF) [estimada a partir do comprimento foliar, conforme modelo proposto por Antunes et al. (2008)], pelo peso molecular da água (PM) e pelo intervalo de tempo (Δt) entre a pesagem dos vasos. O valor de água perdida por evaporação (EV) do solo foi negligenciado, uma vez que os vasos estavam cobertos por sacos plásticos amarrados ao caule das

plantas, antes da imposição dos tratamentos de déficit hídrico. A seguinte equação foi então usada para determinação da transpiração das plantas:

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

Condutância hidráulica

A condutância hidráulica aparente entre o solo e a folha (K_L) foi calculada a partir da transpiração das plantas entre a antemanhã e o meio-dia (E), e a diferença de potencial hídrico ($\Delta\psi_w$) observada neste intervalo, conforme a seguinte equação :

$$K_L = E / \Delta\psi_w$$

2.3. Trocas gasosas

A taxa de assimilação líquida de carbono (A), a condutância estomática (g_s) e a razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) foram medidas em sistema aberto, sob luz artificial (correspondente à irradiância média interceptada pelas folhas, em seus ângulos naturais, em cada tratamento lumínico) e concentração de CO_2 ambiente, por meio de um analisador de gás a infravermelho portátil (LI-6400, LI-COR, Lincoln, EUA), conforme DaMatta et al. (1997), pela manhã (em torno das 08h00) e por volta do meio-dia.

2.4. Parâmetros de fluorescência

A fluorescência da clorofila foi avaliada, utilizando-se de um fluorômetro com amplitude de pulso modulado (FMS2, Hansatech, Norfolk, Reino Unido). As folhas foram adaptadas ao escuro, durante 30 min, expondo-se os tecidos foliares, inicialmente, a um fraco pulso de luz vermelho-distante ($1-2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), para determinação da fluorescência inicial (F_0). Em seguida, um pulso de luz saturante, com irradiância de $6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e duração de 1 s, foi aplicado, para estimar-se a fluorescência máxima emitida (F_m). Nas amostras adaptadas ao escuro, a máxima eficiência do fotossistema II (PSII) foi estimada pela razão entre as fluorescências variável e máxima, $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$. Subseqüentemente, as folhas foram irradiadas com luz actínica durante 300 s, à mesma irradiância interceptada pelas folhas em seus ângulos naturais, para

obtenção da fluorescência constante (F_s). Em seguida, outro pulso de luz saturante foi aplicado, por 1 s, para obtenção da fluorescência máxima emitida pelas amostras (F_m'). A luz actínica foi desligada e as amostras foram irradiadas com luz vermelho-distante, para a obtenção de F_0 adaptada à luz (F_0'). A eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII foi estimada por $F_v'/F_m' = (F_m' - F_0')/F_m'$. O coeficiente de extinção fotoquímico foi calculado como $q_P = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_0')$, e o de extinção não-fotoquímica por $NPQ = (F_m/F_m') - 1$ (Krause e Weis 1991). O rendimento quântico do transporte de elétrons do FSII foi estimado como $\phi_{FSII} = (F_m' - F_s) / F_m'$ (Genty et al. 1989). Todas essas medidas foram realizadas nos mesmos horários das análises de trocas gasosas. Em adição, a razão F_v/F_m também foi medida na antemanhã.

2.5. Danos celulares

Os danos celulares foram estimados pelo extravasamento de eletrólitos (Lima et al. 2002), imediatamente após a coleta de discos foliares, e pela formação de aldeído malônico (MDA), conforme Hodges et al. (1999), em discos foliares coletados e armazenados a -80°C .

2.6. Área foliar específica

A área foliar específica de cada planta foi obtida a partir da coleta de discos foliares, com área conhecida, acondicionados em estufa a 70°C , por 72 h, para obtenção da massa seca.

2.7. Pigmentos fotossintéticos

Para as análises de pigmentos fotossintéticos, foram coletados dois discos foliares (1,4 cm de diâmetro) de cada planta. As coletas ocorreram na mesma folha, na antemanhã e ao meio-dia. Para a quantificação da concentração dos componentes do ciclo das xantofilas (violaxantina, anteraxantina e zeaxantina), bem como de neoxantina, luteína, α -caroteno e β -caroteno, os discos foliares foram homogeneizados em 2 mL de acetona a 90% (v/v), a 4°C . O homogenato foi transferido para um microtubo, e expurgado com N_2 gasoso. Após 30 min de repouso, os microtubos foram centrifugados a

15000 g, por 10 min, a 4°C. O sobrenadante obtido foi filtrado através de um filtro com diâmetro de poro de 0,45 µm e, em seguida, 50 µL do filtrado foram injetados no cromatógrafo líquido de alto desempenho (Hewlett Packard, série 1050, EUA), utilizando-se de uma coluna C₁₈ de fase reversa, *Spherisorb* ODS-2 (250 x 4,5 mm), com diâmetro de poro de 5 µm. Os compostos foram identificados mediante os espectros de absorção e tempos de retenção. A detecção e quantificação individual dos carotenóides foi obtida pela proporcionalidade entre as áreas integradas dos cromatogramas das amostras, a 440 nm, e as áreas previamente obtidas dos cromatogramas dos padrões dos carotenóides (VKL, Horssholm, Dinamarca), registrados naquele comprimento de onda, de acordo com método descrito em Ramalho et al. (1997). As clorofilas *a* e *b* e carotenóides totais foram quantificados espectrofotometricamente, conforme Lichthenthaler (1987).

2.8. Ascorbato (Asc) e Desidroascorbato (DHA)

As análises de ascorbato e desidroascorbato foram feitas segundo Arakawa et al. (1981) e Pinheiro et al. (2004). Foram macerados quatro discos (1,4 cm de diâmetro) de tecido foliar em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA), a 5% (p/v). O homogenato foi centrifugado a 10000 g por 15 min, a 4°C. Uma alíquota de 10 µL do sobrenadante foi diluída para 250 µL, usando TCA 5% (p/v). O ascorbato total (Asc + DHA) foi determinado após a redução do DHA pelo ditioneitol (DTT). Para os 250 µL da amostra diluída foram adicionados 125 µL de DTT a 0,06% (p/v) e 125 µL de 0,2 M Na₂HPO₄-1,2 M NaOH. A mistura foi incubada por 10 min, a 25°C. Subsequentemente, foram adicionados: 125 µL de *N*-etilmaleimida a 0,24% (p/v), 125 µL de H₃PO₄ a 4% (v/v), 250 µL de 4,7-difenil-1,10-fenantrolina a 0,5% (p/v) e 250 µL de FeCl₃ a 0,03% (p/v), obtendo-se 1,25 mL de volume final. A mistura foi agitada vigorosamente e incubada a 30°C, por 90 min. Todos os reagentes usados foram diluídos em etanol absoluto. A absorbância da mistura foi lida a 534 nm. O ascorbato (Asc) foi determinado como descrito, omitindo-se o DTT. O DHA foi obtido pela diferença entre o valor de Asc total e Asc.

2.9. Glutathiona oxidada (GSSG) e glutathiona reduzida (GSH)

Os conteúdos de glutathiona oxidada (GSSG) e glutathiona reduzida (GSH), assim como o conteúdo total de glutathiona (Glu_{Total}), foram quantificados conforme Griffith (1985) e Smith (1985). O material foliar (quatro discos foliares de 1,4 cm de diâmetro) foi macerado, em câmara fria, em 2 mL de HCl 0,1M contendo 1mM EDTA. O homogenato foi centrifugado a 10000 g, por 30 min, a 4°C. Foram retiradas do sobrenadante alíquotas de 200 μ L e 600 μ L para análise da Glu_{Total} e GSSG, respectivamente. Para a análise da Glu_{Total} foram colocados para reagir, com a alíquota do extrato foliar, 200 μ L de tampão fosfato de sódio 125 mM, pH 7,5, contendo EDTA 6,3 mM, 500 μ L de NADPH 0,3 mM e 100 μ L de DTNB [ácido 5,5'-ditio-bis(2-nitrobenzóico)] 6 mM. Após incubação a 30°C, por 5 min, adicionaram-se 10 μ L de redutase da glutathiona (50 U mL⁻¹) e determinou-se a absorbância a 412 nm, durante 1 min. Para a análise da GSSG foram colocados para reagir com a alíquota do extrato foliar, 100 μ L de 2-vinilpiridina, para neutralizar GSH. O conteúdo foi agitado até formar uma emulsão e, logo após, foi incubado por 60 min, a 30°C. O material foi centrifugado a 10000 g por 10 min, à temperatura ambiente. Foram retirados 200 μ L do sobrenadante para proceder-se à análise da GSSG, como descrito para Glu_{Total} . As concentrações de Glu_{Total} e GSSG foram determinadas por meio de curva de calibração, utilizando-se de padrões autênticos de GSH. A concentração de GSH foi determinada por diferença entre Glu_{Total} e GSSG.

2.10. Procedimentos estatísticos

O experimento foi disposto em um delineamento inteiramente casualizado, sendo montado segundo um arranjo fatorial 3 x 3 (três níveis de luz, pleno sol, 35% e 70% de sombreamento e três níveis de déficit hídrico Ψ_{am} de aproximadamente -0,1 MPa, -1,7 MPa e -3,4 MPa); registra-se, todavia, que algumas avaliações nas plantas sob Ψ_{am} -1,7 MPa não foram feitas. A parcela experimental consistiu de uma planta por vaso, com seis repetições para cada tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste F, a 5% de probabilidade, e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando-se do programa estatístico SISVAR versão 4.6.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a maioria dos parâmetros analisados, os tratamentos se comportaram como ortogonais e apresentaram efeito individualizado sobre as plantas, ou seja, praticamente não houve interação significativa entre os ambientes lumínicos e os regimes hídricos avaliados, a 5% de probabilidade, conforme pode ser visto no quadro da ANOVA (Anexo A).

3.1. Trocas gasosas e relações hídricas

A taxa de assimilação líquida do carbono (A), medida em torno das 08h00, quando as plantas não-irrigadas apresentavam $\Psi_{am} = -1,7$ MPa, considerado como déficit hídrico (DH) moderado, diferiu significativamente em relação aos ambientes lumínicos, conforme mostra a Tabela 1. As taxas médias de A , obtidas nos ambientes a pleno sol e com sombreamento de 70%, foram iguais entre si, e inferiores às das plantas sob sombreamento de 35%. Em adição, A também diferiu entre os regimes hídricos, sendo maior nas plantas irrigadas que nas plantas não-irrigadas. Observa-se que estas mesmas plantas comportaram-se diferentemente sob DH severo ($\Psi_{am} = -3,4$ MPa), em medições realizadas pela manhã, pois houve diferença significativa entre A apenas considerando-se as plantas irrigadas e as não-irrigadas, sendo maior nas primeiras (Tabela 2). O comportamento das taxas de fotossíntese das plantas ao meio-dia foi similar ao observado nas medições da manhã (Tabelas 1 e 2). Sob DH moderado, ocorreu diferença significativa de A entre os ambientes lumínicos e entre os regimes hídricos, e sob DH severo ocorreu diferença significativa somente entre os tratamentos de água. A condutância estomática (g_s), independentemente do ambiente lumínico, sempre variou significativamente, em função do regime hídrico, sendo maior nas plantas-controle que nas plantas sob DH (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1: Efeito dos ambientes de luz e do regime hídrico sobre as trocas gasosas e temperatura foliar de plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' submetidas a déficit hídrico moderado ($\Psi_{am} = -1,7$ MPa)

Parâmetros de trocas gasosas	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
08h00						
A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	6,26* (4,01b)	1,77	9,41* (6,39a)	3,37	7,04* (4,56b)	2,08
g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	141,0* (83,0a)	25,0	261,0* (161,0a)	61,0	173,0* (138,0a)	104,0
C_i/C_a	0,70 (0,68a)	0,67	0,78 (0,72a)	0,66	0,76 (0,68a)	0,60
T_{foliar} ($^{\circ}\text{C}$)	28,9 (29,0a)	29,5	28,8 (29,2a)	29,5	26,6 (26,2b)	25,7
12h00						
A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	2,78* (1,49b)	0,20	5,39* (2,92a)	0,45	6,42* (1,96ab)	2,43
g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	38,0* (22,0b)	7,0	99,0* (53,0a)	8,0	49,0* (29,0b)	9,0
C_i/C_a	0,63 (0,74a)	0,85*	0,70 (0,73a)	0,76*	0,64 (0,70a)	0,76*
T_{foliar} ($^{\circ}\text{C}$)	34,0 (34,5a)	35,4	35,0 (35,3a)	35,6	33,9 (33,9a)	34,2

A : Assimilação líquida do carbono; g_s : condutância estomática; C_i/C_a : Razão entre a concentração estimada de carbono no interior da câmara sub-estomática e a concentração atmosférica; T_{foliar} : Temperatura foliar. Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição. Os asteriscos (*) denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos hídricos, para um mesmo ambiente de luz e horário de medição ($n = 6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

Tabela 2: Efeito dos ambientes de luz e dos regimes hídricos sobre as trocas gasosas e temperatura foliar de plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' submetidas a déficit hídrico severo ($\Psi_{am} = -3,4$ MPa)

Parâmetros de trocas gasosas	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
08h00						
A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	6,56* (4,43a)	2,30	7,82* (5,06a)	2,30	6,42* (4,42a)	2,43
g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	154,0* (96,0a)	39,0	199,0* (111,0a)	24,0	120,0* (67,0a)	15,0
C_i/C_a	0,74* (0,71a)	0,69	0,76* (0,67a)	0,59	0,70* (0,56b)	0,42
T_{foliar} ($^{\circ}\text{C}$)	29,2 (29,6a)	29,9	27,0 (27,4b)	28,0	26,3 (26,4b)	26,0
12h00						
A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	2,72* (1,45a)	0,18	2,63* (1,49a)	0,36	4,52* (2,71a)	0,91
g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	37,0* (21,0a)	6,0	46,0* (26,0a)	7,0	94,0* (52,0a)	10,0
C_i/C_a	0,64 (0,76a)	0,88 ^A	0,68 (0,73a)	0,79 ^A	0,74 (0,64a)	0,55 ^B
T_{foliar} ($^{\circ}\text{C}$)	35,4 (35,3a)	35,2	33,6 (33,8a)	34,0	31,3 (31,2b)	31,2

A: Assimilação líquida do carbono; g_s : condutância estomática; C_i/C_a : Razão entre a concentração estimada de carbono no interior da câmara sub-estomática e a concentração atmosférica; T_{foliar} : Temperatura foliar. Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição. Os asteriscos (*) denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos hídricos, para um mesmo ambiente de luz e horário de medição ($n = 6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

Moraes (2008), avaliando plantas de café a pleno sol e à sombra, encontrou maior A para plantas a pleno sol, corroborando a sugestão de DaMatta et al. (2004a) de que, uma vez que g_s não seja limitante, cafeeiros exibem maior A ao sol do que à sombra. No presente trabalho, no entanto, o ambiente de sombra mais esparsa (sombreamento de 35%) propiciou maior valor médio de A, tanto nas avaliações da manhã quanto nas do meio-dia, quando as plantas estavam sob DH moderado. Tal fato não foi verificado quando as plantas não-irrigadas estavam submetidas a um DH severo, pois não ocorreu diferença estatística entre os valores médios de A entre os ambientes lumínicos. Assim, sugere-se que, a partir de um determinado nível de DH, as variações no ambiente lumínico não alteram sobremodo as taxas de

assimilação líquida de carbono do cafeeiro, sendo estas, aparentemente, afetadas fundamentalmente pela disponibilidade hídrica. É sabido que o déficit hídrico afeta negativamente as taxas fotossintéticas, tanto no cafeeiro como em outras espécies, em parte, devido ao comprometimento do influxo de CO₂ para a câmara sub-estomática (devido ao fechamento estomático), ou devido a limitações bioquímicas. Nas avaliações feitas pela manhã, as plantas sob DH, em comparação com as plantas-controle, apresentaram decréscimo em A , que foi acompanhado de uma redução em g_s e na razão C_i/C_a (significativa apenas sob DH severo), o que sugere limitações estomáticas à fotossíntese. As plantas sob DH, ao meio-dia, também apresentaram decréscimos em A , acompanhados de reduções em g_s . A razão C_i/C_a , no entanto, foi maior sob DH moderado (Tabela 1) e tendeu a ser maior sob DH severo (Tabela 2) para as plantas a pleno sol e sob 35% de sombra, quando a temperatura foliar foi mais elevada. É possível que a combinação entre os estresses hídrico e térmico tenha acarretado uma limitação bioquímica à fotossíntese (DaMatta 2004a). Tal fato não foi observado para as plantas sob 70% de sombreamento, pois as reduções em A e em g_s não foram acompanhadas de maiores valores da razão C_i/C_a , talvez porque a temperatura foliar foi significativamente menor em comparação com os outros ambientes de luz.

A transpiração total das plantas (Tabela 3, Figura 1), medida por gravimetria, ao contrário de g_s (Tabelas 1 e 2), que foi medida em folhas individuais, nos dois períodos de avaliação (DH moderado e severo), diferiu estatisticamente entre os tratamentos; os valores médios de transpiração foram semelhantes entre as plantas sob 35% de sombra e a pleno sol, e superiores aos das plantas sob 70% de sombreamento. Os resultados similares de transpiração para o ambiente de sombreamento de 35% e a pleno sol, associados com tendência de maior g_s no primeiro ambiente, são consistentes com a assertiva de DaMatta (2004a). O sombreamento permitiu uma maior abertura estomática, que, por seu turno, não foi acompanhada direta e efetivamente por maior perda de vapor d'água, em virtude de a contribuição da resistência do ar sobrepujar-se à da resistência estomática, otimizando a utilização da água.

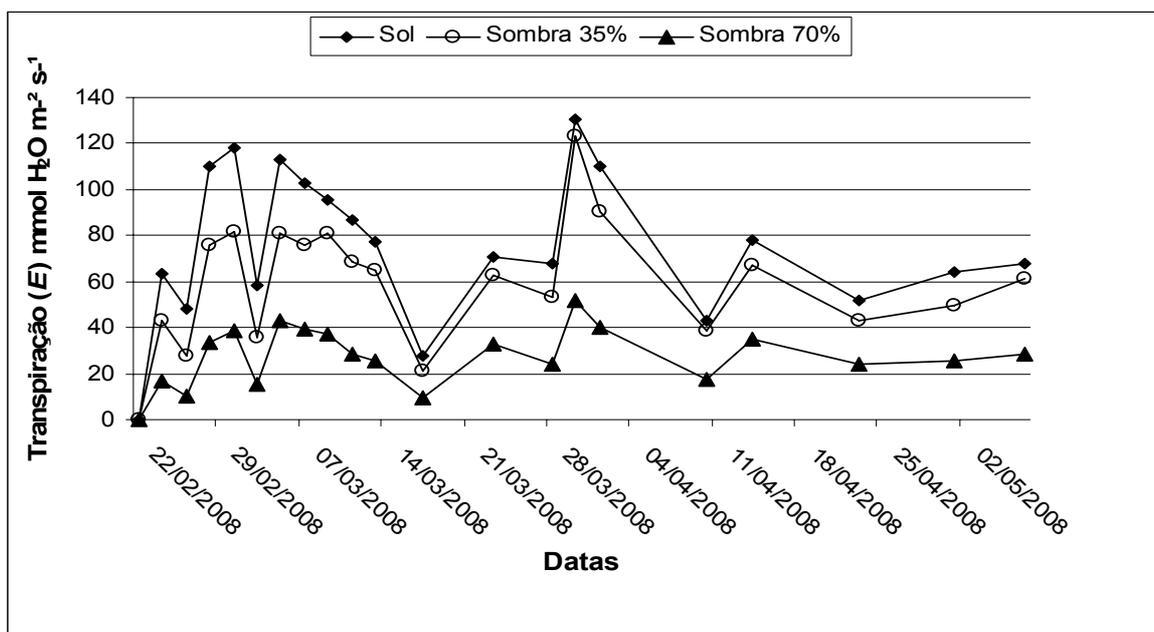


Figura 1: Transpiração das plantas irrigadas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho', entre 22/02/2008 e 07/05/2008.

A condutividade hidráulica (K_L) foi estatisticamente diferente entre as plantas-controle e as plantas sob DH (Tabela 3), sendo maior nas primeiras. Resultados semelhantes foram observados em outros trabalhos (e.g. Dias et al. 2007), o que se pode traduzir em preservação da umidade do solo por mais tempo, pois as plantas retiram a água do solo com uma menor intensidade, devido à menor tensão transpiratória, limitada pelo fechamento estomático, sob DH. Ocorreu, também, diferença estatística entre os ambientes lumínicos sob DH severo; nas plantas mais sombreadas foi observado menor K_L em comparação com as plantas dos outros ambientes lumínicos. Sob DH moderado, observou-se, também, tendência de menor K_L (Tabela 3). Apesar da interação entre os ambientes lumínicos e os regimes hídricos não ter sido significativa, menor K_L nas plantas sob 70% de sombra seria, conforme acima sugerido, uma maneira de preservar a umidade do solo por maior tempo (Dias et al. 2007).

Tabela 3: Efeito dos ambientes lumínicos e regimes hídricos sobre o potencial hídrico medido na antemanhã (Ψ_{am}), a transpiração total da planta (E_{planta}), estimada por gravimetria, e a condutividade hidráulica (K_L) de plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' submetidas a déficit hídrico (DH) moderado ($\Psi_{am} = -1,7$ MPa) e severo ($\Psi_{am} = -3,4$ MPa).

Parâmetros	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
	DH moderado					
Ψ_{am} (MPa)	-0,05	-1,81	-0,09	-1,87	-0,07	-2,04
E_{planta} (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	0,79*	0,43 (0,61a)	0,76*	0,44 (0,60a)	0,50*	0,18 (0,34b)
K_L (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹ MPa ⁻¹)	3,17*	0,60 (1,88a)	1,58*	0,51 (1,05a)	1,31*	0,23 (0,77a)
	DH severo					
Ψ_{am} (MPa)	-0,06	-3,50	-0,04	-3,43	-0,04	-3,78
E_{planta} (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	0,76*	0,29 (0,53a)	0,69*	0,24 (0,47a)	0,52*	0,12 (0,32b)
K_L (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹ MPa ⁻¹)	3,62*	0,59 (2,11a)	2,06*	0,44 (1,25ab)	1,57*	0,15 (0,86b)

Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição. Os asteriscos (*) denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos hídricos, para um mesmo ambiente de luz e horário de medição ($n = 6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

Alguns parâmetros morfológicos, mostrados na Tabela 4, que podem afetar as trocas gasosas entre os ambientes de luz e os regimes hídricos, são a área foliar total (AF) e a área foliar específica (AFE). A área foliar total foi estatisticamente igual entre as plantas dos ambientes sombreados, porém maior em comparação com as plantas a pleno sol. A área foliar específica, maior no ambiente mais sombreado, foi similar nas plantas a pleno sol e sob 35% de sombreadamento. Observações similares têm sido relatadas [e.g. Fahn (1990)]. Registra-se que o incremento da superfície foliar, sob sombra, pode ser atribuído tanto ao aumento do número de células, devido ao aumento das divisões celulares, quanto ao maior volume celular (Fahn, 1990). Salienta-se que, em café, o aumento da AFE com o aumento do sombreadamento tem sido relatado por outros autores (e.g. Araújo et al. 2008; Morais et al. 2004). Tal efeito também é documentado em diferentes espécies vegetais (Fahn 1990; Salisbury 1927; Valladares et al. 2006), em que folhas de sombra, por

receberem menor intensidade de fluxo de fótons, traduzem esse efeito pelo aumento da área foliar por unidade de massa. O aumento da área foliar seria uma estratégia de aclimação das plantas, submetidas ao sombreamento, interceptando uma maior intensidade de luz. Outra estratégia de aclimação seria a redução da espessura da cutícula e das camadas de parênquima o que facilita a passagem de luz, de modo a aumentar a interceptação da irradiância pelas folhas mais internas da copa. Por outro lado, esperar-se-ia que o déficit hídrico afetasse a área foliar total do cafeeiro, pois a falta d'água poderia limitar as divisões celulares e, particularmente, a expansão celular (Dias et al. 2007), fato que não foi observado neste trabalho (Tabela 4). Isso pode ser devido ao curto tempo de aclimação das plantas ao DH.

À primeira vista, o sombreamento de 70% seria vantajoso, uma vez que permitiu maior A e g_s , ao meio-dia (Tabela 2), com menor perda de vapor d'água por transpiração (Tabela 3). Registra-se, entretanto, que A e g_s foram medidas em folhas individuais, localizadas mais na periferia da copa. Desse modo, as folhas mais internas devem receber um fluxo de fótons baixo, o que limitaria a fotossíntese. Tais limitações na fotossíntese, em nível de planta inteira, traduzem-se em menor acúmulo de biomassa, conforme verificado por Pompelli (2008) em cafeeiros jovens sob sombreamento. Ademais, o sombreamento mais intenso também resulta em menor produção, pois a diferenciação de gemas reprodutivas e a formação de nós podem diminuir substancialmente, na medida em que o sombreamento aumenta (DaMatta, 2004a).

Tabela 4: Efeito dos ambientes lumínicos e regimes hídricos sobre a área foliar total (AF_{Total}) e área foliar específica (AFE) de plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho'. As avaliações foram conduzidas quando o potencial hídrico de antemanhã alcançou -3,4 MPa nas plantas desidratadas.

Parâmetros	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
AF_{Total} (dm ²)	43,5 (40,7b)	37,8	58,6 (52,5a)	46,4	54,1 (52,4a)	50,7
AFE (m ² kg ⁻¹ MS)	12,36 (12,16b)	11,95	12,61 (12,49b)	12,36	14,87 (14,95a)	15,03

Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição ($n = 6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

3.2. Parâmetros de fluorescência, mecanismos fotoprotetores e danos celulares

Independentemente dos ambientes lumínicos, a razão F_v/F_m não respondeu aos regimes hídricos, confirmando relatos prévios (e.g. Almeida e Maestri 1997; DaMatta et al., 1997; Lima et al. 2002; Pinheiro et al. 2004; Praxedes et al. 2006) de que as reações fotoquímicas do café são pouco ou nada afetadas pelo déficit hídrico. Outros dados, apresentados nas Tabelas 5 e 6, reforçam essa sugestão, i.e., a eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII (F_v'/F_m'), a eficiência quântica do transporte de elétrons pelo FSII (Φ_{FSII}) e o coeficiente de extinção fotoquímico (q_p) também não diferiram estatisticamente entre as plantas submetidas aos diferentes regimes hídricos. O q_p dos cafeeiros submetidos ao DH severo foi o único parâmetro que apresentou uma pequena diferença estatística, mostrando que o DH severo limitou o uso da energia na fotoquímica.

Deve-se salientar que o NPQ não variou, em resposta ao DH moderado; todavia, sob DH severo, observaram-se reduções em NPQ, independentemente de as medições terem sido conduzidas sob irradiância a que as folhas estavam aclimatadas ou sob uma irradiância padrão de 1000 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esse comportamento é, a princípio, inesperado, uma vez que menores taxas fotossintéticas resultariam em maior pressão de excitação sobre os fotossistemas e, conseqüentemente, em maior necessidade de dissipação dessa excitação na forma de calor pelo complexo-antena associado ao FSII (Demmig-Adams et al. 1996). Ressalta-se que respostas similares foram observadas em café sob condições de seca (Lima et al. 2002, Praxedes et al. 2006), mas nenhum mecanismo que explicaria o menor NPQ sob seca foi até então proposto. Em adição, esperar-se-ia, também, diferença significativa dos valores de NPQ entre os ambientes lumínicos, fato que ocorreu apenas quando as plantas estavam sob DH moderado (medições em que as plantas recebiam irradiância artificial equivalente àquela a que as folhas estavam aclimatadas). As plantas sob 70% de sombreamento apresentaram valores inferiores de NPQ em comparação com os das plantas a pleno sol e sob 35% de sombreamento, que exibiram valores de NPQ semelhantes entre si.

Em resposta aos ambientes de luz, a razão F_v/F_m foi reduzida nas plantas a pleno sol (Tabelas 5 e 6) e também nas plantas sob 35% de sombreamento (medições feitas quando as plantas não irrigadas estavam sob DH severo; Tabela 6). Entretanto, tais reduções foram discretas, com valores

mínimos de razão F_v/F_m maiores ou iguais a 0,73, sugerindo uma fotoinibição dinâmica, uma vez que os valores de F_v/F_m da antemanhã foram próximo de 0,80 (dados não mostrados). A fotoinibição dinâmica pode ser uma forma de proteção da maquinaria fotossintética contra o excesso de irradiância a que as plantas estavam submetidas. Com efeito, observaram-se respostas esperadas na razão F_v'/F_m' , em Φ_{FSII} e em q_P , cujos valores aumentaram, na medida em que a disponibilidade de luz se reduziu. Todavia, é interessante salientar que, quando uma mesma intensidade de irradiância ($1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi aplicada para todas as plantas, n\u00e3o mais se observaram diferen\u00e7as significativas entre as plantas dos tr\u00eas ambientes em rela\u00e7\u00e3o aos par\u00e2metros de fluoresc\u00eancia supracitados, exceto para as raz\u00f5es F_v/F_m e F_v'/F_m' (Tabelas 5 e 6). Com isso, pode-se perceber que a capacidade das plantas sombreadas em usar o excesso de energia foi reduzida, pois perdem efici\u00eancia no transporte de energia e na utiliza\u00e7\u00e3o dessa energia na fotoqu\u00edmica.

Tabela 5: Efeito dos ambientes de luz e regimes hídricos sobre os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* de plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' submetidas a déficit hídrico moderado ($\Psi_{am} = -1,7$ MPa). As medições foram feitas por volta do meio-dia, quando as folhas interceptavam, em média, 1000, 600 e 300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente nos tratamentos a pleno sol e sob sombreamento de 35% e 70%. Os parâmetros de fluorescência foram obtidos sob irradiância artificial, aplicada por 300 s, em intensidade equivalente àquela interceptada naturalmente pela folha. Para propósito de comparação, os parâmetros de fluorescência foram também obtidos sob irradiância actínica de 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nas plantas de todos os tratamentos.

Parâmetros de fluorescência	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
	1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$		600 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$		300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	
F_v/F_m	0,73 (0,74b)	0,77	0,78 (0,79a)	0,80	0,80 (0,80a)	0,81
F_v'/F_m'	0,39 (0,42c)	0,43	0,46 (0,48b)	0,50	0,54 (0,54a)	0,55
Φ_{FSII}	0,07 (0,07c)	0,07	0,13 (0,13b)	0,13	0,23 (0,25a)	0,27
q_P	0,18 (0,17c)	0,15	0,28 (0,26b)	0,25	0,43 (0,46a)	0,48
NPQ	2,13 (2,23a)	2,34	2,22 (2,19a)	2,16	1,72 (1,78b)	1,84
	1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$					
F_v/F_m	0,73 (0,75b)	0,77	0,78 (0,80a)	0,80	0,81 (0,82a)	0,83*
F_v'/F_m'	0,39 (0,42b)	0,44	0,48 (0,50a)	0,53	0,53 (0,54a)	0,54
Φ_{FSII}	0,07 (0,07a)	0,07	0,08 (0,08a)	0,08	0,07 (0,08a)	0,08
q_P	0,18 (0,17a)	0,15	0,17 (0,16a)	0,15	0,13 (0,14a)	0,15
NPQ	2,12 (2,23a)	2,34	2,24 (2,31a)	2,38	2,00 (2,21a)	2,41

F_v/F_m : Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (FSII); F_v'/F_m' : Eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII; Φ_{FSII} : Eficiência quântica do transporte de elétrons pelo FSII; q_P : Coeficiente de extinção fotoquímico; NPQ: Coeficiente de extinção não-fotoquímico. Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição. Os asteriscos (*), quando apresentados, denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos hídricos, para um mesmo ambiente de luz e horário de medição ($n = 6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

Tabela 6: Efeito dos ambientes lumínicos e regimes hídricos sobre os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* de plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' submetidas a déficit hídrico severo ($\Psi_{am} = -3,4$ MPa). As medições foram feitas por volta do meio-dia, quando as folhas interceptavam, em média, 1000, 600 e 300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente nos tratamentos a pleno sol e sob sombreamento de 35% e 70%. Os parâmetros de fluorescência foram obtidos sob irradiância artificial, aplicada por 300 s, em intensidade equivalente àquela interceptada naturalmente pela folha. Para propósito de comparação, os parâmetros de fluorescência foram também obtidos sob irradiância actínica de 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nas plantas de todos os tratamentos.

Parâmetros de fluorescência	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
	1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$		600 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$		300 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	
F_v/F_m	0,76 (0,75b)	0,74	0,75 (0,75b)	0,76	0,80 (0,80a)	0,80
F_v'/F_m'	0,42 (0,44b)	0,47	0,42 (0,45b)	0,48	0,53 (0,53a)	0,54
Φ_{FSII}	0,07 (0,06c)	0,05	0,12 (0,12b)	0,11	0,20 (0,19a)	0,18
q_P	0,17* (0,15c)	0,13	0,29* (0,26b)	0,24	0,37* (0,35a)	0,33
NPQ	2,45* (2,06a)	1,66	2,09* (1,87a)	1,64	1,87* (1,78a)	1,70
	1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$					
F_v/F_m	0,76 (0,75b)	0,74	0,76 (0,77b)	0,78	0,81 (0,82a)	0,82
F_v'/F_m'	0,42 (0,44b)	0,47	0,44 (0,47ab)	0,49	0,52 (0,53a)	0,54
Φ_{FSII}	0,07 (0,06a)	0,05	0,07 (0,07a)	0,07	0,06 (0,06a)	0,07
q_P	0,17 (0,15a)	0,13	0,17 (0,16a)	0,15	0,11 (0,12a)	0,12
NPQ	2,45* (2,06a)	1,66	2,24* (2,02a)	1,81	2,37* (2,24a)	2,12

F_v/F_m : Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (FSII); F_v'/F_m' : Eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII; Φ_{FSII} : Eficiência quântica do transporte de elétrons pelo FSII; q_P : Coeficiente de extinção fotoquímico; NPQ: Coeficiente de extinção não-fotoquímico. Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição. Os asteriscos (*), quando apresentados, denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos hídricos, para um mesmo ambiente de luz e horário de medição ($n = 6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

As concentrações médias dos pigmentos fotossintéticos (Tabela 7) diferiram significativamente entre os ambientes lumínicos, mas não foram influenciadas pelos regimes hídricos, exceto as concentrações médias de clorofilas totais ($Cl(a+b)$) medidas ao meio-dia, conforme se deduz da interação significativa entre os tratamentos de luz e os regimes hídricos. Sob 35 e 70% de sombreamento, as plantas-controle apresentaram concentrações médias semelhantes de clorofilas totais, porém maiores que as das plantas a pleno sol. Por outro lado, nas plantas não-irrigadas, a maior concentração de clorofilas ocorreu sob 70% de sombreamento, não se observando diferenças de concentração de clorofilas totais entre as plantas sob sol e 35% de sombreamento. Desconsiderando-se a interação supramencionada, as plantas com sombreamento mais intenso, de modo geral, apresentaram maiores valores de clorofilas totais e de razão clorofila *a*/clorofila *b* ($Cl(a/b)$) em comparação com os outros ambientes de luz, no período da antemanhã. Os carotenóides totais e a relação $Cl/Carotenóides$ não diferiram significativamente na antemanhã. Ao meio-dia, somente os valores médios das razões $Cl(a+b)$ e Cl/Car diferiram significativamente em relação aos ambientes lumínicos (Tabela 7), com as plantas a pleno sol apresentando os menores valores e aquelas do ambiente mais sombreado os maiores.

Folhas desenvolvidas em ambientes sombreados, normalmente, apresentam um alto teor de clorofilas totais por unidade de massa, de forma a aumentar sua capacidade de absorção de luz (Cao 2000; Feng et al. 2004; Lee et al. 1990). As membranas tilacoidais das plantas aclimatadas às baixas irradiâncias possuem uma grande concentração de pigmentos-antena associados aos centros de reação dos fotossistemas e uma menor quantidade de componentes de transporte de elétrons (Anderson 1986). Nesse contexto, a menor concentração de Cl , nas plantas a pleno sol, pode ser considerada como um mecanismo de ajuste entre a absorção e a utilização fotoquímica da luz (e.g., Elvira et al. 1998; Ottander et al. 1995). Portanto, nestas plantas, uma menor concentração de clorofilas se mostraria vantajoso, uma vez que haveria menor absorção de fótons, contribuindo, assim, para a atenuação dos efeitos deletérios das altas irradiâncias (Martínez-Ferri et al. 2004). Conforme esperado, houve um decréscimo na razão Cl/Car nas folhas sob maiores níveis de luz, de modo a permitir-lhes um aumento na capacidade de dissipação da energia de excitação, principalmente via ciclo das xantofilas (Demmig-Adams e

Adams 1996; Ma et al. 2003). Com efeito, a elevação da concentração de carotenóides e/ou uma redução da concentração de clorofilas pode auxiliar as plantas a minimizarem a fotooxidação (Corcuera et al. 2005).

Tabela 7: Efeito dos ambientes lumínicos e regimes hídricos sobre a concentração de clorofilas (Cl) totais, razão Cl *a/b*, carotenóides (Car) totais e razão Cl/Car em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' submetidas a déficit hídrico severo ($\Psi_{am} = -3,4$ MPa). Os materiais foliares analisados foram coletados na antemanhã e ao meio-dia.

Pigmentos fotossintéticos	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
Antemanhã						
Cl (<i>a+b</i>) (g kg ⁻¹ MS)	5,18 (5,36c)	5,55	6,80 (6,76b)	6,72	7,23 (7,61a)	8,00
Cl (<i>a/b</i>) (g kg ⁻¹ MS)	2,39 (2,35b)	2,32	2,59 (2,66ab)	2,74	2,92 (2,78a)	2,64
Car _{Totais} (g kg ⁻¹ MS)	1,35 (1,38a)	1,42	1,62 (1,48a)	1,34	1,53 (1,58a)	1,64
Cl / Car (g kg ⁻¹ MS)	3,84 (4,01a)	4,19	4,37 (4,89a)	5,41	4,93 (4,92a)	4,92
Meio-dia						
Cl (<i>a+b</i>) (g kg ⁻¹ MS)	4,88 ^b (5,43c)	5,99 ^B	7,03 ^a (6,44b)	5,84 ^B	7,80 ^a (8,00a)	8,19 ^A
Cl (<i>a/b</i>) (g kg ⁻¹ MS)	2,46 (2,37a)	2,29	2,64 (2,60a)	2,57	2,59 (2,55a)	2,51
Car _{Totais} (g kg ⁻¹ MS)	1,45 (1,44a)	1,43	1,44 (1,38a)	1,33	1,46 (1,48a)	1,50
Cl / Car (g kg ⁻¹ MS)	3,43 (3,92b)	4,41	5,32 (4,94a)	4,57	5,50 (5,51a)	5,53

Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição. As letras minúsculas sobrescritas (Controle) e maiúsculas sobrescritas (DH), quando são apresentadas, denotam diferenças significativas entre os ambientes de luz, para um mesmo regime hídrico e horário de medição ($n = 6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

Esperar-se-ia uma redução na razão Cl *a/b*, uma das principais respostas observadas em plantas desenvolvidas à sombra (Walters 2005). Contudo, a exemplo de outros relatos em café (Chaves et al. 2008; Dias, 2006; Fahl et al. 1994; Matos et al. 2009; Moraes, 2008), a razão Cl *a/b*, praticamente, não foi afetada pelas variações da irradiância. Essa razão é um indicador da proporção de complexos coletores de luz associados ao FSII

(CCL-II) em relação a outros complexos contendo clorofilas (Murchie e Horton 1997). Sugere-se, então, que, independentemente da irradiância interceptada, as folhas não alteraram a proporção relativa de CCL-II.

As baixas concentrações de anteraxantina e de zeaxantina (Tabela 8) refletem a falta de necessidade de as plantas sob sombreamento de 70% investirem em alta capacidade de dissipação térmica, um fato facilmente explicável em função da baixa irradiância interceptada (Horton et al. 2008). Em contraste, as plantas a pleno sol e sob sombreamento de 35% apresentaram concentrações mais altas e semelhantes entre si de anteraxantina e de zeaxantina, indicando maior necessidade de fotoproteção. Apesar da apregoada relação entre NPQ e zeaxantina (Demmig-Adams et al. 1996), alguns estudos com mutantes deficientes em zeaxantina têm demonstrado que apenas uma fração relativamente pequena do estoque de zeaxantina é de fato necessária para o desenvolvimento da completa capacidade de extinção não-fotoquímica associada com a zeaxantina (Horton et al. 2008; Niyogi et al. 1998). Tomadas em conjunto, essas informações suportam a sugestão de que níveis elevados de zeaxantina podem estar relacionados com outros processos fotoprotetores além do NPQ (Baroli et al. 2003; Niinemets et al. 2003). Possivelmente, a zeaxantina, *per se*, pode atuar diretamente como um antioxidante no cloroplasto, especialmente protegendo componentes altamente insaturados das membranas dessa organela (Baroli et al. 2003; Havaux e Niyogi 1999). Isso auxiliaria na fotoproteção das folhas sob maior nível de irradiância, que permanecem, provavelmente, sob maior pressão de excitação (taxas fotossintéticas similares, porém sob maiores irradiâncias) que as folhas sob irradiância menor.

As folhas dos tratamentos sob maiores níveis de irradiância (pleno sol e sombreamento de 35%) apresentaram maior concentração de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina (V+A+Z), bem como maiores valores do estado de desepoxidação (DEPS), envolvendo os componentes do ciclo das xantofilas, indicando uma maior capacidade de dissipação de energia luminosa nas plantas destes tratamentos, em comparação com as folhas de plantas sob 70% de sombra.

Tabela 8: Efeito dos ambientes lumínicos e regimes hídricos sobre as concentrações foliares de xantofilas, soma de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina (V+A+Z) e estado de desepoxidação dos carotenóides do ciclo das xantofilas (DEPS) em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' submetidas a déficit hídrico severo ($\Psi_{am} = -3,4$ MPa). Os materiais foliares analisados foram coletados na antemanhã e ao meio-dia.

Pigmentos fotossintéticos	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
Antemanhã						
Neoxantina	230,6 (224,5b)	218,3 ^C	268,1 (269,6a)	271,2 ^B	262,2 (288,2a)	314,4 ^A
Violaxantina	276,3 ^{a*} (248,2a)	220,0 ^A	235,9 ^{b*} (208,3b)	180,6 ^B	205,4 ^{c*} (211,8b)	218,3 ^A
Anteraxantina	42,5 (60,8b)	79,0*	83,0 (91,0a)	99,1*	35,3 (39,6c)	43,9*
Luteína	450,5 (478,6c)	506,8*	693,7 (683,1a)	676,4*	594,8 (635,5b)	676,2*
Zeaxantina	107,9 (112,2a)	116,5	0,0 (0,0b)	0,0	0,0 (0,0b)	0,0
V+A+Z	426,7 (421,2a)	415,5	318,9 (299,3b)	279,7	240,7 (251,5c)	262,2
DEPS	0,30 (0,34a)	0,37*	0,13 (0,15b)	0,18*	0,07 (0,08c)	0,08*
Meio-dia						
Neoxantina	194,4 ^b (215,2b)	236,1 ^B	295,5 ^a (272,4a)	249,4 ^B	270,5 ^a (288,8a)	307,2 ^A
Violaxantina	51,3 (52,3b)	53,3	41,7 (39,8b)	37,8	133,9 (109,5a)	85,2
Anteraxantina	83,1 (88,3a)	93,5*	56,4 (77,8ab)	99,2*	55,0 (58,0b)	61,0*
Luteína	563,3 (535,5b)	507,6	654,7 (615,6ab)	576,5	678,7 (660,6a)	642,5
Zeaxantina	349,7 ^a (329,7a)	309,7 ^A	420,0 ^a (339,6a)	259,3 ^A	0,0 ^b (77,5b)	155,0 ^B
V+A+Z	484,1 ^a (470,3a)	456,6 ^A	518,2 ^a (457,2a)	396,3 ^A	188,9 ^b (245,0b)	301,1 ^B
DEPS	0,81 ^a (0,79a)	0,78 ^A	0,86 ^a (0,82a)	0,77 ^A	0,15 ^b (0,38b)	0,61 ^B

Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição. Os asteriscos (*), quando apresentados, denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos hídricos, para um mesmo ambiente de luz e horário de medição. As letras minúsculas sobrescritas (Controle) e maiúsculas sobrescritas (DH), quando são apresentadas, denotam diferenças significativas entre os ambientes de luz, para um mesmo regime hídrico e horário de medição ($n=6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

DaMatta e Ramalho (2006) propuseram que um sistema antioxidante mais eficiente pode representar papel decisivo na tolerância à seca e ao estresse oxidativo em café, resultando em uma menor produção de espécies reativas de oxigênio, de modo a limitar a ocorrência de danos celulares. Um mecanismo fotoprotetor, que consome as espécies reativas de oxigênio (ERO's) geradas por um excesso de energia de excitação, é o ciclo do ascorbato-glutationa. Neste trabalho, ascorbato e glutaciona apresentaram-se em maiores concentrações e com maior estado redox nas plantas a pleno sol (Tabela 9), provavelmente porque estas plantas estão submetidas a uma maior pressão de excitação. Logan et al. (1998) também observaram maiores valores de concentração de ascorbato em plantas aclimatadas a altas irradiâncias, para suportar a atividade da enzima desepoxidase da violaxantina. Segundo Dipierro et al. (2005) e Smirnoff et al. (2001), o ascorbato é considerado como componente-chave do sistema antioxidativo das plantas, estando relacionado aos estresses biótico e abiótico. Foyer et al. (1994) observaram que a síntese e o acúmulo de glutaciona podem aumentar em resposta a vários tipos de estresse. Para Arora et al. (2002), a glutaciona, por atuar na regeneração do ascorbato e, também, por neutralizar as ERO's, é de fundamental importância para as plantas. Alguns autores sugerem, ainda, que o aumento no estado redox desses compostos, ascorbato (ASA/DHA+ASA) (Kampfenkel et al. 1995) e glutaciona (GSH/GSSG+GSH) (Foyer e Noctor 2005), são bons indicadores para se analisar a capacidade de eliminação de ERO's.

Os danos celulares, avaliados via extravazamento de eletrólitos e produção de aldeído malônico (MDA) (Tabela 9), foram significativamente mais intensos nas plantas submetidas ao déficit hídrico, em comparação com seus respectivos controles irrigados, independentemente dos ambientes lumínicos. Em todo o caso, os dados de MDA, mas não os de extravazamento de eletrólitos, indicaram diferenças significativas entre as plantas dos ambientes de luz, sob irrigação adequada.

Tabela 9: Efeito dos ambientes lumínicos e regimes hídricos sobre as concentrações de ascorbato (Asc) total, glutathiona (Glu) total e seus respectivos estados redox, e sobre danos celulares, avaliados pelo acúmulo de aldeído malônico (MDA) e extravasamento de eletrólitos em plantas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' submetidas a déficit hídrico severo ($\Psi_{am} = -3,4$ MPa).

Parâmetros	Sol		Sombra 35%		Sombra 70%	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit	Controle	Déficit
Asc _{Total} (mol kg ⁻¹ MS)	20,27 (21,17a)	22,07	18,71 (18,41b)	18,12	15,29 (15,55c)	15,82
Estado Redox _(Asc)	0,49 (0,54a)	0,59	0,52 (0,51a)	0,51	0,33 (0,37b)	0,40
Glu _{Total} (mol kg ⁻¹ MS)	3,98 (4,76a)	5,55 ^{A*}	3,44 (3,37c)	3,29 ^{C*}	3,77 (4,03b)	4,28 ^{B*}
Estado Redox _(Glu)	0,82 ^{ab} (0,86a)	0,91 ^A	0,85 ^a (0,83b)	0,81 ^B	0,79 ^b (0,79c)	0,80 ^B
MDA (mmol kg ⁻¹ MS)	0,41 ^a (0,45a)	0,48 ^{B*}	0,34 ^{ab} (0,35b)	0,36 ^{C*}	0,30 ^b (0,47a)	0,59 ^{A*}
Eletrólitos (%)	2,90 (4,65a)	6,40*	2,32 (4,22a)	6,12*	1,63 (3,47a)	5,32*

Os números entre parênteses referem-se às médias dos ambientes. As letras minúsculas denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos lumínicos, para um mesmo horário de medição. Os asteriscos (*), quando apresentados, denotam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos hídricos, para um mesmo ambiente de luz e horário de medição. As letras minúsculas sobrescritas (Controle) e maiúsculas sobrescritas (DH), quando são apresentadas, denotam diferenças significativas entre os ambientes de luz, para um mesmo regime hídrico e horário de medição ($n=6$; $P \leq 0,05$, teste de Newman-Keuls).

As plantas a pleno sol e sob 70% de sombreamento exibiram concentrações de MDA similares, porém maiores que as daquelas sob sombreamento de 35%. Pôde-se verificar, também, que as variações na concentração de MDA responderam tanto aos ambientes lumínicos quanto aos regimes hídricos, observando-se, nas plantas mantidas irrigadas a pleno sol, maior conteúdo de MDA, especialmente quando comparadas com as plantas sob 70% de sombreamento. Resultados opostos foram observados nas plantas submetidas a déficit hídrico, na medida em que as plantas sob 70% de sombreamento apresentaram maiores concentrações de MDA que as plantas dos outros ambientes de luz. Este resultado vai, pelo menos parcialmente, contra a hipótese levantada neste trabalho, pois foram as plantas do ambiente mais sombreado que se apresentaram mais afetadas pelo déficit hídrico. Por outro lado, foram as plantas sob sombreamento de 35% que apresentaram

menor concentração de MDA, especialmente quando submetidas ao déficit hídrico. Esses dados poderiam sugerir que o sombreamento mais esparsos minimizaria os efeitos deletérios do déficit hídrico associados com danos oxidativos. Entretanto, as diferenças absolutas entre as concentrações de MDA, em resposta aos tratamentos aplicados, não foram expressivas, principalmente ao compararem-se as plantas a pleno sol e sob 35% de sombreamento. Ademais, como não houve diferenças na magnitude de extravazamento de eletrólitos em resposta aos tratamentos hídricos, bem como não se observou qualquer interação entre níveis de luz e de água sobre o padrão de extravazamento, é mais provável que o sombreamento tenha afetado pouco ou nada a capacidade de fotoproteção do cafeeiro. Portanto, a tendência de maior VAZ e DEPS, associada com maiores concentrações de ascorbato e glutatona (e com maiores estados redox desses compostos), e possivelmente com um sistema enzimático antioxidante mais robusto nas folhas de plantas a pleno sol que nas sombreadas (Matos et al., 2009), podem garantir uma fotoproteção adequada ao cafeeiro. Essas sugestões reforçam que o café tem suficiente plasticidade fenotípica para ajustar-se a ambientes lumínicos distintos (Araújo et al., 2008; Chaves et al., 2008; Matos et al., 2009), mesmo sob condições de deficiência hídrica.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Contrariamente à hipótese de trabalho, os resultados sugerem que o sombreamento pouco ou nada contribui para melhorar o desempenho da maquinaria fotossintética do cafeeiro sob déficit hídrico. No entanto, o uso do sombreamento não deve ser descartado, pois é uma possibilidade de intervenção na forma de cultivo tradicional do cafeeiro no Brasil, visando à preservação das condições ambientais e, desse modo, permitindo maior sustentabilidade da cafeicultura sem comprometer grandemente a produção. Como já proposto em outros trabalhos, o sombreamento intenso pode limitar as taxas assimilatórias líquidas de carbono, ocorrendo assim, menor acúmulo de biomassa e, além disso, menor produção, em função de uma substancial diminuição na diferenciação de gemas reprodutivas e na formação de nós. Apesar da necessidade de maiores estudos, incluindo ensaios de produção a campo, acredita-se que o nível de sombreamento de 35% possa ser utilizado no cultivo agroflorestal do cafeeiro. Nessa condição, as plantas podem apresentar comportamento semelhante ou superior ao das plantas a pleno sol. A partir dos resultados de trocas gasosas e relações hídricas, sugere-se que um sombreamento esparsa possa permitir maior abertura estomática sem aumentos correspondentes na transpiração, fato ainda acoplado a maiores influxos de CO₂ para o processo fotossintético.; Deve-se enfatizar que os mecanismos fotoprotetores nas plantas a pleno sol foram efetivos para minimizar a ocorrência de danos oxidativos, a julgar-se pelos resultados de extravazamento de eletrólitos e acúmulo de aldeído malônico. Por fim, acredita-se que o cultivo do cafeeiro sob sombreamento esparsa seja uma alternativa promissora num cenário de mudanças climáticas globais, uma vez que as condições ambientes estariam sendo melhoradas sem afetar o desempenho agrônomo da cultura do café.

5. REFERÊNCIAS

- Almeida, A.A.F.; Maestri, M. (1997) Photosynthetic oxygen evolution by four *Coffea arabica* genotypes subjected to a dehydration/rehydration cycle. **Journal of Horticultural Science** 72: 593-599.
- Anderson, J.M. (1986) Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 37: 93-136.
- Antunes, W.C.; Pompelli, M.F.; Carretero, D.M.; DaMatta, F.M. (2008) Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*). **Annals of Applied Biology** 153: 33-40.
- Arakawa, N.; Tsutsumi, K.; Sanceda, N.G.; Kurata, T.; Inagaki, C. (1981) A rapid and sensitive method for the determination of ascorbic acid using 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline. **Agricultural and Biological Chemistry** 45: 1289-1290.
- Araújo, W.L.; Dias, P.C.; Moraes, G.A.B.K.; Celin, E.F.; Cunha, R.L.; Barros, R.S.; DaMatta, F.M. (2008) Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. **Plant Physiology and Biochemistry** 46: 884-890.
- Arora, A.; Sairam; R.K.; Srivastava, G.C. (2002) Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current Science** 82: 1227-1238.
- Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 50: 601-639.
- Assad, E.D.; Pinto, H.S.; Junior, J.Z.; Ávila, A.M.H. (2004) Impactos das mudanças climáticas no zoneamento agroclimático do café no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 39: 1057-1064.
- Baroli, I.; Do, A.D.; Yamane, T.; Niyogi, K.K. (2003) Zeaxanthin accumulation in the absence of a functional xanthophyll cycle protects *Chlamydomonas reinhardtii* from photooxidative stress. **The Plant Cell** 15: 992-1008.
- Beer, J.; Muschler, R.; Kass, D.; Somarriba, E. (1998) Shade management in coffee and cacao plantation. **Agroforestry Systems** 38: 139-164.
- Blankenship, R.E. (2006) Photosynthesis: The light reactions. *In: Plant Physiology*. (L. Taiz, E. Zeiger, ed.) p. 125-158. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Bray, E.A.; Bailey-Serres, J.; Weretilnyk, E. (2000) Responses to abiotic stresses. *In: Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (Buchanan, B.B;

Gruissen, W.; Jones, R.L., eds.) p. 1158-1203. American Society of Plant Physiologists, Rockville.

Cao, K.F. (2000) Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in Bornean heath forest. **Canadian Journal of Botany** 78: 1245-1253.

Cannell, M.G.R. (1985) Physiology of coffee crop. *In: Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Bean and Beverage*. (M.N. Clifford, K.C. Wilson, ed.) p.108-134. Croom Helm, London.

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

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

DaMatta, F.M. (2003) Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. *In: Advances in Plant Physiology*. (E Hemantaranjan, ed.) p. 227-265. Scientific Publishers, Jodhpur.

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

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

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

DaMatta, F.M.; Ramalho, J.D.C. (2006) Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 18: 55-81.

DaMatta, F.M.; Rena, A.B. (2001) Tolerância do café à seca. *In: Tecnologias de Produção de Café com Qualidade*. (L. Zambolim, ed.) p. 65-100. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

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

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

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

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

Dias, P.C. (2006) **Variação espacial da fotossíntese e de mecanismos de fotoproteção no cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 34f Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Dias, P.C.; Araujo, W.L.; Moraes, G.A.B.K.; Barros, R.S.; DaMatta, F.M. (2007) Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **Journal of Plant Physiology** 164: 1639-1647.

Dipierro, N.; Mondelli, D.; Paciolla, C.; Brunetti, G.; Dipierro, S. (2005) Changes in the ascorbate system in the response of pumpkin (*Curcubita pepo* L.) roots to aluminium stress. **Journal of Plant Physiology** 162: 529-536.

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

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

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

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

Foyer, C.H.; Lelandais, M.; Kunert, K.J. (1994) Photooxidative stress in plants. **Physiologia Plantarum** 92: 696-717.

Foyer, C.H.; Noctor, G. (2005) Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant, Cell and Environment** 28: 1056-1071.

Genty, B.; Briantais, J.M.; Baker, N.R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta** 990: 87-92.

Griffith, O.W. (1985) Glutathione and glutathione disulfide. *In: Methods of Enzymatic Analysis* (H.U. Bergmeyer ed.) pp. 521-529. Verlag Chemie, Weinheim Bergstrasse.

Havaux, M.; Niyogi, K.K. (1999) The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA** 96:8762-8767.

Hodges, D.M.; DeLong, J.M.; Forney, C.F.; Prange, R.K. (1999) Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta** 207: 604-611.

Holt, N.E.; Zigmantas, D.; Valkunas, L.; Li, X-P.; Niyogi, K.K.; Fleming, G.R. (2005) Carotenoid cation formation and the regulation of photosynthetic light harvesting. **Science** 307: 433-436.

Horton, P.; Johnson, M.P.; Perez-Bueno, M.L.; Kiss, A. Z.; Ruban, A.V. (2008) Photosynthetic acclimation: Does the dynamic structure and macro-organisation of photosystem II in higher plant grana membranes regulate light harvesting states? **FEBS Journal** 275: 1069-1079.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. (2007a) Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Working Group I. TAR: Summary for Policy makers. <http://www.ipcc.ch/pdf/reports-nonUN-translations/portuguese/ar4-wg2-spm.pdf>. Acessado em: out/2008.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. (2007b) Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Working Group II. TAR: Summary for Policy makers. <http://www.ipcc.ch/pdf/reports-nonUN-translations/portuguese/ar4-wg1-spm.pdf>. Acessado em: out/2008.

Kampfenkel, K.; Montagu, M.V.; Inzé, D. (1995) Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. **Analytical Biochemistry** 255: 165-167.

Krause, G.H.; Weis, A. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 42:313-349.

Lambers, H.; Chapin, F.S.; Pons, T.L. (1998) **Plant physiological ecology**. 539p. Springer-Verlag, New York.

Lee, D.W.; Bone, R.A.; Tarsis, S.L.; Storch, D. (1990) Correlates of leaf optical properties in tropical forest sun and extreme-shade plants. **American Journal of Botany** 77: 370-380.

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

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

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

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

Malavolta, E. (2000) **História do café no Brasil**. 464p. Agronômica Ceres, São Paulo.

Martínez-Ferri, E.; Manrique, E.; Valladares, F.; Balaguer, L. (2004) Winter photoinhibition in the field involves different process in four co-occurring Mediterranean tree species. **Tree Physiology** 24: 981-990.

Mascher, R.; Limpman, B.; Holzinger, S.; Bergmann, H. (2002) Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants. **Plant Science** 163: 961-969.

Matos, F.S.; Wolfgramm, R.; Gonçalves, F.V.; Cavatte, P.C.; Ventrella, M.C.; DaMatta, F.M. (2009) Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. **Environmental and Experimental Botany** 67: 421-427.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science** 7: 405-410.

Moraes, G.A.B.K. (2008) **Crescimento, fotossíntese e mecanismos de fotoproteção em mudas de café (*Coffea arabica* L.) formadas a pleno sol e à sombra**. 29f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Morais, H.; Medri, M.E.; Marur, C.J.; Caramori, P.H.; Ribeiro, A.M.D.; Gomes, J.C. (2004) Modifications on leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of

pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 47: 863-871.

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

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

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

Ögren, E. (1991) Prediction of photoinhibition of photosynthesis from measurements of fluorescence quenching components. **Planta** 184: 538-544.

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

Pinheiro, H.A.; DaMatta, F.M.; Chaves, A.R.M.; Fontes, E.P.B.; Loureiro, M.E. (2004) Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. **Plant Science** 167: 1307-1314.

Pinheiro, H.A.; DaMatta, F.M.; Chaves, A.R.M.; Loureiro, M.E.; Ducatti, C. (2005) Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany** 96: 101-108.

Pompelli, M.F. (2008) **Respostas anatômicas e fisiológicas de plantas de café cultivadas em diferentes níveis de nitrogênio e irradiância**. 71f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Praxedes, S.C.; DaMatta, F.M.; Loureiro, M.E.; Ferrão, M.A.G.; Cordeiro, A. (2006) Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. **Environmental and Experimental Botany** 56: 263-273.

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

Rena, A.B.; Maestri, M.; Barros, R.S.; Söndahl, M.R. (1994) Coffee. *In: Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops: subtropical and*

tropical crops. (B. Schaffer, P.C. Andersen, eds.) pp.101-122. CRC Press, Boca Raton.

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

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

Smirnoff, N., Conklin, P.L., Loewus, F.A. (2001) Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 52: 437-467.

Smith, I.K. (1985) Stimulation of glutathione synthesis in photorespiring plants by catalase inhibitors. **Plant Physiology** 79: 1044-1047.

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

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

ANEXO

ANEXO A: Valores de probabilidade pelo teste F ($P \leq 0,05$) das médias dos parâmetros avaliados em mudas de *Coffea arabica* L. cv. 'Catuaí Vermelho' para os tratamentos de água, de luz e sua interação ($n=6$).

Parâmetros	Regime hídrico	Horário	Trat. Luz	Trat. Água	Trat. Luz X Trat. Água
A	DH moderado	08h00	0,0045	0,0000	0,4826
	DH severo		0,3304	0,0000	0,1384
	DH moderado	12h00	0,0317	0,0000	0,0665
	DH severo		0,1224	0,0000	0,5727
g_s	DH moderado	08h00	0,2645	0,0019	0,3547
	DH severo		0,3201	0,0000	0,3459
	DH moderado	12h00	0,0112	0,0000	0,0125
	DH severo		0,0962	0,0001	0,1545
C_i/C_a	DH moderado	08h00	0,8499	0,1148	0,8123
	DH severo		0,0248	0,0003	0,0868
	DH moderado	12h00	0,7914	0,0313	0,4967
	DH severo		0,1846	0,4356	0,0094
T_{Foliar}	DH moderado	08h00	0,0016	0,7333	0,7094
	DH severo		0,0017	0,2135	0,9997
	DH moderado	12h00	0,2971	0,4399	0,9036
	DH severo		0,0015	0,9975	0,9557
E_{Planta}	DH moderado	12h00	0,0003	0,0000	0,9319
	DH severo		0,0002	0,0000	0,7571
K_L	DH moderado	12h00	0,1310	0,0019	0,3140
	DH severo		0,0489	0,0000	0,2249
AF_{Total}			0,0338	0,0750	0,6219
AFE			0,0005	0,7848	0,9128
F_v/F_m	(1000; 600; 300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	DH moderado	0,0034	0,0519	0,5595
F_v'/F_m'			0,0000	0,0816	0,7789
Φ_{FSII}			0,0000	0,2358	0,2720
q_P			0,0000	0,7160	0,2410
NPQ			0,0204	0,5480	0,7462
F_v/F_m	(1000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	DH moderado	0,0005	0,0514	0,7260
F_v'/F_m'			0,0001	0,1196	0,6443
Φ_{FSII}			0,4333	0,7864	0,6390
q_P			0,4202	0,6452	0,4094
NPQ			0,8316	0,0900	0,7295
F_v/F_m	(1000; 600; 300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	DH severo	0,0013	0,6563	0,4784
F_v'/F_m'			0,0113	0,1844	0,6570
Φ_{FSII}			0,0000	0,1012	0,7441
q_P			0,0000	0,0385	0,9922
NPQ			0,4248	0,0108	0,3208
F_v/F_m	(1000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	DH severo	0,0004	0,9053	0,5218
F_v'/F_m'			0,0484	0,1381	0,9005
Φ_{FSII}			0,1367	0,4185	0,1402
q_P			0,0532	0,2007	0,3273
NPQ			0,5523	0,0126	0,4795
CI (a/b)	DH severo	06h00	0,0368	0,6202	0,3773
		12h00	0,0536	0,1849	0,8594
CI (a+b)		06h00	0,0000	0,1790	0,3905
		12h00	0,0000	0,8495	0,0011
CI/Car		06h00	0,1305	0,2391	0,5283
		12h00	0,0118	0,9345	0,2363
Car_{Totais}		06h00	0,4244	0,7463	0,3411
		12h00	0,7961	0,7693	0,8689

ANEXO A: Continuação.

Neoxantina	DH severo	06h00	0,0000	0,1095	0,0272
		12h00	0,0002	0,4825	0,0117
Violaxantina		06h00	0,0010	0,0007	0,0019
		12h00	0,0000	0,0617	0,0638
Anteróxantina		06h00	0,0000	0,0002	0,0525
		12h00	0,0180	0,0195	0,1426
Luteína		06h00	0,0000	0,0451	0,0887
		12h00	0,0204	0,1031	0,8721
Zeaxantina		06h00	0,0000	0,6741	0,8065
		12h00	0,0000	0,5662	0,0000
V+A+Z		06h00	0,0000	0,3628	0,0638
		12h00	0,0000	0,6471	0,0019
DEPS		06h00	0,0000	0,0012	0,1491
		12h00	0,0000	0,0000	0,0000
Asc _{Total}	DH severo	12h00	0,0000	0,4818	0,4233
Redox _{Asc}		12h00	0,0001	0,1051	0,2842
Glu _{Total}	DH severo	12h00	0,0001	0,0112	0,0134
Redox _{Glu}		12h00	0,0001	0,0897	0,0002
MDA	DH severo	12h00	0,0005	0,0000	0,0000
Eletrólitos		12h00	0,3167	0,0000	0,9814

DH: Déficit hídrico; A: Assimilação líquida do carbono; g_s : Condutância estomática; C_i/C_a : Razão entre a concentração estimada de carbono no interior da câmara sub-estomática e a concentração atmosférica; T_{foliar} : Temperatura foliar; E_{planta} : Transpiração total da planta; K_L : Condutividade hidráulica; AF_{Total} : Área foliar total; AFE: Área foliar específica; F_v/F_m : Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (FSII); F_v'/F_m' : Eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII; Φ_{FSII} : Eficiência quântica do transporte de elétrons pelo FSII; q_P : Coeficiente de extinção fotoquímico; NPQ: Coeficiente de extinção não-fotoquímico; $Cl(a/b)$: Razão clorofila *a*/clorofila *b*; $Cl(a+b)$: Clorofilas totais; Cl/Car : Razão clorofilas/carotenóides; Car_{Totais} : Carotenóides totais; V+A+Z: Soma das concentrações de violaxantina, anteraxantina e zeaxantina; DEPS: Estado de desepoxidação dos carotenóides do ciclo das xantofilas; Asc_{Total} : Ascorbato total; $Redox_{ASA}$: Estado redox do ascorbato; Glu_{Total} : Glutathione total; $Redox_{Glu}$: Estado redox da glutathione; MDA: Aldeído malônico.