

34º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras

ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM GENÓTIPOS DE CAFEIEIRO (*Coffea* sp.) SUBMETIDOS A BAIXAS TEMPERATURAS POSITIVAS

FL Partelli Dr. em Produção Vegetal, Prof. da Universidade Federal de Goiás E-mail: partelli@yahoo.com.br, AP Rodrigues Pesq. do Instituto Superior de Agronomia – Portugal, HD Vieira Dr. em Produção Vegetal, Prof. da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, MM Chaves Pesq. do Instituto Superior de Agronomia – Portugal, JC Ramalho Dr. em Fisiologia e Bioquímica, Pesp. do Centro Eco-Bio/IICT – Portugal.

O gênero *Coffea* é representado por pelo menos 103 espécies, destacando-se comercialmente *C. arabica* e *C. canephora* (Davis et al., 2006 Botanical Journal of the Linnean Society). O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (*Coffea* sp.), que gera divisas, postos de trabalho e promove o desenvolvimento onde é produzido e/ou se processado. Na safra de 2006/2007 a produção brasileira de *C. arabica* foi de 33 milhões de sacas e de *C. canephora* foi de 9,5 milhões, numa área de 2,15 milhões de hectares com 5,67 bilhões de cafeeiros (Conab, 2008).

Temperaturas baixas positivas afetam diversos componentes do processo fotossintético do cafeeiro, pois reduzem a condutância estomática, fotossíntese líquida, eficiência fotoquímica, composição lipídica e a atividade de algumas enzimas (Campos et al., 2003 Journal of Plant Physiology; Ramalho et al., 2003 Plant Biology).

O cafeeiro quando cultivado em latitudes superiores a 15º Sul, apresenta um decréscimo acentuado na taxa de crescimento nos meses com baixas temperaturas (Amaral et al., 2006 Pesquisa Agropecuária Brasileira; Silva et al., 2004 Field Crops Research), podendo ocasionar queda da produtividade. Além disso, as baixas temperaturas podem danificar o sistema radicular (Queiroz et al., 2000, Thermochemica Acta), vindo a surgir lesões e até mesmo a morte dos tecidos ou de toda a folha (Rena, 2000 Livro).

Recentemente, tem aumentado o cultivo de café Conilon em áreas de maior altitude, por isso mais propensas à ocorrência de temperaturas baixas positivas. Agricultores e pesquisadores acreditam que o cultivo do Conilon, pode ser mais uma opção nestas condições, uma vez que a espécie apresenta maior tolerância a certas condições de estresse biótico e abiótico, apesar de ser mais susceptível a baixas temperaturas em comparação ao café Arábica (DaMatta et al., 1997 Plant Science; Ramalho et al., 2003 Plant Biology).

A compreensão dos mecanismos, fisiológicos e bioquímicos de resposta às baixas temperaturas, bem como da posterior recuperação, do gênero *Coffea*, especificamente de genótipos das duas principais espécies (*C. arabica* e *C. canephora*), pode auxiliar no manejo e no processo de seleção de variedades tolerantes a estas condições ambientais limitantes. Nessa perspectiva, o objetivo desse trabalho foi caracterizar o impacto de baixas temperaturas positivas em quatro enzimas relacionadas

com o metabolismo fotossintético e respiratório, em dois importantes genótipos de *C. canephora* e um genótipo de *C. arabica*.

Foram utilizados genótipos de plantas de *Coffea canephora* cv. Conilon, clone 02 e clone 153 e *C. arabica* cv. Catucaí IPR-102, desenvolvidas em vasos contendo 3 L de substrato, em casa de vegetação. Os experimentos decorreram no Centro EcoBio/IICT, Oeiras, Portugal, tendo o apoio da UENF, CAPES, ITQB e FCT através do projeto PTDC/AGR-AAM/64078/2006, co-financiado pelo fundo europeu FEDER.

Plantas com cerca de 1 ano foram colocadas em câmaras de crescimento onde permaneceram em condições de controle a 25/20°C (dia/noite), irradiância 700-900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 380 $\mu\text{L CO}_2 \text{ L}^{-1}$, 70% de umidade relativa e fotoperíodo de 12h durante cerca de 10 dias. As plantas foram depois submetidas sucessivamente a um decréscimo gradual da temperatura (0,5°C diários), desde 25/20°C até 13/8°C, um ciclo de 3 dias a 13/4°C e 14 dias de recuperação.

As coletas de material vegetal foram realizadas em folhas recém maduras em 6 ocasiões distintas: 25/20°C (controle), 18/13°C (meio do período de aclimação a baixas temperaturas), 13/8°C (final do período de aclimação), 3 x 13/4°C (após os três ciclos com 4°C noturnos) e durante o período de recuperação a 25/20°C (em duas ocasiões, 7 e 14 dias após os ciclos de temperaturas mínimas). A coleta de amostras foliares foi efetuada após 2-2:30 min de iluminação. Para determinação da atividade enzimática utilizaram-se 4 discos de 0,5 cm², em cada uma das 4 repetições. A atividade total da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco) e atividade da Ru5P Kinase foram determinadas conforme Maroco et al. (2002 Functional Plant Biology). Já a atividade da enzima piruvato cinase (PK) e atividade da malato desidrogenase (MDH), conforme López-Millám et al. (2000 Plant Physiology).

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

Resultados e conclusões:

Com a imposição de baixas temperaturas (18/13°C e 13/8°C) a atividade da Rubisco apresentou queda significativa no Catucaí e no clone 153 (significativamente apenas em 18/13°C), como observado em *C. canephora* Apoatã e *C. dewevrei* (Ramalho et al., 1999 Journal of Plant Physiology). Também o clone 02 foi afetado, mas apenas a 3x13/4°C (Tabela 1). Na fase de decréscimo de temperatura, a queda de atividade das enzimas, envolvidas no processo de carboxilação pode estar relacionada com diversos fatores, nomeadamente, a ação de moléculas altamente reativas, falta de substrato ou com a acumulação de frutose e glicose, devido à sua menor utilização e/ou translocação (Maroco et al., 2002 Functional Plant Biology). Segundo Salvucci e Crafts-Brandner (2004 Plant Physiology), a atividade da Rubisco e a taxa fotossintética

são inferiores em plantas submetidas a baixas temperaturas em razão à menor disponibilidade de substrato e energia específica, uma vez que também verificaram redução de ATPases.

Quedas pontuais da Ru5PK também foram quantificadas neste trabalho (Tabela 1). A baixa disponibilidade de Ru5P pode afetar a atividade de algumas enzimas do ciclo de Calvin, em particular da Ru5PK, pois ocorre decréscimos de RuBP, ATP e atividade da Rubisco (Flexas e Medrano, 2002 *Annals of Botany*).

O aumento da necessidade de ATP para processos celulares induz o aumento da taxa respiratória (Day e Lambers, 1983 *Physiologia Plantarum*), fato que pode ter ocorrido nos 3 genótipos estudados, uma vez que as atividades das enzimas MDH e PK aumentaram após a temperatura de 18/13°C (Tabela 1), excetuando o clone 153 para a PK. Assim, tendo em conta que estas enzimas, envolvidas na glicólise do processo respiratório, mostraram aumentos significativos particularmente em Catucaí (MDH) e no clone 02 (PK), que se mantiveram para além do período de exposição das plantas a baixas temperaturas. Esse fato poderia ter impacto positivo na obtenção de energia para processos metabólicos celulares, contudo, ao contrário do registrado para Catucaí, tal impacto positivo não teve correspondência numa maior tolerância do clone 02, conforme se pode observar pelo impacto ao nível de fotossíntese líquida, e ainda, na forte perda de pigmentos fotossintéticos (dados descritos em Partelli, 2008 - Tese).

A maior recuperação do Catucaí IPR 102, em comparação ao Conilon clone 02, pode estar associada, além de outros fatores, à maior taxa de atividade da Ru5PK nos períodos de recuperação e maior taxa da atividade da MDH no ciclo de baixas temperaturas e no início da recuperação.

Tabela 1. Atividade enzimática ($\mu\text{mol s}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa seca) em folhas coletadas depois de 2 horas de iluminação, em diferentes genótipos de *Coffea* sp. submetidos a decréscimo gradual de temperatura (25/20°C até 13/8°C), durante 24 dias, 3 ciclos de temperatura de 13/4°C (3x13/4°C) e posterior períodos de recuperação (Rec) a 25/20°C (ao fim de 7 e 14 dias).

Genótipo		Temperaturas e dias de recuperação					
		25/20°C	18/13°C	13/8°C	3x13/4°C	7 Rec	14 Rec
Rubisco	Catucaí	0,186Aab	0,121Ac	0,135ABbc	0,107ABc	0,238Aa	0,191Aab
CV: 19,25	Clone 02	0,147Aa	0,124Aab	0,156Aa	0,078Bb	0,151Ba	0,154ABa
	Clone 153	0,155Aab	0,095Ac	0,102Bbc	0,138Aabc	0,159Ba	0,109Babc
Ru5PK	Catucaí	0,816Ab	0,877Ab	0,604Ac	0,510Bc	0,824Ab	1,096Aa
CV: 14,53	Clone 02	0,790Aab	0,601Bbc	0,775Aab	0,726Aab	0,450Bc	0,862Ba
	Clone 153	0,844Aa	0,694Bab	0,402Bc	0,492Bbc	0,455Bc	0,715Ba
MDH	Catucaí	1,002Ab	0,757Ab	1,925Aa	1,955Aa	2,291Aa	1,868Aa
CV: 19,79	Clone 02	0,906Abc	0,449Ac	0,979Bbc	1,353Bb	1,036Bb	1,929Aa
	Clone 153	0,853Acd	0,639Ad	1,026Bbcd	1,252Bbc	2,099Aa	1,400Bb
PK	Catucaí	0,269Abcd	0,251Acd	0,360Abc	0,394Bb	0,540Aa	0,199Ad
CV: 23,76	Clone 02	0,158Bc	0,166Ac	0,211Bbc	0,509Aa	0,336Bb	0,238Abc
	Clone 153	0,216ABa	0,178Aa	0,236Ba	0,176Ca	0,284Ba	0,202Aa

Médias seguidas por mesma letra maiúscula, na coluna, e por mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Cada valor médio é proveniente de 4 repetições.