

GUSTAVO ADOLFO BEVITORI KLING DE MORAES

**CRESCIMENTO, FOTOSSÍNTESE E MECANISMOS DE FOTOPROTEÇÃO EM  
MUDAS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) FORMADAS A PLENO SOL E À SOMBRA**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

GUSTAVO ADOLFO BEVITORI KLING DE MORAES

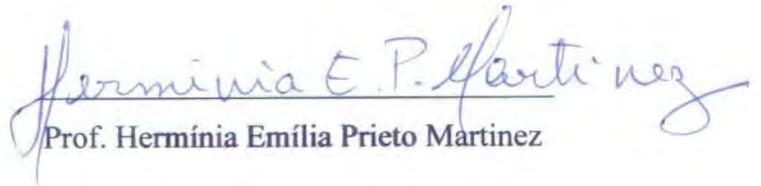
**CRESCIMENTO, FOTOSSÍNTESE E MECANISMOS DE FOTOPROTEÇÃO EM  
MUDAS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) FORMADAS A PLENO SOL E À SOMBRA**

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

APROVADA: 10 de outubro de 2008



Prof. Raimundo Santos Barros  
(Co-Orientador)



Prof. Hermínia Emília Prieto Martinez



Prof. Cláudio Pagotto Ronchi



Prof. Ney Sussumu Sakiyama



Fábio Murilo Da Matta  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

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

Ao Professor Raimundo Santos Barros, pela amizade e ensinamentos transmitidos durante este curso.

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

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

## **BIOGRAFIA**

GUSTAVO ADOLFO BEVITORI KLING DE MORAES nasceu em Viçosa, MG, aos cinco dias do mês de junho de 1981. Em abril de 2001, iniciou o Curso de Agronomia, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, concluindo-o em outubro de 2006. No mesmo mês, iniciou seus estudos no curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal, na UFV.

## ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
1. Introdução.....	1
2. Material e Métodos.....	3
3. Resultados .....	7
4. Discussão.....	20
5. Conclusão.....	23
6. Referências Bibliográficas.....	24

## RESUMO

MORAES, Gustavo Adolfo Bevitori Kling, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro, 2008. **Crescimento, fotossíntese e mecanismos de fotoproteção em mudas de café (*Coffea arabica* L.) produzidas a pleno sol e à sombra.** Orientador: Fábio Murilo Da Matta. Co-orientadores: Marcelo Ehlers Loureiro e Raimundo Santos Barros

Apesar de a produção de mudas de café arábica ser feita tradicionalmente em viveiros sob sombra, alguns viveristas, com o propósito de melhorar a sua aclimação às condições do campo, após o transplante, vêm produzindo mudas a pleno sol. Todavia, a maioria dos resultados obtidos com o cultivo de mudas de café a pleno sol ou à sombra se resume a avaliações morfológicas simples, sem dar-se ênfase em parâmetros fisiológicos que poderiam explicar os mecanismos de aclimação de mudas de café à disponibilidade de luz. Neste estudo, examinaram-se parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, em folhas de mudas de café arábica (*Coffea arabica* L.) produzidas a pleno sol e à sombra. As plantas a pleno sol (T1) acumularam biomassa seca e exibiram taxa de crescimento relativo (TCR) similar em relação a plantas à sombra (T2), ainda que tenha ocorrido menor alocação de biomassa para a parte aérea e menor razão de massa foliar nas primeiras. Como um todo, esse comportamento deve estar associado à maior taxa assimilatória líquida (TAL) das plantas de T1. As taxas máximas de fotossíntese líquida foram maiores nas plantas a pleno sol, entretanto o padrão do curso diário das trocas gasosas entre as plantas de T1 e T2 foi semelhante, com variações diurnas das taxas fotossintéticas acompanhando a variação na condutância estomática ( $g_s$ ). Mesmo estando as plantas de T1 sob maior irradiância que as plantas de T2, não houve alterações na concentração de clorofilas totais ( $Cl(a+b)$ ) nem na razão  $Cl a/b$ . Não foi verificado, também, qualquer indício de fotoinibição crônica nem danos fotooxidativos nas plantas de T1, que apresentaram concentração de aldeído malônico semelhante à das plantas de T2. A maior energia de excitação a que as plantas de T1 estavam sujeitas foi dissipada efetiva e adequadamente, possivelmente em função do maior coeficiente de extinção não-fotoquímico fato provavelmente associado

ao maior estado de desepoxidação dos carotenóides envolvidos no ciclo das xantofilas (DEPS), as maiores concentrações de zeaxantina, e maior razão violaxantina + anteraxantina + zeaxantina e carotenóides totais, e à maior atividade das enzimas do sistema antioxidante, particularmente a peroxidase do ascorbato, redutase da glutatona e catalase. Decréscimos em  $A$ , observados após a transferência das mudas, da sombra para pleno sol (T3) foram, possivelmente, associados às reduções em  $g_s$  bem como à ocorrência de uma fotoinibição crônica. Após transferência para condições de pleno sol, verificaram-se reduções em  $Cl$  ( $a+b$ ), além de menor atividade das enzimas do sistema antioxidativo, associadas a um acúmulo de aldeído malônico. As mudas de T3 exibiram retenção noturna pronunciada de zeaxantina e aumentos consideráveis em DEPS, mesmo na antemanhã, porém com menor capacidade para defender-se adequadamente contra a maior pressão de excitação do novo ambiente lumínico. Demonstra-se, aqui, que a formação de mudas de café a pleno sol é uma opção que deve ser sempre considerada pelo cafeicultor ou pelo viverista, em função do desempenho superior dessas mudas, em relação às formadas à sombra.

## ABSTRACT

MORAES, Gustavo Adolfo Bevitori Kling, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2008. **Growth, photosynthesis and mechanisms of photoprotection in coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings grown under full sunlight and shade.** Adviser: Fábio Murilo Da Matta. Co-advisers: Marcelo Ehlers Loureiro and Raimundo Santos Barros

Coffee seedlings have been traditionally grown in shaded nurseries. However, some coffee growers, with the aim of improving acclimation after moving the seedlings from the nursery to the field, are growing the seedlings under full sun. Nonetheless, most information associated with cultivation of coffee seedlings under varying light is restricted to simple morphological evaluations, with no emphasis on physiological traits linked to the mechanisms of acclimation of coffee seedlings to light availability. In this study morphological, physiological and biochemical traits were examined in leaves from coffee seedlings grown in the open and under shade. Dry biomass accumulation and relative growth rate (RGR) were unresponsive to growth conditions. Shoot biomass allocation and leaf mass ratio were smaller in full sun-grown seedlings (T1) than in their shade-grown counterparts (T2). As a whole, this behavior should be associated with the larger net assimilation rate (NAR) of T1 seedlings. The maximum net CO<sub>2</sub> assimilation rate (*A*) was larger in T1 plants, although the diurnal time-course of leaf gas exchanges was similar when comparing T1 and T2 seedlings. Changes in day closely accompanied those of stomatal conductance (*g<sub>s</sub>*). Light-induced alterations in total chlorophyll (Cl(a+b)) concentration as well as in Cl a/b ratio were not found. Similarly, no sign of chronic photoinhibition of photosynthesis or oxidative damages were found in T1 and T2 seedlings; as a result, malondialdehyde concentration was similar in these kinds of seedlings. The larger excitation pressure imposed to T1 seedlings was properly dissipated, a fact likely associated with the greater non-photochemical quenching coefficient [that in turn was linked to a larger deepoxidation state of the xanthophyll pools (DEPS), higher amounts of zeaxanthin, and higher ratio of zeaxanthin + violaxanthin + antheraxanthin + zeaxanthin to total carotenoid as well as with the larger

enzyme activities of the antioxidant system, particularly the ascorbate peroxidase glutathione reductase and catalase. Decreases in  $A$ , observed after moving the seedlings from the shade to the open (T3) were likely to have been associated with reductions in  $g_s$  as well as with chronic photoinhibition. Decreases in  $Cl$  (a+b) and smaller activities of antioxidant enzymes, associated with an accumulation of MDA, were observed in T3 seedlings. These seedlings exhibited, even before dawn, pronounced nocturnal retention of zeaxanthin and remarkable increases in DEPS; however T3 seedlings showed an insufficient ability to be protected against the the high irradiance. It is demonstrated here that formation of coffee seedlings under full sun is a good option that should be considered by the coffee growers due mainly to the superior performance of sun-grown seedlings over that of shade-grown counterparts.

## 1. Introdução

Dentre, aproximadamente, 103 espécies descritas do gênero *Coffea* (Davies *et al.*, 2006), somente *C. arabica* (café arábica) e *C. canephora* (café robusta) têm expressão econômica no mercado mundial. Atualmente, o café arábica responde por cerca de dois terços do café produzido mundialmente, e o café robusta, pelo restante. O café constitui a cultura perene mais importante e difundida na América Latina, sendo cultivado também nos continentes africano e asiático, contribuindo, assim, para a balança comercial de vários países (DaMatta, 2004a). Atualmente a produção mundial de café gira em torno de 120 milhões de sacas (60 kg), conforme o relatório da Organização Internacional de Café (OIC), com o Brasil, maior produtor, respondendo por 30–40% da produção. Aproximadamente 76% da produção brasileira de café é derivada do café arábica e, os 24% restantes, do café robusta (Conab, 2008).

O café arábica é originário de florestas tropicais da África, onde pode ser encontrado em estado espontâneo como vegetação de sub-bosque e desenvolve-se, portanto, sob sombreamento. As cultivares atualmente plantadas foram selecionadas em ensaios de competição conduzidos a pleno sol e sob espaçamentos largos e, portanto, essas cultivares devem apresentar, potencialmente, adaptações a altas irradiâncias em extensão superior às de cultivares selecionadas para cultivos sombreados (DaMatta & Rena, 2002; DaMatta, 2004b). Apesar de a grande maioria dos trabalhos indicar que o cafeeiro exibe folhas com características de sombra, sua taxa fotossintética ( $A$ ) pode ser maior a pleno sol que à sombra, desde que a abertura estomática não seja limitante (DaMatta & Rena, 2002). Em todo caso, baixa  $A$ , em café, parece decorrer, principalmente, de baixas condutâncias difusivas, mas não necessariamente de baixa capacidade mesofílica para assimilação de  $\text{CO}_2$  (Araújo *et al.*, 2008). Em plantas a pleno sol, observa-se, comumente, redução da área foliar específica, aumento da espessura da cutícula, incrementos na irradiância de saturação, cloroplastos com menos *grana* e menos tilacóides por *granum* (Fahl *et al.*, 1994), aumentos na quantidade e na atividade da rubisco (Ramalho *et al.*, 1999) e reversão da fotoinibição relativamente rápida (DaMatta & Maestri, 1997), todas características adaptativas à plena irradiância. Essas respostas levaram DaMatta (2004a) a sugerir que o cafeeiro possuiria uma plasticidade relativamente elevada de sua maquinaria fotossintética, em resposta às variações da irradiância. Não obstante, Chaves *et al.* (2008) não observaram diferenças significativas de  $A$  entre plantas cultivadas à sombra ou à plena exposição ao sol. De

modo geral,  $A$ , como também a condutância estomática ( $g_s$ ), foram muito baixas, independentemente do ambiente lumínico. Semelhantemente, a concentração de pigmentos fotossintéticos, a extensão da fotoinibição, a capacidade antioxidante e a magnitude de danos celulares pouco ou nada responderam às condições de cultivo ao sol ou à sombra (Chaves *et al.*, 2008). Ao contrário da sugestão de DaMatta (2004a), esses dados mostram que o café, apesar de sua origem em ambientes sombreados, pode comportar-se como uma espécie com baixa plasticidade de sua maquinaria fotossintética às variações da irradiância. Em parte, a dissipação satisfatória do excesso da energia absorvida, por vias fotoquímicas ou não-fotoquímicas, poderia explicar essa baixa plasticidade (Dias, 2006).

A fotoinibição, observada por um decréscimo da eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (razão  $F_v/F_m$ ), pode ser dinâmica ou crônica (Osmond, 1994). Fotoinibição dinâmica é reversível e está associada a uma dissipação térmica do excesso da energia absorvida, indicando que a diminuição da eficiência fotoquímica se deve, em parte, a mecanismos fotoprotetores e não a danos oxidativos à maquinaria fotossintética (Demming-Adams *et al.*, 1996; Thiele *et al.*, 1998). A fotoinibição crônica, por sua vez, ocorre quando o excesso de luz absorvida gera uma série de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem causar danos à maquinaria fotossintética (Mittler, 2002). A formação dos EROs nos centros de reação do fotossistema II pode resultar em danos a sub-unidades protéicas, especialmente a proteína  $D_1$ , resultando na inativação fotooxidativa do centro de reação (Apel & Hirt, 2004), além de impactos não facilmente reversíveis sobre os processos fotoquímicos primários do fotossistema II (DaMatta & Ramalho, 2006).

Alguns pesquisadores parecem concordar que a muda do café cresce melhor à sombra que ao sol. Com efeito, apesar de a produção de mudas de café arábica ser feita tradicionalmente em viveiros sob sombra, alguns viveristas, com o propósito de reduzir custos de formação das mudas e melhorar a sua aclimatação às condições inóspitas do campo, vêm produzindo mudas a pleno sol (Paiva *et al.*, 2003). Dentre as vantagens da utilização do sistema de produção de mudas a pleno sol pode-se destacar uma menor ocorrência de doenças (principalmente tombamento), maior aproveitamento das mudas, devido à melhor aclimatação, e maior resistência a períodos de estiagem após o plantio no campo (Silva *et al.*, 2000).

A maioria dos resultados obtidos com o cultivo de mudas de café a pleno sol ou à sombra se resume a avaliações morfológicas simples, como variações na área foliar e acúmulo de biomassa, sem ênfase em parâmetros fisiológicos e bioquímicos que explicariam os mecanismos de aclimação do cafeeiro, na fase de muda, a condições de pleno sol ou à sombra. Essas informações podem fornecer subsídios para maior entendimento das diferenças observadas nas mudas formadas naquelas condições. O objetivo do presente trabalho foi, pois, a investigação do desempenho fisiológico e bioquímico de mudas de *Coffea arabica* formadas a pleno sol e à sombra, de maneira a obter-se um melhor entendimento dos mecanismos fisiológicos envolvidos na aclimação de mudas de café à plena exposição solar. Adicionalmente, mudas cultivadas à sombra foram também transferidas para plena exposição à radiação solar, para explorarem-se as respostas de curto prazo da fotossíntese a um aumento abrupto na disponibilidade de luz.

## **2. Material & Métodos**

### **2.1. Generalidades**

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°54'W, 650 m altitude), Minas Gerais. Sementes de café *Coffea arabica* L. 'Catuaí Vermelho IAC 44' foram acondicionadas em papel *germistest* umedecido, em 20/09/2006, e colocadas em um germinador a 30°C, até atingirem o estágio "palito de fósforo". Após o processo de germinação, as plântulas foram transplantadas, em 20/10/2006, para sacolas de polietileno perfuradas com dimensões usuais para café (11 x 22 cm). Parte das mudas foi cultivada a pleno sol, e parte sob telado de sombrite, que proporcionou um grau de sombreamento de 50%. As plantas foram irrigadas sempre que necessário, procurando-se manter a umidade do solo próxima à capacidade de campo.

Foram realizados dois experimentos, conduzidos separadamente e analisados como tal. No primeiro experimento, foram analisadas características morfológicas em 60 mudas, que foram cultivadas à sombra ou a pleno sol. No segundo experimento, 105 mudas foram utilizadas para avaliações fisiológicas, que foram feitas cinco meses após o transplântio, em folhas do terceiro ou quarto par, a partir da base das mudas, quando estas apresentaram quatro ou cinco pares de folhas totalmente expandidas. Este experimento consistiu de três tratamentos (T1 – mudas a pleno sol; T2 – mudas à sombra; e T3 – mudas à sombra transferidas para condições de pleno sol). Em ambos os

experimentos, foi utilizada bordadura dupla. O material vegetal, para análises fisiológicas posteriores, foi coletado às 12:00h; adicionalmente, para a análise de pigmentos fotossintéticos, o material vegetal foi também coletado na antemanhã. Nas plantas de T3, a coleta foi efetuada em três épocas diferentes: um, três e sete dias após a transferência das mudas para pleno sol. Os métodos utilizados ao longo do experimento são descritas abaixo:

## 2.2. Experimento I

Foram avaliadas as características de crescimento de dez plantas por tratamento (T1 – mudas a pleno sol; T2 – mudas à sombra) aos 100, 135 e 160 dias após o transplântio. Inicialmente, as plantas foram separadas em caule, folhas e raízes. Para a determinação da área foliar total, as folhas foram digitalizadas, com a utilização de um scanner de mesa Genius 1200XE (KYE Systems UK Ltd., Croydon, Surrey, UK) e as imagens foram analisadas pelo software Image-Pro<sup>®</sup> Plus (version 4.1, Media Cybernetics, Inc., Silver Spring, EUA). As raízes foram completamente lavadas com água de torneira sobre uma peneira de 0,5 mm. Aproximadamente 5% de tecidos frescos de raiz de cada planta foram usados, para calcular-se o comprimento total de raiz (método de interceptação de linhas; Tennant, 1975). A área de superfície de raiz foi calculada pelo diâmetro médio e o comprimento total do sistema radicular. Os tecidos das plantas foram secos em estufa, a 70°C, durante 72 h; posteriormente, a matéria seca de folhas, caules e raízes foi obtida. Baseadas nos dados acima e de matéria seca, foram calculadas as seguintes características de crescimento: razão de massa foliar (g de massa seca foliar g<sup>-1</sup> de biomassa seca total), razão de massa caulinar (g de massa seca caulinar g<sup>-1</sup> de biomassa seca total), razão de massa radicular (g de massa seca radicular g<sup>-1</sup> de biomassa seca total), biomassa total, área foliar específica (m<sup>2</sup> de área foliar kg<sup>-1</sup> de massa seca foliar), razão parte aérea / sistema radicular, razão de área foliar (m<sup>2</sup> de área foliar kg<sup>-1</sup> de biomassa seca total), razão de comprimento radicular (m de comprimento radicular kg<sup>-1</sup> de biomassa seca total), comprimento radicular específico (m de comprimento radicular kg<sup>-1</sup> de massa seca radicular), razão área foliar / área superficial de raiz, razão sistema radicular / parte aérea, taxa de crescimento relativo, TCR (aumento de massa seca da planta, em um dado intervalo de tempo, em função da biomassa pré-existente) e taxa assimilatória líquida, TAL (aumento de biomassa total por unidade de área foliar em um determinado tempo), conforme detalhes descritos em

Dias *et al.* (2007). Os dados obtidos de massa seca e de área foliar, obtidos aos 100 dias após a transplântio, foram utilizados para a obtenção dos dados de TCR e TAL aos 135 e 160 dias após o transplântio.

## 2.3. Experimento II

### 2.3.1. Trocas Gasosas e Parâmetros de Fluorescência

A taxa de assimilação líquida do carbono ( $A$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ) e a razão entre a concentração interna e ambiente de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) foram medidas em três horários (8:00, 12:00 e 16:00 h), em sistema aberto, sob luz e concentração de  $\text{CO}_2$  ambientes, com um analisador de gases a infravermelho (LI-6400 *Portable Photosynthesis System*, LI-COR, Lincoln, EUA). Após a mensuração das trocas gasosas, os parâmetros de fluorescência da clorofila  $a$  foram determinados nas mesmas folhas utilizadas para as medições das trocas gasosas, por meio de fluorômetro com pulso modulado (FMS2, Hansatech, Norfolk, Reino Unido). Após serem adaptados ao escuro, por 30 min, tecidos foliares foram inicialmente expostos a um fraco pulso de luz vermelho-distante ( $1-2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para a determinação da fluorescência inicial ( $F_0$ ). Em seguida, um pulso de luz saturante, com irradiância de  $6000 \mu\text{mol}$  (fótons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e duração de 1 s, foi aplicado para estimar-se a fluorescência máxima emitida ( $F_m$ ). Foi ainda estimada a eficiência fotoquímica máxima do FSII ( $F_v/F_m$ ) na antemanhã, o coeficiente de extinção fotoquímico ( $q_p$ ), o rendimento quântico do transporte de elétrons do FSII ( $\Phi_{\text{FSII}}$ ) e o coeficiente de extinção não-fotoquímico (NPQ), conforme descrito em Lima *et al.* (2002). A irradiância actínica, nos horários de 8:00h, 12:00h e 16:00, para as plantas a pleno sol (T1 e T3), foi  $1200$ ,  $1950$  e  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , e  $600$ ,  $750$  e  $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para as plantas de T2, respectivamente.

Em laboratório, foram avaliadas as respostas de diversos parâmetros de fluorescência, em função do nível de irradiância, a fim de observar-se a capacidade de utilização fotoquímica e de dissipação não-fotoquímica da energia luminosa, sob condições controladas. Para isso, mudas de café foram levadas ao laboratório, sendo submetidas às irradiâncias de  $25$ ,  $120$ ,  $300$ ,  $600$  e  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , utilizando-se do fluorômetro modulado anteriormente citado. Os parâmetros  $q_p$ ,  $\Phi_{\text{FSII}}$  e NPQ foram então estimados.

### 2.3.2. Clorofilas e Carotenóides

Para a análise de pigmentos, tecidos foliares foram coletados na antemanhã e ao meio-dia. As clorofilas ( $a + b$ ) e carotenóides totais foram quantificados espectrofotometricamente, conforme Lichtenthaler (1987). As concentrações foliares de xantofilas (neoxantina, violaxantina, anteraxantina, luteína e zeaxantina) e carotenos ( $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno) foram obtidas em um cromatógrafo líquido de alto desempenho (Hewlett Packard, series 1050, EUA), utilizando-se de uma coluna *Spherisorb* ODS-2 (250 x 4,6 mm),  $C_{18}$ , de fase reversa, com diâmetro de 5  $\mu$ m. Dois discos foliares (diâmetro de 1,4 cm) foram homogeneizados em acetona 90% (v/v), a 4°C. O homogenato foi transferido para um microtubo e expurgado com  $N_2$  gasoso, durante 2 min, completando-se, posteriormente, o volume para 2 mL. O extrato cetônico foi então deixado em repouso por 30 min, no escuro, a 4°C, para a completa extração dos pigmentos, procedendo-se, então, à centrifugação a 15000 g, por 10 min, a 4°C. O sobrenadante obtido foi filtrado através de um filtro com diâmetro do poro de 5  $\mu$ m de diâmetro (Ramalho *et al.*, 1997). A eluição dos pigmentos foi executada à temperatura ambiente, por 28 min, com taxa de fluxo de 0,52 mL  $min^{-1}$ , usando-se de um gradiente não-linear otimizado de 25-100% de acetato de etila em acetonitrila/água [9:1(v/v), contendo 0,1% de trietilamina]. A seqüência do procedimento foi: 0-10,5 min, gradiente linear de acetato de etila de 25-41%; 10,5-20,0 min, gradiente linear de acetato de etila de 41-100%; 20,0-22,0 min, gradiente isocrático com 100% de acetato de etila. A coluna foi re-equilibrada por 5 min nas condições iniciais. Os compostos foram identificados mediante seus espectros de absorção e tempos de retenção (Johnson *et al.*, 1993). A quantificação individual dos carotenóides foi estimada pela proporcionalidade entre a área integrada dos cromatogramas, obtidas a 440 nm, e as áreas dos cromatogramas dos respectivos padrões (VKI, Dinamarca), obtidos naquele comprimento de onda.

### 2.3.3. Sistema Antioxidativo e Danos Celulares

Foram determinadas as atividades das enzimas do sistema antioxidante: dismutase do superóxido (SOD, EC 1.15.1.1, Giannopolis & Ries 1977), catalase (CAT, EC 1.11.1.6; Havir & Mchale, 1987), peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11; Nakano & Asada 1981) e redutase da glutathiona (GR, EC 1.6.4.2; Foyer & Haliwell 1976). Danos celulares, que indicam a ocorrência de estresse oxidativo, foram avaliados

por meio da peroxidação de lipídeos, via acúmulo de aldeído malônico (MDA), conforme Cakmak & Horst (1991).

## 2.4 Procedimentos Estatísticos

Para o Experimento I, cada unidade experimental foi composta de uma muda, ao passo que para o Experimento II, foi composta por três mudas. As variáveis analisadas foram submetidas à análise de variância segundo delineamento inteiramente casualizado, com sete repetições para as análises fisiológicas, e dez repetições, para as análises morfológicas. Diferenças entre as médias dos tratamentos foram analisadas pelo teste de Newman-Keuls, a 5% de probabilidade. Para dar suporte a essas análises, utilizou-se do Sistema para Análises Estatísticas (SAEG). As análises de correlação foram feitas utilizando-se do programa estatístico Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, EUA), a 5% de probabilidade. Quando necessário, os dados de clorofilas e carotenóides foram transformados para seguir uma distribuição normal, usando-se, para isso, o teste de Lilliefors, para a posterior análise estatística.

## 3. Resultados

### 3.1. Crescimento

Na Época I (135 dias após o transplântio) o acúmulo de biomassa, a razão de comprimento radicular (RCR), o comprimento radicular específico (CRE) e a taxa de crescimento relativo (TCR) foram similares entre as plantas cultivadas ao sol ou à sombra. As plantas desenvolvidas a pleno sol (T1) tiveram um maior desenvolvimento radicular, fato associado a uma maior razão de massa radicular (RMR). As plantas à sombra (T2) apresentaram maior crescimento da parte aérea, a julgar pela maior área foliar total, maior razão de massa foliar (RMF), maior área foliar específica (AFE) e maior razão de área foliar (RAF). O acúmulo similar de biomassa total entre as plantas de T1 e T2, mesmo as primeiras alocando menos biomassa em folhas, estaria associado, provavelmente, à maior taxa assimilatória líquida (TAL) exibida pelas plantas de T1. Como um todo, essas alterações morfológicas levaram a uma maior razão sistema radicular/parte aérea nas plantas de T1 (Tabela 1). De modo geral, as diferenças encontradas na Época I se mantiveram na Época II (160 dias após o transplântio), porém foram menos acentuadas quando comparadas com as observadas na Época I (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis de crescimento de mudas de *Coffea arabica* formadas a pleno sol (T1) à sombra (T2) avaliados aos 135 e 160 dias, após o transplântio para sacolas. Valores representam média  $\pm$  EP ( $n = 10$ ).

Variáveis	Época I		Época II	
	T1	T2	T1	T2
Biomassa (g)	1,357 $\pm$ 0,080 a*	1,332 $\pm$ 0,053 a*	2,577 $\pm$ 0,169 a	2,295 $\pm$ 0,184 a
Área Foliar Total (dm <sup>2</sup> )	1,23 $\pm$ 0,06 b*	1,54 $\pm$ 0,06 a*	2,31 $\pm$ 0,001 a	2,50 $\pm$ 0,002 a
Razão de Massa Foliar (g g <sup>-1</sup> )	0,440 $\pm$ 0,005 *b	0,492 $\pm$ 0,011 *a	0,497 $\pm$ 0,005 b	0,541 $\pm$ 0,015 a
Área Foliar Específica (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	20,70 $\pm$ 0,23 b*	23,62 $\pm$ 0,545 a*	18,27 $\pm$ 0,463 b	20,38 $\pm$ 0,305 a
Razão de Área Foliar (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	9,113 $\pm$ 0,141 b	11,59 $\pm$ 0,287 a*	9,104 $\pm$ 0,285 b	11,03 $\pm$ 0,327 a
Razão de Massa Caulinar (g g <sup>-1</sup> )	0,175 $\pm$ 0,004 a	0,165 $\pm$ 0,003 b*	0,177 $\pm$ 0,002 a	0,178 $\pm$ 0,003 a
Razão de Massa Radicular (g g <sup>-1</sup> )	0,384 $\pm$ 0,005 a*	0,336 $\pm$ 0,012 b*	0,325 $\pm$ 0,006 a	0,281 $\pm$ 0,012 b
Razão de Comprimento Radicular (m kg <sup>-1</sup> )	124,9 $\pm$ 9,57 a	116,3 $\pm$ 7,901 a	86,89 $\pm$ 6,472 a	80,47 $\pm$ 3,914 a
Comprimento Radicular Específico (m kg <sup>-1</sup> )	327,2 $\pm$ 28,49 a	337,5 $\pm$ 15,74 a	269,7 $\pm$ 21,94 a	291,6 $\pm$ 19,34 a
Razão Área Foliar/Área Superficial de raiz (m <sup>2</sup> m <sup>-1</sup> )	0,041 $\pm$ 0,001 b	0,058 $\pm$ 0,004 a	0,053 $\pm$ 0,006 a	0,068 $\pm$ 0,010 a
Razão Sistema Radicular/Parte Aérea (g g <sup>-1</sup> )	0,625 $\pm$ 0,014 a*	0,510 $\pm$ 0,026 b	0,483 $\pm$ 0,013 a	0,394 $\pm$ 0,024 b
Taxa de Crescimento Relativo (mg g <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )	27,04 $\pm$ 1,735 a	24,36 $\pm$ 1,144 a	22,31 $\pm$ 2,129 a	19,95 $\pm$ 1,660 a
Taxa Assimilatória Líquida (g m <sup>-2</sup> dia <sup>-1</sup> )	2,917 $\pm$ 0,202 a	2,026 $\pm$ 0,104 b	2,494 $\pm$ 0,276 a	1,791 $\pm$ 0,166 b

Diferentes letras denotam diferenças significativas entre as médias dos níveis de irradiância dentro de cada época. Médias marcadas por asterisco apresentam diferenças significativas entre as épocas de avaliação dentro de cada nível de irradiância (ANOVA,  $P \leq 0.05$ ).

### 3.2. Trocas Gasosas e Parâmetros de Fluorescência

As variações diurnas de  $A$  foram similares nas plantas desenvolvidas a pleno sol (T1) e nas plantas à sombra (T2). Entretanto, os valores máximos de  $A$ , obtidos no início da manhã foram, de modo geral, maiores nas plantas de T1 (ver à frente; Figura 5). Registre-se, que as plantas desenvolvidas à sombra transferidas para condições de pleno sol (T3) exibiram menor  $A$  em relação às plantas de T1 e T2, com exceção do horário das 16:00 h (Figura 1). Contudo, não foram observadas alterações significativas em  $g_s$  e  $C_i/C_a$  nas plantas dos tratamentos avaliados.

As plantas de T1 apresentaram razão  $F_v/F_m$  menor do que as plantas de T2, nos horários de 12:00h e 16:00h. Padrão semelhante foi observado para as plantas de T3. Contudo, a razão  $F_v/F_m$  foi significativamente menor nestas plantas quando comparadas às plantas de T1 e T2, independentemente dos horários avaliados. Vale ressaltar que os valores da razão  $F_v/F_m$ , nos horários de 12:00h e 16:00h nas plantas de T1 e T3, mas não nas de T2, foram menores que 0,80 (Figura 2). De modo geral, as plantas de T1 e T3 apresentaram valores de  $F_0$  similares entre si, e estatisticamente maiores que os valores de  $F_0$  das plantas de T2 (Figura 2).

Independentemente do horário de avaliação,  $q_p$  foi sempre maior nas plantas de T2 do que nas plantas de T1. Padrão similar foi encontrado para  $\Phi_{FSII}$ . Comportamento inverso foi observado para NPQ, em que as plantas de T1 mostraram maiores valores desse parâmetro quando comparados com os das plantas de T2. As plantas de T3, nos horários de 12:00h e 16:00h, tiveram valores de  $q_p$  menores que as observadas para as plantas de T2, sendo que no horário das 8:00h não se pôde verificar diferenças estatísticas entre as plantas de T2 e T3. Além disso, não foram observadas diferenças estatísticas em  $\Phi_{FSII}$  entre as plantas desses tratamentos (Figura 3). Por outro lado, a capacidade de dissipação do excesso de energia, na forma de calor, foi menor nas plantas de T3 que nas planta de T1, porém, maior do que as plantas de T2 (Figura 3).

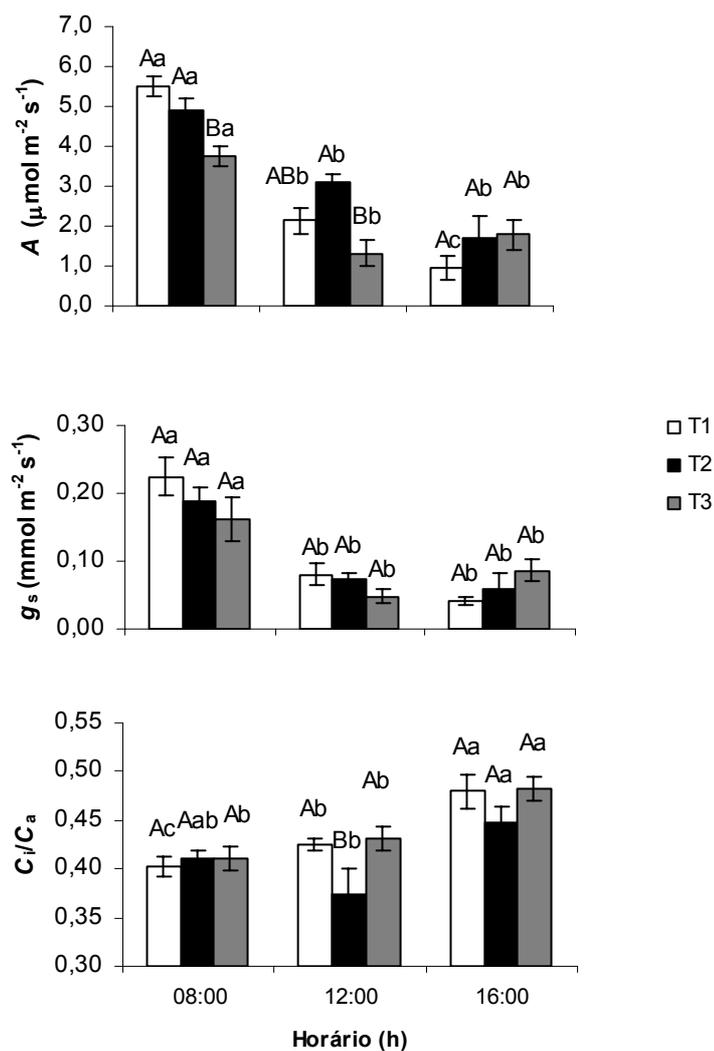


Figura 1. Curso diário da taxa de assimilação líquida de carbono ( $A$ ), da condutância estomática ( $g_s$ ) e da razão entre a concentração interna e ambiente de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) em mudas de café formadas a pleno sol (T1), à sombra (T2) e desenvolvidas a sombra e transferidas para pleno sol (T3), três dias após a transferência. Letras maiúsculas diferentes denotam diferença significativa entre médias dos tratamentos dentro de um mesmo horário; letras minúsculas diferentes denotam diferença estatística entre horários, dentro de um mesmo tratamento (Newman–Keuls,  $P \leq 0,05$ ). Valores representam a média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 7$ ).

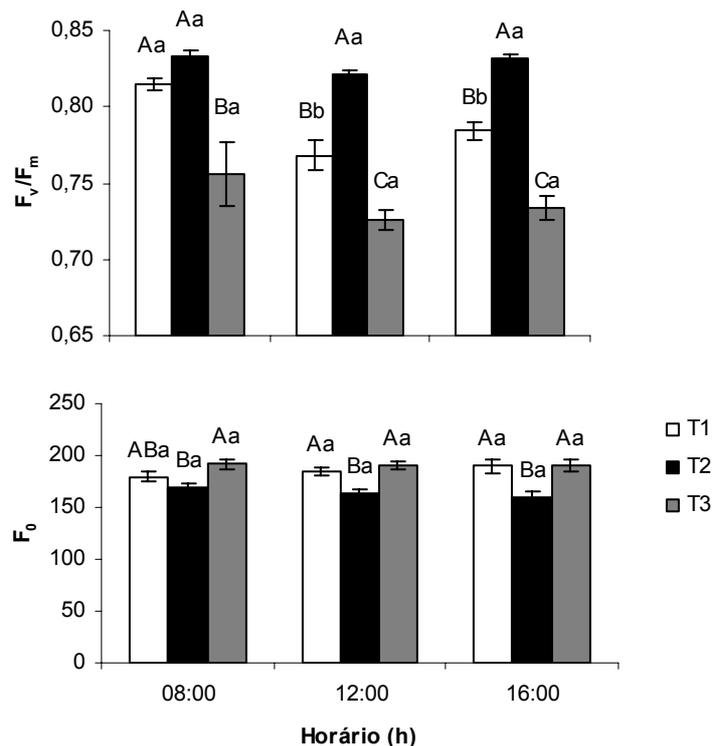


Figura 2. Curso diário da eficiência fotoquímica máxima do FSII ( $F_v/F_m$ ) e da fluorescência inicial ( $F_0$ ) em mudas de café formadas a pleno sol (T1), à sombra (T2) e desenvolvidas a sombra e transferidas a pleno sol (T3), três dias após a transferência. Estatística conforme a Figura 1.

As análises em laboratório de  $q_p$ ,  $\Phi_{FSII}$  e NPQ são mostradas na Figura 4. Independentemente dos tratamentos, observou-se redução similar em  $q_p$  e  $\Phi_{FSII}$  com o aumento da irradiância, a partir de  $120 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Com efeito, nas irradiâncias mais baixas, não houve diferenças estatísticas em  $q_p$  entre as plantas dos tratamentos avaliados. Sob 300 e  $600 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $q_p$  foi semelhante nas plantas de T1 e T2, com as plantas de T3 apresentando menores valores daquele parâmetro. Entretanto, quando submetidas a  $1000 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , as plantas de T1 exibiram maior capacidade de utilização fotoquímica da irradiância que as plantas de T2, com as plantas de T3 não diferindo estatisticamente, com respeito ao  $q_p$  das plantas de T1. Estas plantas apresentaram menor  $\Phi_{FSII}$  do que as plantas de T2, exceto sob  $1000 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Sob as irradiâncias mais baixas ( $25$  e  $120 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), as plantas de T3 não apresentaram diferenças estatísticas em relação às plantas de T1 em  $\Phi_{FSII}$ , sendo que a  $300$  e  $600 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , observou-se um menor  $\Phi_{FSII}$  para

as plantas de T3. De maneira similar ao observado para  $q_p$ , a 25, 120 e 300  $\mu\text{mol}$  (fótons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , NPQ foi semelhante entre os tratamentos avaliados, com as plantas de T2 apresentando maior NPQ do que as plantas de T1 a 600  $\mu\text{mol}$  (fótons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; entretanto, sob 1000  $\mu\text{mol}$  (fótons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , as plantas de T1 tiveram maior NPQ em relação às plantas de T2 (Figura 4). As plantas de T3 não diferiram estatisticamente das plantas de T2 sob 600  $\mu\text{mol}$  (fótons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Todavia, sob 1000  $\mu\text{mol}$  (fótons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , aquelas plantas exibiram NPQ menor do que as plantas de T1, e maior que o das plantas de T2 (Figura 4).

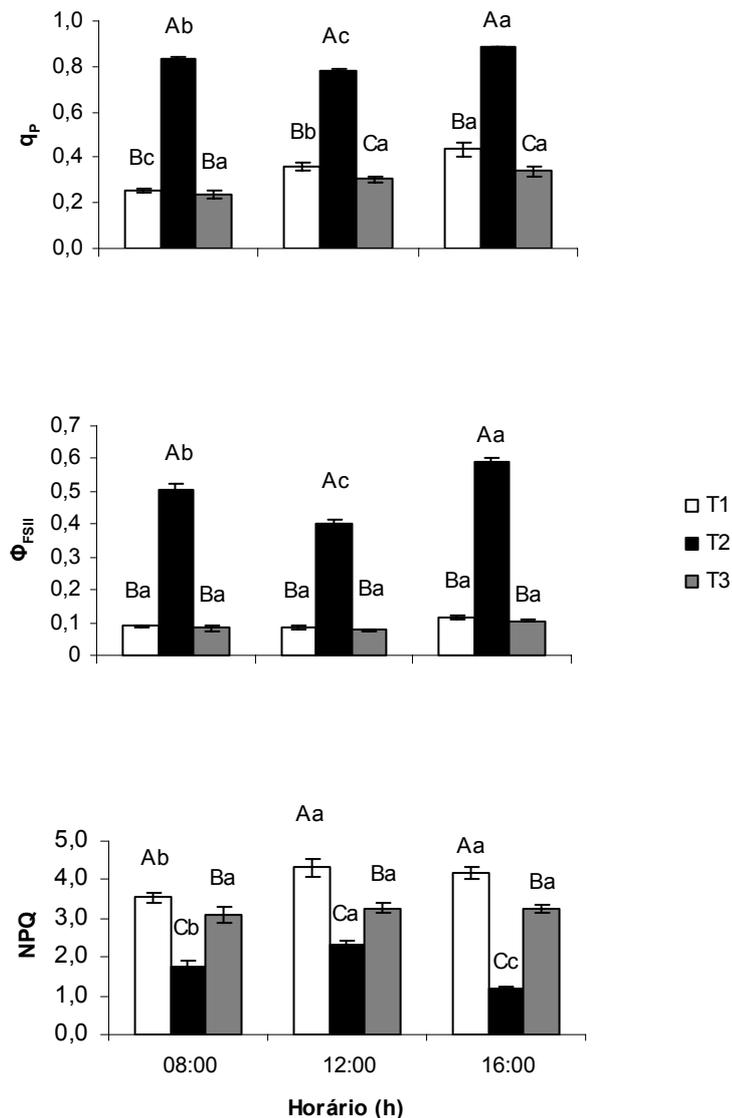


Figura 3. Curso diário do coeficiente de extinção fotoquímico ( $q_p$ ), rendimento quântico do transporte de elétrons do FSII ( $\Phi_{FSII}$ ) e do coeficiente de extinção não-fotoquímico (NPQ) em mudas de formadas a pleno sol (T1), à sombra (T2) e desenvolvidas a sombra e transferidas a pleno sol (T3), três dias após a transferência. Estatística conforme a Figura 1.

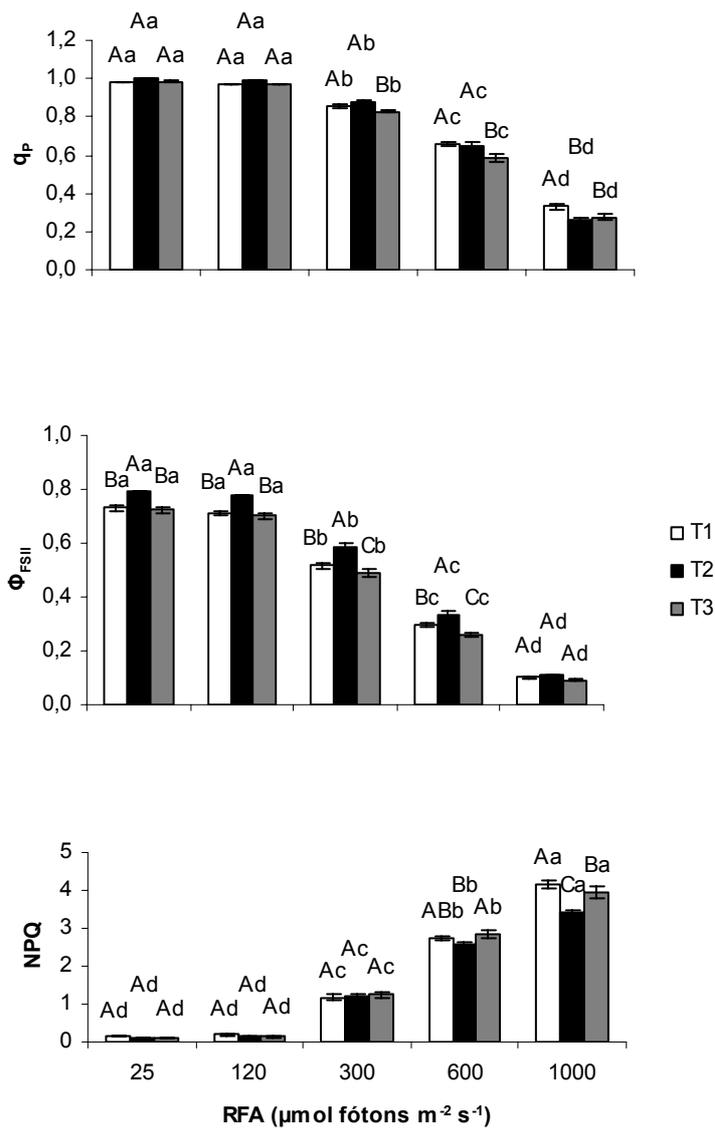


Figura 4. Coeficiente de extinção fotoquímico (qP), rendimento quântico do transporte de elétrons do FSII ( $\Phi_{\text{FSII}}$ ) e coeficiente de extinção não-fotoquímico (NPQ) em mudas de café formadas a pleno sol (T1), à sombra (T2) e desenvolvidas a sombra e transferidas a pleno sol (T3) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Letras maiúsculas diferentes denotam diferença significativa entre médias dos tratamentos dentro de mesma RFA; letras minúsculas diferentes denotam diferença estatística entre RFA dentro de mesmo tratamento (Newman-Keuls,  $P \leq 0,05$ ). Valores representam média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 7$ ).

Foram acompanhados, um, três e sete dias após a transferência de parte das mudas cultivadas à sombra para pleno sol, as trocas gasosas (Figura 5) e parâmetros de fluorescência da clorofila *a* (Figura 6). As análises foram feitas no início da manhã, e devem representar as taxas máximas diurnas de trocas gasosas. Com exceção da segunda época de avaliação (três dias após a transferência), em que as plantas desenvolvidas a pleno sol (T1) apresentaram *A* semelhante à das plantas desenvolvidas à sombra (T2), as plantas de T1 exibiram maior *A* em relação a plantas de T2. As plantas de T3 não diferiram estatisticamente das plantas de T2 na primeira e na terceira épocas de avaliação (um e sete dias após a transferência, respectivamente), sendo que, na segunda época, apresentaram menores valores absolutos de *A*. Observou-se, também, que apenas na primeira época de avaliação ocorreram alterações significativas em  $g_s$  e  $C_i/C_a$  entre as plantas de T1 e T2, com as primeiras apresentando maior  $g_s$  e  $C_i/C_a$ . Nesse contexto, as plantas de T3 não diferiram das plantas de T1.

Em todas as épocas avaliadas, a razão  $F_v/F_m$  foi superior a 0,80 nas plantas de T1 e T2, porém inferior a este valor nas plantas de T3, o que poderia indicar ocorrência de fotoinibição crônica (Figura 6). Foram observadas apenas alterações em  $F_0$  na primeira época, em que as plantas de T1 não diferiram estatisticamente com as plantas de T2; todavia, as plantas de T3 apresentaram valores de  $F_0$  maiores que as das plantas de T2. Na segunda e terceira épocas não foi verificada nenhuma alteração em  $F_0$  entre os tratamentos avaliados (Figura 6).

### 3.3. Pigmentos

As concentrações de Cl (*a+b*) e de Car bem como as razões Cl *a/b* e Cl/Car não variaram entre as plantas de T1 e T2, porém as primeiras apresentaram menor razão  $\alpha/\beta$  caroteno, em função de menor concentração de  $\alpha$ -caroteno nas plantas de T1 (Tabela 2). As plantas de T3 apresentaram uma diminuição nas concentrações de Cl (*a+b*) e Car bem como nas razões Cl/Car e Cl/N, sendo que, com o aumento do tempo de exposição à plena exposição solar, observou-se uma menor razão  $\alpha/\beta$  caroteno. A concentração de Cl (*a+b*) não diferiu estatisticamente em relação à das plantas de T1 e T2 (Tabela 2).

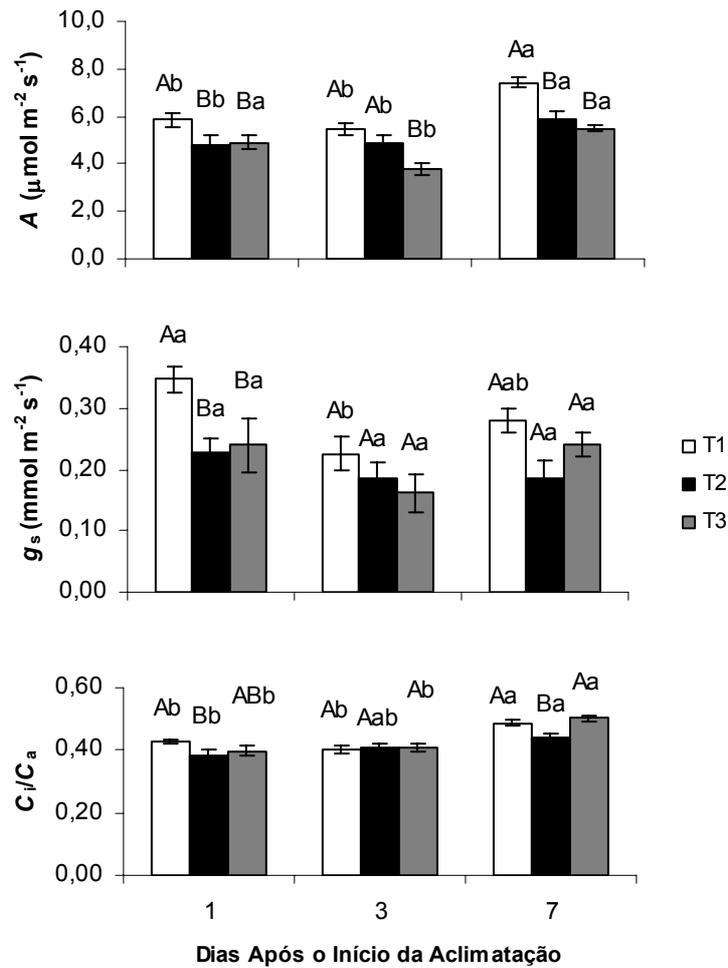


Figura 5. Taxa de assimilação líquida de carbono ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) e razão entre a concentração interna e ambiente de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) em mudas de café desenvolvidas a sombra e transferidas a pleno sol (T3). Para efeito de comparação, são também mostrados os dados de  $A$ ,  $g_s$  e  $C_i/C_a$  para as mudas desenvolvidas a pleno sol (T1) e à sombra (T2). As medições foram feitas entre 08:00h – 09:00h. Letras maiúsculas diferentes denotam diferença significativa entre médias dos tratamentos dentro do mesmo dia; letras minúsculas diferentes denotam diferença estatística entre os dias dentro de mesmo tratamento (Newman–Keuls,  $P \leq 0,05$ ). Valores representam média  $\pm$  erro-padrão ( $n = 7$ )

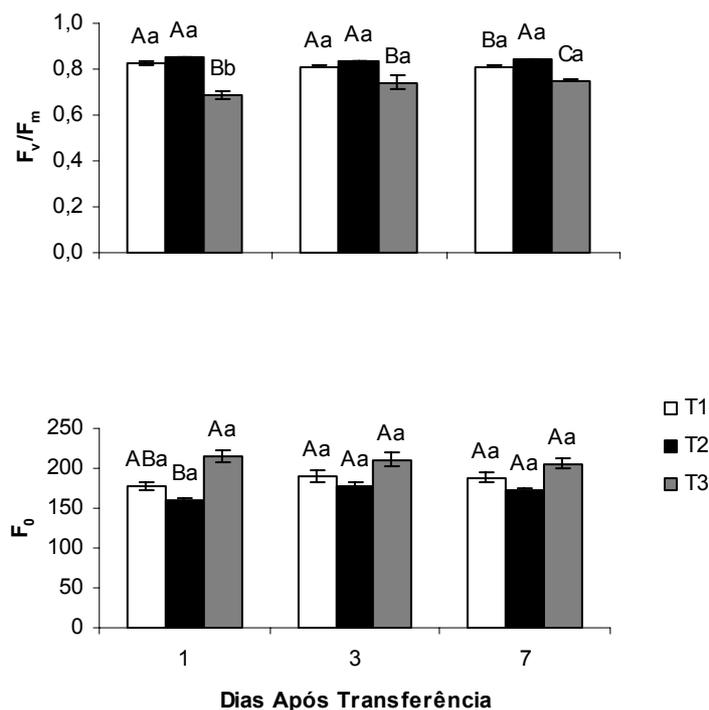


Figura 6. Eficiência fotoquímica máxima do FSII ( $F_v/F_m$ ) e fluorescência inicial ( $F_0$ ), medida na antemanhã, em mudas de café desenvolvidas a sombra e transferidas a pleno sol (T3). Para efeito de comparação, são também mostrados os dados de  $F_v/F_m$  para as plantas desenvolvidas a pleno sol (T1) e à sombra (T2). As medições foram feitas entre 08:00h – 09:00h. Estatística conforme a Figura 5.

Tabela 2. Concentração de clorofilas (Cl) totais ( $a + b$ ) ( $\text{mg g}^{-1}$  MF), carotenóides totais (Car) ( $\text{mg kg}^{-1}$  MF), razão clorofila  $a$  e clorofila  $b$  (Cl  $a/b$ ), razão clorofilas totais e carotenóides (Cl/Car), e razão  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno ( $\alpha/\beta$ -Caroteno) em mudas de café arábica desenvolvidas a pleno sol (T1), à sombra (T2) e à sombra e transferidas a pleno sol (T3). Valores representam médias  $\pm$  EP ( $n = 7$ ).

Parâmetros	T1		T2		T3		
	Época – dias após a transferência						
			1	3	7		
Cl ( $a + b$ )	$1,65 \pm 0,07^A$	$1,68 \pm 0,12^A$	$1,22 \pm 0,08^B$	$1,54 \pm 0,05^A$	$1,29 \pm 0,09^B$		
Car	$558,5 \pm 25,9^{AB}$	$615,2 \pm 36,2^A$	$438,3 \pm 30,6^C$	$561,2 \pm 44,5^{AB}$	$507,3 \pm 39,9^{BC}$		
Cl $a/b$	$2,22 \pm 0,14^A$	$2,41 \pm 0,24^A$	$2,30 \pm 0,07^A$	$2,31 \pm 0,06^A$	$2,44 \pm 0,07^A$		
Cl/Car	$3,79 \pm 0,19^A$	$4,18 \pm 0,19^A$	$3,04 \pm 0,07^B$	$3,00 \pm 0,07^B$	$2,72 \pm 0,04^B$		
$\alpha/\beta$ Caroteno	$0,355 \pm 0,03^B$	$0,695 \pm 0,07^A$	$0,397 \pm 0,06^B$	$0,413 \pm 0,05^B$	$0,111 \pm 0,02^C$		

Diferentes letras denotam diferenças estatísticas entre as médias dos tratamentos avaliados (ANOVA,  $P \leq 0,05$ ).

Independentemente dos tratamentos, a luteína foi o principal carotenóide acumulado nas plantas, com mudas de T1 e T2 não diferindo estatisticamente entre si e com as plantas de T3 com uma concentração desse carotenóide, em média, 35% maior na antemanhã (Tabela 3). Nesse mesmo horário, as plantas de T1 e T2 apresentaram

maiores concentrações de violaxantina e menores zeaxantina, ao passo que as plantas de T3 retiveram mais zeaxantina, principalmente nos primeiros dias após a transferência para pleno sol, provavelmente às expensas de uma diminuição da concentração de violaxantina, a julgar-se pelos dados da Tabela 3. O maior valor do estado de desepoxidação dos carotenóides envolvidos no ciclo das xantofilas (DEPS) observado nas plantas de T3 foi devido às alterações nas concentrações de violaxantina e zeaxantina (Tabela 3). O *pool* dos carotenóides (Car) envolvidos no ciclo das xantofilas (violaxantina + anteraxantina + zeaxantina – VAZ) não variou estatisticamente entre os tratamentos aqui avaliados; entretanto, a razão VAZ/Car foi maior nas plantas de T1 em relação à das plantas dos demais tratamentos. Ao meio-dia, verificou-se aumento nos teores de anteraxantina e zeaxantina, com diminuição paralela de violaxantina. Estas alterações ocorridas ao meio-dia influenciaram a magnitude de DEPS, de forma que as plantas de T1 apresentaram valores maiores que o das plantas de T2, sendo que as plantas de T3 exibiram os maiores valores de DEPS (Tabela 3). Observou-se, também, semelhança na concentração de VAZ e maior razão VAZ/Car nas plantas de T1 em relação às plantas de T2, ao passo que as plantas de T3 apresentaram os menores valores de VAZ e não diferiram estatisticamente das plantas de T2 na razão VAZ/Car (Tabela 3).

As correlações entre razão  $F_v/F_m$  e concentração de VAZ, bem como entre  $F_v/F_m$  e DEPS, não foram significativas nas plantas de T1 e T2, provavelmente em função da alteração muito discreta, quando houve, da razão  $F_v/F_m$  nessas plantas, independentemente do horário de avaliação (dados não mostrados). Nas plantas de T3, contudo, houve correlação significativa entre a razão  $F_v/F_m$  e DEPS (Figura 8), sugerindo, circunstancialmente, relação de causa/efeito entre a redução de  $F_v/F_m$  e o estado de desepoxidação dos carotenóides do ciclo das xantofilas.

### 3.4. Sistema Antioxidativo e Danos Celulares

A atividade das enzimas relacionadas ao sistema antioxidativo (APX, CAT e GR) foi maior nas plantas de T1 quando comparada à das plantas de T2, com exceção da atividade da enzima SOD, que foi semelhante entre ambos os tratamentos. As plantas de T3 apresentaram as menores atividades das enzimas CAT, GR e SOD. Em adição, as atividades dessas enzimas não variaram significativamente, ao longo do tempo avaliado, nas plantas de T3.

Tabela 3. Concentração foliar de xantofilas, carotenos, violaxantina + anteraxantina + zeaxantina (VAZ), estado de desepoxidação dos carotenóides do ciclo das xantofilas (DEPS), razão da VAZ e carotenóides totais (VAZ/Car) em mudas de *Coffea arabica* L. Os valores são expressos em mg kg<sup>-1</sup> MF e representam a média ± EP (n=7).

Parâmetros	Antemanhã				
	T1	T2	T3		
	Época – dias após a transferência				
			1	3	7
Neoxantina	59,95 ± 4,03 <sup>B</sup>	85,68 ± 5,69 <sup>A</sup>	74,44 ± 7,50 <sup>AB</sup>	86,32 ± 4,42 <sup>A</sup>	62,36 ± 6,07 <sup>B</sup>
Violaxantina	94,22 ± 4,35 <sup>A*</sup>	87,85 ± 6,44 <sup>A*</sup>	25,46 ± 4,46 <sup>C*</sup>	55,35 ± 3,96 <sup>B*</sup>	69,47 ± 5,02 <sup>AB*</sup>
Anteraxantina	17,19 ± 3,15 <sup>ABC</sup>	10,88 ± 1,29 <sup>C</sup>	20,03 ± 3,05 <sup>ABC</sup>	21,56 ± 4,67 <sup>A</sup>	12,46 ± 1,62 <sup>BC</sup>
Luteína	135,2 ± 6,48 <sup>C</sup>	144,5 ± 9,61 <sup>BC</sup>	178,3 ± 13,19 <sup>AB</sup>	207,9 ± 15,26 <sup>A</sup>	182,5 ± 16,40 <sup>AB</sup>
Zeaxantina	4,625 ± 0,399 <sup>B</sup>	3,715 ± 0,233 <sup>B</sup>	56,04 ± 8,14 <sup>A</sup>	40,15 ± 8,00 <sup>A</sup>	7,602 ± 3,82 <sup>B</sup>
α-Caroteno	28,67 ± 2,67 <sup>B</sup>	56,89 ± 5,27 <sup>A</sup>	30,04 ± 4,30 <sup>B</sup>	42,13 ± 4,58 <sup>AB</sup>	10,09 ± 2,70 <sup>C</sup>
β-Caroteno	93,22 ± 4,41 <sup>A</sup>	105,52 ± 6,16 <sup>A</sup>	71,22 ± 5,30 <sup>B</sup>	89,87 ± 8,01 <sup>AB</sup>	88,22 ± 13,01 <sup>AB</sup>
VAZ	116,0 ± 4,80 <sup>A</sup>	102,5 ± 7,80 <sup>A</sup>	101,5 ± 6,14 <sup>A</sup>	117,1 ± 12,40 <sup>A</sup>	89,53 ± 5,43 <sup>A</sup>
DEPS	0,186 ± 0,027 <sup>C</sup>	0,142 ± 0,004 <sup>C</sup>	0,748 ± 0,037 <sup>A</sup>	0,501 ± 0,051 <sup>B</sup>	0,219 ± 0,041 <sup>C</sup>
VAZ/Car	0,269 ± 0,008 <sup>A</sup>	0,206 ± 0,007 <sup>B</sup>	0,225 ± 0,009 <sup>B</sup>	0,214 ± 0,009 <sup>B</sup>	0,212 ± 0,014 <sup>B</sup>
	Meio-dia				
Neoxantina	80,14 ± 3,38 <sup>AB*</sup>	101,9 ± 5,20 <sup>A</sup>	66,59 ± 5,52 <sup>B</sup>	89,19 ± 8,63 <sup>A</sup>	66,79 ± 5,45 <sup>B</sup>
Violaxantina	35,06 ± 11,00 <sup>B</sup>	61,13 ± 10,15 <sup>A</sup>	9,05 ± 2,38 <sup>C</sup>	15,10 ± 2,55 <sup>C</sup>	16,65 ± 3,45 <sup>C</sup>
Anteraxantina	31,10 ± 4,88 <sup>B*</sup>	28,19 ± 3,11 <sup>B*</sup>	13,21 ± 1,62 <sup>C</sup>	21,09 ± 3,83 <sup>BC</sup>	46,69 ± 6,20 <sup>A*</sup>
Luteína	171,0 ± 10,01 <sup>B*</sup>	171,6 ± 10,53 <sup>B</sup>	168,9 ± 12,35 <sup>B</sup>	213,7 ± 17,10 <sup>A</sup>	201,9 ± 17,40 <sup>A</sup>
Zeaxantina	74,08 ± 13,73 <sup>AB*</sup>	32,05 ± 6,70 <sup>C*</sup>	85,72 ± 10,4 <sup>AB*</sup>	96,56 ± 6,09 <sup>A*</sup>	66,23 ± 9,56 <sup>B*</sup>
α-Caroteno	43,25 ± 3,30 <sup>B*</sup>	89,51 ± 8,53 <sup>A*</sup>	27,29 ± 4,35 <sup>C</sup>	36,97 ± 5,01 <sup>BC</sup>	11,58 ± 2,61 <sup>D</sup>
β-Caroteno	123,9 ± 6,20 <sup>A*</sup>	130,8 ± 8,34 <sup>A*</sup>	67,58 ± 3,81 <sup>C</sup>	88,54 ± 7,79 <sup>B</sup>	97,45 ± 9,45 <sup>B</sup>
VAZ	185,3 ± 15,19 <sup>A*</sup>	162,2 ± 8,76 <sup>A*</sup>	107,9 ± 9,59 <sup>B</sup>	132,7 ± 9,08 <sup>B</sup>	129,6 ± 9,23 <sup>B*</sup>
DEPS	0,749 ± 0,069 <sup>B*</sup>	0,504 ± 0,064 <sup>C*</sup>	0,908 ± 0,028 <sup>A*</sup>	0,890 ± 0,013 <sup>AB*</sup>	0,869 ± 0,03 <sup>AB*</sup>
VAZ/Car	0,330 ± 0,018 <sup>A*</sup>	0,266 ± 0,013 <sup>B*</sup>	0,246 ± 0,011 <sup>B</sup>	0,239 ± 0,006 <sup>B</sup>	0,259 ± 0,014 <sup>B*</sup>

Diferentes letras denotam diferenças significativas entre as médias dos níveis de irradiância dentro de cada horário. Médias marcadas por asterisco apresentam diferenças significativas entre os horários de avaliação dentro de cada nível de irradiância. (ANOVA,  $P \leq 0.05$ ).

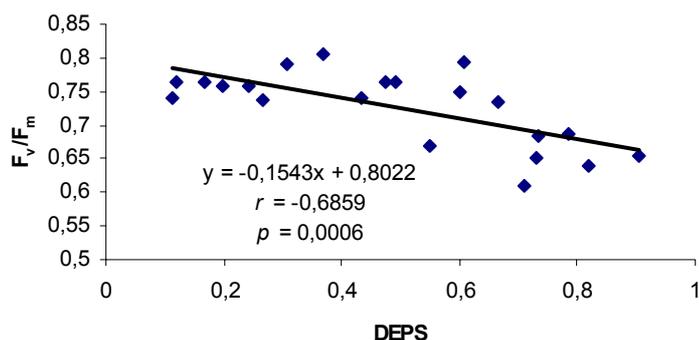


Figura 7. Correlação de Pearson entre eficiência fotoquímica máxima do FSII ( $F_v/F_m$ ) e o estado de desepoxidação dos carotenóides envolvidos no ciclo das xantofilas (DEPS) na antemanhã em mudas de café desenvolvidas à sombra e transferidas a plena exposição à radiação solar.

Pôde-se observar, ainda, nessas plantas, um incremento na atividade da APX com o aumento do tempo de exposição à radiação solar (Figura 8). O acúmulo de MDA foi maior nas plantas de T3, enquanto plantas de T1 e T2 não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Em todo caso, a concentração de MDA decresceu, nas plantas de T3, com o tempo de exposição à plena irradiância.

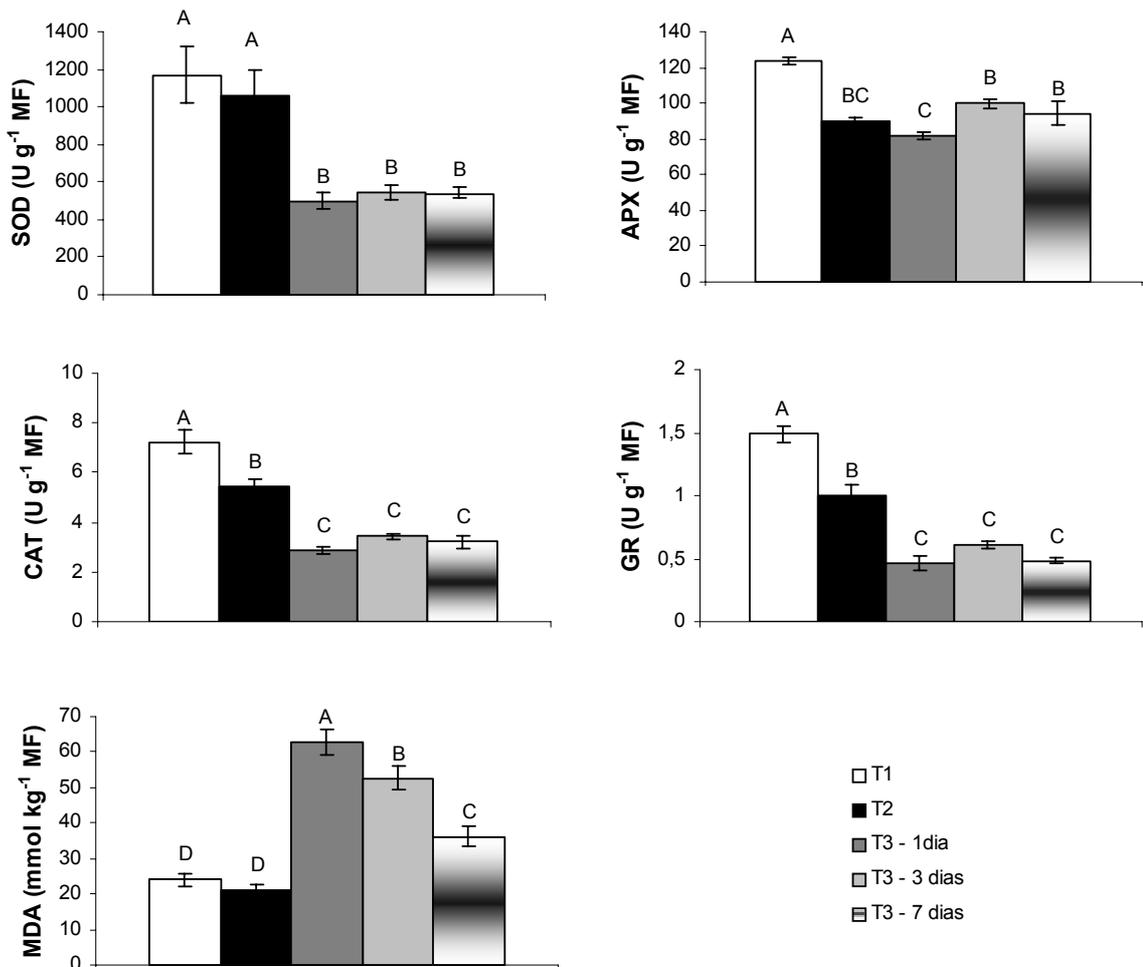


Figura 8. Atividade da peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT), redutase da glutathiona (GR), dismutase do superóxido (SOD) e a concentração de aldeído malônico (MDA) em mudas de café desenvolvidas a pleno sol (T1), à sombra (T2) e desenvolvidas à sombra e transferidas a pleno sol (T3) (avaliações feitas aos 1, 3 e 7 dias após a transferência). Letras maiúsculas diferentes denotam diferença significativa entre médias dos tratamentos avaliados (Newman-Keuls,  $P \leq 0,05$ ).

## 4. Discussão

### 4.1. Mudanças formadas ao sol e à sombra

Alguns pesquisadores parecem concordar que mudas de café crescem melhor à sombra que a pleno sol. O fato de a planta apresentar folhas maiores (e maior área foliar) e mais verdes (normalmente indicando maior concentração de clorofilas) à sombra que a pleno sol pode transmitir uma falsa percepção de maior vigor da planta à sombra. Neste estudo, todavia, as plantas a pleno sol (T1) acumularam biomassa e exibiram taxa de crescimento relativo (TCR) similar em relação a plantas à sombra (T2), ainda que tenha ocorrido menor alocação de biomassa para a parte aérea e menor razão de massa foliar nas primeiras. Como um todo, esse comportamento deve estar associado à maior taxa assimilatória líquida (TAL) das plantas de T1, permitindo inferir que, possivelmente, as taxas fotossintéticas, nessas plantas, ao longo do tempo, devem ter sido maiores do que as das plantas à sombra (T2), apesar de nem sempre se ter detectado tais diferenças no curto prazo. Além disso, a alteração de alocação de biomassa observada nas plantas dos tratamentos avaliados mostra que as plantas de T1, após transferência para o campo, poderiam explorar um volume maior de solo, favorecendo, portanto, uma melhor aclimação ao novo ambiente e aumentando a sobrevivência, especialmente em períodos secos após o transplante. Os resultados aqui encontrados não corroboram com os dados encontrados por Paiva *et al.* (2003), que observaram que mudas de café arábica sombreadas cresceram melhor à sombra que a pleno sol. Em seu trabalho, Paiva *et al.* (2003) encontraram valores da razão parte aérea/sistema radicular (PA/SR) de 6,0 e 5,6 para plantas sob 50% de sombreamento e a pleno sol, respectivamente, ao passo que, no presente trabalho, os valores para a razão PA/SR para as plantas de T1 e T2 foi, respectivamente, de 2,1 e 2,4. Valores elevados da razão PA/SR podem indicar restrição espacial do crescimento radicular e, assim, provavelmente, o balanço entre as raízes e a parte aérea é perdido, de forma que as raízes não conseguiriam suprir a parte aérea adequadamente, principalmente de água (Poorter & Nagel, 2000). Sendo assim, as plantas a pleno sol não se desenvolveriam tão bem, possivelmente associado ao menor suprimento de água. Em todo caso, demonstrou-se, aqui, que o cafeeiro, mesmo na fase de muda, pode crescer com TCR similar a pleno sol ou à sombra, mas com TAL maior na primeira condição. Não se pode descartar, todavia, potenciais diferenças interespecíficas no que se diz respeito ao crescimento das plantas de café a pleno sol e à sombra, bem como o papel diferencial de

fitorreguladores (*e.g.* auxinas, giberelinas) na expansão celular (Yang *et al.*, 1996; Kende *et al.*, 1998) e na alocação diferencial de biomassa ao longo da planta.

As taxas máximas de fotossíntese líquida tenderam, ou foram maiores ( $P < 0,05$ ), nas plantas a pleno sol, corroborando a asserção de DaMatta *et al.* (2004a) de que, desde que a condutância estomática ( $g_s$ ) não seja limitante, cafeeiros a pleno sol exibem maior  $A$  ao sol que à sombra. Em todo o caso, o curso diário das trocas gasosas entre as plantas de T1 e T2 foi semelhante. Conforme observado por DaMatta (2004a,b),  $g_s$  alcançou valores máximos no início da manhã, e negligenciáveis à tarde, fato provavelmente associado à sensibilidade dos estômatos do cafeeiros ao incremento, ao longo do dia, do déficit de pressão de vapor entre o interior da folha e a atmosfera, e também da temperatura foliar. Sendo assim, os baixos valores encontrados para  $A$ , à tarde, mesmo nas folhas sombreadas, devem, pois, estar associados aos baixos valores de  $g_s$ .

Folhas desenvolvidas em ambientes sombreados, normalmente, apresentam um alto teor de clorofilas totais (Cl ( $a+b$ )) por unidade de massa, de forma a aumentar sua capacidade de absorção de luz (Lee *et al.*, 1990; Cao, 2000; Feng *et al.*, 2004). Em contraste, nessas folhas, a razão de clorofila  $a$  e clorofila  $b$  (Cl  $a/b$ ), um indicador da proporção de complexos coletores de luz associados ao FSII (CCL-II) em relação a outros complexos contendo clorofilas (Murchie & Horton, 1997), é usualmente menor. Porém, mesmo estando as plantas de T1 sob maior irradiância que as plantas de T2, não houve alterações na concentração de Cl ( $a+b$ ) nem na razão Cl  $a/b$ , a exemplo de outros trabalhos relatados em café (Fahl *et al.*, 1994; Araújo *et al.*, 2008; Chaves *et al.*, 2008). Portanto, não deve ter havido variações na organização dos fotossistemas nem na capacidade para absorção de luz (Walters, 2005). Nesse contexto, dever-se-ia esperar uma maior absorção de luz pelas plantas de T1 em relação às plantas de T2, o que poderia levar a um excesso de energia de excitação. Todavia, não foi verificado, qualquer indício de fotoinibição crônica nem danos fotooxidativos, visto que as plantas de T1 exibiram uma queda discreta da razão  $F_v/F_m$ , com recuperação na antemanhã, além de apresentarem uma concentração de MDA semelhante à das plantas de T2. Adicionalmente, a menor razão  $\alpha/\beta$ -caroteno, exibida pelas plantas de T1 foi devido à queda acentuada nos níveis de  $\alpha$ -caroteno que nos de  $\beta$ -caroteno, o que confirma o papel do  $\beta$ -caroteno na proteção das plantas sob altas irradiâncias, via extinção de clorofila triplete no complexo-antena (Trebst *et al.*, 2002). A baixa retenção noturna de

zeaxantina juntamente com um DEPS similar entre as plantas de T1 e T2 é indicativo (e associado com) da recuperação da razão  $F_v/F_m$  na antemanhã, reforçando que não houve danos oxidativos e a maquinaria fotossintética das plantas de T1 esteve bem protegida contra o excesso de irradiância interceptada. Concomitantemente, esses dados sugerem que a maior pressão de excitação a que as plantas de T1 estavam sujeitas foi dissipada efetiva e adequadamente, possivelmente em função do maior NPQ, associado ao maior estado de desepoxidação dos carotenóides envolvidos no ciclo das xantofilas (DEPS), às maiores concentrações de zeaxantina, maior razão VAZ/Car (Morosinotto *et al.*, 2003; Horton *et al.*, 2008), ao meio-dia, e à maior atividade das enzimas do sistema antioxidante, particularmente a APX, GR e CAT.

#### 4.2. Mudanças formadas à sombra e transferidas para condições de pleno sol

Decréscimos em  $A$ , observados após a transferência das mudas, da sombra para pleno sol, foram, possivelmente, associados às reduções em  $g_s$  bem como à ocorrência de fotoinibição crônica. A ocorrência de fotoinibição crônica pode ser deduzida em virtude de reduções persistentes na razão  $F_v/F_m$  na antemanhã, em conjunto com aumentos na fluorescência inicial ( $F_0$ ). Essa persistência pode estar associada, pelo menos em parte, à degradação da proteína D1 (Ramalho *et al.*, 2003; Martinez-Ferri *et al.*, 2004). Ao longo do período de aclimatação, verificaram-se reduções em  $Cl(a+b)$ , em DEPS, além de menor atividade das enzimas do sistema antioxidativo. Além disso, os decréscimos observados na concentração de clorofilas totais poderiam estar associados a processos fotooxidativos (*e.g.* Krauser, 1988), ou relacionados com alterações na organização dos fotossistemas, de modo a servir como um mecanismo fotoprotetor (*e.g.* Ottander *et al.*, 1995). Entretanto, essa redução parece mais provavelmente associada com a primeira hipótese, uma vez que houve fortes indícios de danos oxidativos (*e.g.* aumento de MDA). Após a transferência, as mudas de T3 foram expostas a um ambiente onde a pressão de excitação foi maior, de forma que exibiram retenção noturna pronunciada de zeaxantina e aumentos consideráveis em DEPS. Essas alterações, *per se*, levariam a aumentos pronunciados na dissipação térmica, mesmo na antemanhã, porém não houve aumentos correspondentes na atividade das enzimas do sistema antioxidante (e talvez de metabólitos hidrofílicos antioxidantes, como o ascorbato e a glutatona), o que acarretou em uma menor capacidade da planta para ajustar-se adequadamente contra a maior pressão de excitação do novo ambiente

lumínico. Algumas enzimas, a catalase, em particular, são muito sensíveis à elevação da concentração de EROs (Smirnoff, 1995). Assim, é possível que a menor atividade das enzimas do sistema antioxidante pode ser exatamente o reflexo de um aumento excessivo na produção de EROs, após uma mudança abrupta, do ambiente sombreado para pleno sol. Todavia, apesar da falta de ajuste do sistema enzimático antioxidante àquelas mudanças, observou-se extraordinária aclimatação em termos do aumento da capacidade de dissipação térmica (em relação às plantas de T2), mas isso não foi suficiente para uma fotoproteção satisfatória. Como resultado, verificou-se uma maior concentração de MDA, indicativo de danos celulares decorrentes de estresse oxidativo.

Como um todo, observou-se uma clara aclimatação (com desempenho inferior em relação às mudas de T1) às altas irradiâncias, tendo em vista os decréscimos observados na retenção noturna de anteraxantina e zeaxantina, que acarretaram decréscimos em DEPS, além de menor concentração de MDA após sete dias de transferência das mudas sombreadas para condições de pleno sol. Em adição, os incrementos observados na concentração de  $\beta$ -caroteno e em VAZ reforçam a idéia de ocorrência de aclimatação.

## **5. Conclusões**

Mudas de café produzidas a pelo sol podem exibir crescimento melhor ou similar ao das plantas sob sombreamento. Além disso, as mudas a pleno sol, apresentam um padrão de alocação de biomassa que poderia permitir-lhes melhor pegamento, após a transferência para o campo, na medida em que a maior razão sistema radicular / parte aérea propiciaria uma maior exploração do solo, em busca de água e nutrientes, juntamente com uma menor taxa de transpiração total, permitindo uma aclimatação mais eficiente ao novo ambiente, após o transplante para o campo. Em adição, o desempenho fisiológico das plantas a pleno sol foi superior quando comparado com plantas desenvolvidas à sombra e transferidas para condições de pleno sol, em função de maiores taxas de fotossíntese associadas com maior capacidade de dissipação térmica e maior atividade das enzimas do sistema antioxidativo, traduzindo-se em ausência de danos oxidativos severos, mesmo sob altas irradiâncias. Em síntese, mudas de café cultivadas a pleno sol exibem características que, em conjunto, permitiriam um melhor desempenho quando transplantadas para o campo, o que facilitaria sobretudo a implantação da cultura.

Apesar de mudas formadas à sombra e transferidas para condições de pleno sol poderem aclimatar-se ao novo ambiente lumínico, danos fotooxidativos, após a transferência, podem ser inevitáveis, resultando, provavelmente, em altos custos metabólicos para o reparo das estruturas celulares. Além disso, esses danos podem resultar, eventualmente, em índices de mortalidade relativamente elevados, aumentando, portanto, os custos de formação do cafezal. Diante do exposto, desde que o fator água não seja limitante para a produção de mudas, demonstra-se, aqui, que a formação de mudas de café a pleno sol é uma opção que deve ser considerada pelo cafeicultor ou pelo viverista, em função do desempenho superior dessas mudas, em relação às formadas à sombra.

## **6. Referências Bibliográficas**

**Apel K., Hirt H.** 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 15: 11-26.

**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 Physiol. Biochem.* 46: 894-890.

**Cakmak I., Horst J.** 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant.* 83: 463-468.

**Cao K.F.** 2000. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in Bornean heath forest. *Can. J. Bot.* 78: 1245-1253.

**Chaves A.R.M., Ten Caten A., Pinheiro H.A., Ribeiro A., DaMatta F.M.** 2008. Seasonal changes in leaf photoprotective mechanisms of leaves from shade and unsahaded field-grown coffee (*Coffea Arabica* L.) trees. *Trees: Struct. Func.* 22: 351-361.

**CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento.** 2008. Safra 2008 – Terceira Estimativa. Setembro. <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/Boletim.pdf>

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

**DaMatta F.M.** 2004b. Fisiologia do cafeeiro em sistemas arborizados. In: **Matsumoto S.N.** (Ed.). *Arborização de Cafezais no Brasil.* Vitória da Conquista: Edições Uesb, 85-118.

**DaMatta F.M., Ramalho J.D.C.** 2006. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Braz. J. Plant Physiol.* 18: 55-81.

**DaMatta F.M., Rena A.B.** 2002. Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. In: **Zambolim L.** (Ed.). *O Estado da Arte de Tecnológicas na Produção de café.* Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 93-135.

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

**Davies A.P., Govaerts R., Bridson D.M., Stoffelen P.** 2006. An annotated taxonomic conspectus of genus *Coffea* (Rubiaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 152: 465-512.

**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. *Physiol. Plant.* 98: 253-264.

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

- Dias P.C., Araújo 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. *J. Plant Physiol.* 164: 1639-1647.
- 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.). *J. Hort. Sci.* 69: 161-169.
- 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., Haliwell B.** 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta* 133: 21-25.
- Giannopolis C.N., Ries S.K.** 1977. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59: 309-314.
- Havir E.A., Mchale N.A.** 1987. Biochemical and development characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Physiol. Plant.* 99: 197-209.
- Horton P., Johnson M.P., Perez-Bueno M.L., Kiss A.Z., Ruban A.V.** 2008. Photosynthetic acclimation: Does the dynamic structure and macro-organization of photosystem II in higher plants grana membranes regulate light harvesting states? *FEBS J.* 275: 1069-1079.
- Johnson G.N., Scholes J.D., Horton P., Young A.J.** 1993. Relationship between carotenoid composition and growth habit in British plant species. *Plant Cell Environ.* 16: 681-686.
- Krause G.H.** 1988. Photoinhibition of photosynthesis – an evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.* 74: 566-574

**Kende H., van-der K.E., Cho H.T.** 1998. Deepwater rice: A model plant to study stem elongation in light. *Plant Physiol.* 161: 321-324.

**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. *Am. J. Bot.* 77: 370-380.

**Lichthenthaler H.K.** 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Meth. Enzymol.* 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. *Environ. Exp. Bot.* 47: 239-247.

**Martinez-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 Physiol.* 24: 981-990.

**Mittler R.** 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7: 405-410.

**Morosinotto T., Caffarri S., Dall' Osto L., Bassi L.** 2003. Mechanistic aspects of the xantophyll dynamics in higher plant thylakoids. *Physiol. Plant.* 119: 347-354.

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

**Nakano Y., Asada K.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22: 867-880.

**Osmond C.B.** 1994. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: **Baker N.R., Bowyer J.R.** (Eds.). *Photoinhibition of*

Photosynthesis: from Molecular Mechanisms to the Field. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1-24.

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

**Paiva L.C., Guimarães R.J., Souza C.A.S.** 2003. Influência de diferentes níveis de sombreamento sobre o crescimento de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). *Ciênc. Agrotec.* 27: 134-140.

**Poorter H., Nagel O.** 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plant to different levels of light, CO<sub>2</sub>, nutrient and water: a quantitative review. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 595-607.

**Ramalho J.D.C., Campos P.S., Quartin V.L., Silva M.J., Nunes M.A.** 1999. High irradiance impairments on photosynthetic electron transport, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and N assimilation as a function of N availability in *Coffea arabica* L. plants. *J. Plant Physiol.* 154: 319-326.

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

**Ramalho J.D.C., Quartin V.L., Leitão E., Campos P.S., Carelli M.L.C., Fahl J.I., Nunes M.A.** 2003. Cold acclimation ability and photosynthesis among species of the tropical *Coffea* genus. *Plant Biol.* 5: 631-641.

**Silva E.M., Carvalho G.R., Romaniello M.M.** 2000. Mudas de Cafeeiro: Tecnologia de Produção. Boletim Técnico, n.60. EPAMIG.

**Smirnoff N.** 1995. Antioxidant systems and plant response to the environment. In: **Smirnoff N.** (Ed.). *Environmental and Plant Metabolism – Flexibility and Acclimation*. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 217-243.

**Tennant D.** 1975. A test of a modified line intersects method of estimating root length. *J. Appl. Ecol.* 63: 995-1001.

**Thiele A., Krause G.H., Winter K.** 1998. *In situ* study of photoinhibition of photosynthesis and xanthophyll cycle activity in plant growing in natural gaps of the tropical forest. *Aust. J. Plant Physiol.* 25: 189-195.

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

**Walters R.G.** 2005. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *J. Exp. Bot.* 56: 435-447.

**Yang T., Davies P.J., Reid J.B.** 1996. Genetic dissection of the relative roles of auxin and gibberellin in the regulation of stem elongation in intact light-grown peas. *Plant Physiol.* 110: 1029-1034.