



**RESPOSTAS BIOFÍSICAS, BIOQUÍMICAS E  
ANATÔMICAS DE PLANTAS DE *COFFEA*  
*ARABICA* L. EM CONDIÇÕES  
CONTRASTANTES DE DISPONIBILIDADE  
DE RADIAÇÃO**

**SANDRA LIMA DE OLIVEIRA SILVA**

**2002**

SANDRA LIMA DE OLIVEIRA SILVA

RESPOSTAS BIOFÍSICAS, BIOQUÍMICAS E  
ANATÔMICAS EM PLANTAS DE *COFFEA ARABICA*  
L. EM CONDIÇÕES CONTRASTANTES DE  
DISPONIBILIDADE DE RADIAÇÃO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientadora  
Dra. Ângela Maria Soares

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2002

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Silva, Sandra Lima de Oliveira

Respostas biofísicas, bioquímicas e anatômicas de plantas de *Coffea arabica* L.  
em condições contrastantes de disponibilidade de radiação / Sandra Lima de  
Oliveira Silva. -- Lavras : UFLA, 2002.

45 p. : il.

Orientadora: Ângela Maria Soares.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Coffea arabica*. 2. Consorcio. 3. Fotossíntese. 4. Alocação de nitrogênio. 5.  
Carboidrato. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.73

-583.52

**SANDRA LIMA DE OLIVEIRA SILVA**

**RESPOSTAS BIOFÍSICAS, BIOQUÍMICAS E ANATÔMICAS EM  
PLANTAS DE *COFFEA ARABICA* L. EM CONDIÇÕES  
CONTRASTANTES DE DISPONIBILIDADE DE RADIAÇÃO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do curso  
de Mestrado em Agronomia, área  
de concentração em Fisiologia  
Vegetal, para obtenção do título de  
"Mestre".

**APROVADA em 28 de fevereiro de 2002**

**Prof. Dr. José Donizeti Alves**

**UFLA**

**Prof. Dr. Nelson Delú Filho**

**UFLA**



**Profª. Dra. Ângela Maria Soares**

**UFLA**

**(Orientadora)**

**LAVRAS**

**MINAS GERAIS - BRASIL**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que é meu bom pastor.

Ao meu esposo Antônio pelo amor, carinho, compreensão, incentivo e apoio em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais: Geraldo e Cirlene, meus irmãos: Jeane, Givanildo, Geraldo Jr. e Sirlaine pelo incentivo, apoio, carinho e orações no decorrer desta jornada.

A minha orientadora Profa. Dra. Ângela Maria Soares pela orientação, ensinamentos, apoio irrestrito, incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. Luiz Edson M. de Oliveira, pela coorientação e sorriso entusiasmador a cada dia.

Ao Prof. Nelson Delu, pela colaboração e sugestões críticas valiosas na dissertação.

Ao Prof. Evaristo Castro e alunos da iniciação científica (Érico, Evandro, João Paulo, Leandro, Nicolau, Vinícius), pela ajuda na anatomia.

Aos professores do setor de Fisiologia Vegetal, ao prof. Paulo Cairo e Anselmo (UESB), pela contribuição na minha formação acadêmica.

Ao prof. Humberto Paixão (6<sup>o</sup> série, 1<sup>o</sup> grau), quem me “apresentou” o mundo vegetal.

Aos funcionários do setor de Fisiologia Vegetal, pelo apoio técnico dado a este trabalho. A todos do setor de Fisiologia Vegetal, pelo convívio e amizade.

A todos os meus familiares e amigos pelo incentivo e orações.

Aos colegas de turma: Gabriela, Juliana, Darlan, Cláudio e Erivaldo e aos amigos que aqui fiz: Breno Régis, Cláudia, Izonel, Jorge, Luciano, Raires, Raniere, Silvia e demais colegas, pelo carinho e força na caminhada.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> -----	i
<b>ABSTRACT</b> -----	ii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> -----	1
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> -----	3
2.1 Sombreamento e respostas ecofisiológicas -----	3
2.2 Capacidade fotossintética e nitrogênio foliar -----	7
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> -----	11
3.1 Condições experimentais -----	11
3.2 Características avaliadas -----	11
3.2.1 Potencial hídrico foliar -----	11
3.2.2 Trocas gasosas -----	12
3.2.3 Eficiência fotoquímica do fotossistema II -----	12
3.2.4 Nitrogênio foliar -----	13
3.2.5 Proteínas, Açúcares solúveis totais (AST) e Amido -----	13
3.2.6 Características anatômicas -----	14
3.3 Delineamento experimental -----	15
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> -----	16
4.1 Microclima -----	16
4.2 Potencial hídrico foliar -----	19
4.3 Trocas gasosas e eficiência fotoquímica do fotossistema I I -----	20
4.4 Nitrogênio foliar -----	26
4.5 Açúcares solúveis totais, proteínas e amido -----	29
4.6 Área foliar específica -----	31
4.7 Anatomia foliar -----	32
<b>5 CONCLUSÕES</b> -----	38
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> -----	39

## ABSTRACT

OLIVEIRA-SILVA, Sandra Lima de. Biophysical, biochemical and anatomical response of *Coffea arabica* L. plants in contrasting conditions of available radiation. LAVRAS. UFLA, 2002. 45p (Dissertation – Master in Agronomy – Major Plant Physiology)<sup>2</sup>

This work aimed to evaluate the influence of shading in some biophysical and biochemical characteristics of photosynthetic process and leaf anatomy of *Coffea arabica* L.(cultivar Mundo Novo) plants grown under different conditions of available radiation. The evaluation of gaseous exchange, concentration of leaf nitrogen, total soluble sugar, proteins and starch, and leaf anatomy at three positions in the plants: at the apex, middle, and bottom were realized. Two conditions of cultivation studied were single (sun-PS) and intercropped with rubber tree (shadow-S). The results obtained allowed to conclude the effect of shading by rubber tree were more significant in gaseous exchange than the effect of self shading in coffee plants, the higher values were verified in monocultivate plants at 9 hours (a . m.) . The ratio Fv/Fm indicated that the plants under only sun, at hours of higher radiation and lower vapor pressure were more sensitive to photoinhibition. The results of leaf nitrogen did not show distinctive relation between low availability of energy and photosynthetic response. In general, position of leaves influenced one of the variations in the total soluble sugar concentration, proteins and starch. The leaf structure was influenced by plant position and the system of cultivation, and in the apex for both treatments it were observed higher values for specific leaf area, higher specific leaf area, stomatic density and parenchyma thickness.

---

<sup>2</sup> \*Advising committee: Ângela Maria Soares-UFLA (advisor), Luiz Edson M. de Oliveira - UFLA. (co-advisor)

## RESUMO

OLIVEIRA-SILVA, Sandra Lima de. Respostas biofísicas, bioquímicas e anatômicas de plantas de *Coffea arabica* L. em condições contrastantes de disponibilidade de radiação. LAVRAS: UFLA, 2002. 45p. (Dissertação - Mestre)<sup>1</sup>

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do sombreamento em algumas características biofísicas e bioquímicas do processo fotossintético e na anatomia foliar de plantas de *Coffea arabica* L. (cultivar Mundo Novo) em plantios sob diferentes condições de disponibilidade de radiação. Foram realizadas avaliações de trocas gasosas, concentração de nitrogênio foliar, açúcares solúveis totais, proteínas e amido, e anatomia foliar em três posições na planta: no Ápice, Meio e Base. Foram estudadas duas condições de cultivo: monocultivo (pleno sol- PS) e consórcio com seringueira (sombra- S). Os resultados obtidos permitem concluir que o efeito do sombreamento pela seringueira é mais significativo nas respostas de trocas gasosas que o efeito do auto-sombreamento em plantas de café, sendo os maiores valores verificados em plantas do monocultivo nos horários de 9 horas. A razão Fv/Fm indica que as plantas a pleno sol, em horários de maior radiação e maior déficit de pressão de vapor, são mais sensíveis à fotoinibição. Os resultados de nitrogênio foliar não mostram de maneira nítida uma relação entre a menor disponibilidade de energia e resposta fotossintética. Em geral, a posição das folhas influenciou a variação diurna da concentração de açúcares solúveis totais, proteínas e amido. A estrutura foliar foi influenciada pela posição na planta e sistema de cultivo, sendo que, para o Ápice, em ambos tratamentos, foram observados maiores valores de área foliar específica, densidade estomática e espessura do parênquima

---

<sup>1</sup> \* Comitê Orientador: Ângela Maria Soares- UFLA (Orientadora), Luiz Edson M. de Oliveira- UFLA (Co-orientador).



## 1 INTRODUÇÃO

A espécie *Coffea arabica* L. é originária da Etiópia, onde cresce permanentemente sob sombreamento em florestas tropicais. Embora originalmente seja uma espécie adaptada à sombra, economicamente, no Brasil, o cafeeiro é cultivado a pleno sol. Em alguns países da América Latina, como exemplo a Colômbia, podem ser encontrados cultivos sombreados.

A prática do cultivo do cafeeiro a pleno sol tem apresentado problemas, tais como a super produção e o conseqüente esgotamento das plantas durante os primeiros anos, entretanto com o desenvolvimento da cultura, o auto-sombreamento diminui esse efeito. Essas observações indicam um potencial de aclimação dessa espécie em resposta a diferentes níveis de disponibilidade de radiação.

A periodicidade do crescimento vegetativo do cafeeiro está associada a diversos fatores do ambiente como, temperatura, fotoperíodo, energia radiante, oferta de água e de nutrientes. Em relação à produção, pode-se dizer que esta responde ao padrão de crescimento, à eficiência fotossintética e à atividade reprodutiva, podendo também ser influenciada pela arquitetura da planta, envolvendo assim características morfológicas e de partição de assimilados.

Os efeitos de diferentes intensidades luminosas na produção do café têm sido estudados por diversos pesquisadores, porém há uma certa carência na abordagem desse tema procurando associar a taxa fotossintética e a alocação de nitrogênio ao longo da planta. Alguns estudos têm enfatizado o comportamento das trocas gasosas em condições extremas de sol e sombra, em plantas jovens, cultivadas em casa de vegetação. Entretanto, o meio ambiente natural apresenta uma larga heterogeneidade temporal de radiação, que apresenta importantes implicações na fisiologia da planta.

Com a hipótese de que existe uma relação entre a disponibilidade de radiação, às respostas fisiológicas associadas ao processo fotossintético, à alocação de nitrogênio e à estrutura foliar, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência do sombreamento em algumas características biofísicas e bioquímicas do processo fotossintético e na anatomia foliar de plantas de *Coffea arabica* L. em plantios sob diferentes condições de disponibilidade de radiação.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Sombreamento e respostas ecofisiológicas

A fotossíntese líquida é influenciada por fatores ambientais e por fatores relacionados com a planta, tais como sua morfologia, estrutura e idade da folha. Altos e baixos níveis de radiação durante o desenvolvimento da folha resultam em características morfológicas, histológicas, estruturais e bioquímicas, as quais condicionam o comportamento das trocas gasosas.

Os estudos referentes à adaptação de plantas a ambientes de sol ou de sombra ressaltam que a seleção natural de plantas favorece àquelas cuja forma e fisiologia tende a maximizar suas taxas líquidas de captura de energia (Kitagima, 1994). Em geral, é conhecido que plantas que se desenvolvem sob condições de alta intensidade de luz, em seu habitat natural, têm alta capacidade fotossintética em ambientes similares, porém, apresentam baixas taxas fotossintéticas quando comparadas com plantas de sombra em baixa intensidade de radiação (Boardman, 1977; Ueda, et al., 2000). Uma baixa taxa de respiração, apresentada por folhas de sombra, compensa consideravelmente a redução do ganho de carbono nessa condição de baixa luminosidade.

Proietti et al. (2000), ao estudarem em diferentes períodos do ano os efeitos do auto-sombreamento na variação diurna da fotossíntese, em castanheiras, verificaram diferenças nas taxas fotossintéticas observadas no ápice, meio e base da planta, em função da época avaliada e horário, sendo verificado que as maiores taxas ocorrem no período da manhã, decrescendo progressivamente à tarde.

Quando plantas que se desenvolvem em ambientes sombreados são expostas a altas intensidades de radiação, observa-se uma redução na

fotossíntese (Kozlowski, Kramer & Pallardy, 1991). O efeito da radiação excessiva pode ser minimizado por movimentos de escape, como o posicionamento da folha em um determinado ângulo com a radiação incidente, de forma que a folha receba menos energia solar, e também, pelo movimento dos cloroplastos nos tecidos de assimilação. A espessa parede celular nos tecidos da epiderme e da hipoderme age como filtro capaz de modificar a radiação direta em luz difusa, minimizando o efeito da radiação intensa (Larcher, 2000).

A fotoinibição ocorre quando uma folha é exposta a uma alta radiação e é manifestada como uma redução na eficiência quântica e uma conseqüente redução no ganho potencial de carbono. A fluorescência da clorofila *a* mostra-se como uma eficiente metodologia para o estudo de danos associados à fotoinibição. Fahl (1989) indica que uma diminuição na disponibilidade de nitrogênio pode provocar fotoinibição em folhas de café. Esse fenômeno é verificado quando há um declínio na produção quântica fotossintética e um decréscimo na razão  $F_v/F_m$ , que representa uma avaliação da eficiência fotoquímica do fotossistema II (Nunes, Ramalho & Dias, 1993).

Layne & Flore (1993) estudando a fotoinibição e alterações na concentração de carboidratos em plantas de *Purnus cerasus* L. em condições de luminosidade contínua, observaram que esta condição provoca alterações nas concentrações de carboidratos no nível foliar (acúmulo de amido e redução nas concentrações de sacarose e sorbitol). Entretanto, esses autores ressaltam que não se sabe se o acúmulo de amido é responsável pela fotoinibição verificada nessas condições de iluminação contínua.

Diversos estudos têm demonstrado que o número, a distribuição, o tamanho, a forma e o movimento dos estômatos respondem às modificações do meio associadas à radiação, à umidade do ar e do solo. Embora sendo características da espécie, tais respostas podem alterar em função de adaptações às condições locais, podendo variar mesmo de indivíduo para indivíduo.

Gutiérrez, Menzer & Grantz (1994), avaliando a regulação da transpiração em plantas de café, em cultivos adensados em diferentes estágios de desenvolvimento da copa, ao longo do dia, observaram uma forte relação entre condutância estomática, transpiração e níveis de radiação fotossinteticamente ativa.

Taxas fotossintéticas e de transpiração são geralmente reduzidas em partes sombreadas da planta. Em folhas de *C. arabica* houve variação na condutância estomática e na relação da taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>/condutância estomática, que expressa a eficiência intrínseca do uso da água, com o nível de irradiância (Carelli et al., 1999). A fotossíntese diminui devido à redução de fótons absorvidos e, conseqüentemente, com uma queda na taxa de transporte de elétrons no cloroplasto (Pons & Bergkotte, 1996).

Correia et al. (1999) afirmam que uma combinação da taxa de regeneração da RuBP e a redução na atividade e ou na quantidade da enzima de carboxilação resultam num acréscimo do carbono interno (Ci). O aumento do Ci sugere que reduções na fotossíntese ocorrem mais devido a um aumento na resistência não estomática que ao fechamento estomático.

Muitas plantas em resposta a um estresse não específico mantêm seus estômatos abertos e a turgescência foliar através do ajustamento osmótico. Este equilíbrio osmótico é mantido por compostos orgânicos. Mendes, Gazarini & Rodrigues (2001) estudando a aclimatação da espécie *Myrtus communis* em ambientes com diferentes níveis de radiação, encontraram diferenças significativas na concentração de açúcares, sendo alta em folhas de sombra quando comparadas com folhas de sol, não diferindo quanto à concentração de amido para os dois níveis de radiação. Comportamento semelhante foi encontrado por Sousa (2000), trabalhando com cultivares de café em diferentes níveis de radiação em condições de viveiro e casa de vegetação,, sendo que as

maiores concentrações de açúcares foram obtidas em condições de redução de 30% da radiação solar.

Grandes variações temporal e espacial ocorrem no uso de reservas e na produção constante de carboidratos no metabolismo da copa, caules, raízes e estrutura de reservas. O transporte de carboidratos apresenta variações na sua direção de acordo com a força do dreno vegetativo, sendo estes alterados durante períodos de crescimento reprodutivo com uma concomitante inibição do crescimento vegetativo. A taxa de importação de carboidratos, por um dreno específico, pode ser alterada por mudanças na força do dreno ou por competição entre drenos. Em plantas cultivadas produtoras de grãos, as folhas mais próximas ao solo abastecem o sistema radicular e as mais próximas ao ápice suprem os meristemas da parte aérea (Larcher, 2000). Plantas superiores acumulam carboidrato não estrutural durante períodos de excesso de produção e gastam estas reservas quando as taxas de utilização excedem a taxa de produção (Kozłowski, 1992).

A área foliar é uma característica muito utilizada na avaliação da tolerância das espécies ao sombreamento. Em geral, o incremento da área foliar com o sombreamento é uma das maneiras da planta aumentar a superfície fotossintética, assegurando um aproveitamento mais eficiente das baixas intensidades luminosas e, conseqüentemente, compensar as baixas taxas de fotossíntese por unidade de área foliar características das folhas de sombra (Boardman, 1977). Segundo este mesmo autor, a estrutura interna da folha também se altera conforme a quantidade de radiação disponível. Geralmente observa-se que as folhas de sol são menores e mais espessas que às folhas de sombra caracterizadas por uma maior área foliar específica (Naves, Alvarenga & Oliveira, 1994; Strauss-Debenedetti & Berlyn, 1994; Castro, Alvarenga & Gomide, 1996).

Estudos comparando estrutura foliar têm mostrado que muitas espécies possuem a capacidade de adaptar anatomicamente suas folhas quando crescidas em níveis diferentes de radiação. Entre diversos outros autores, Cui, Vogelmann & Smith (1991) observaram que houve uma adição de camada de células tanto no tecido paliçádico quanto no esponjoso de folhas de sol da espécie *Spinacia oleracea* quando comparadas com as folhas de sombra da mesma espécie.

A frequência estomática nas folhas pode ser alterada dependendo do nível de sombreamento ao qual as folhas estiverem expostas (Castro et al., 1998). Voltan, Fahl & Carelli (1992), em estudo com folhas de café submetidas a diferentes intensidades luminosas, observaram que o número de estômatos da epiderme decresceu linearmente com o nível de luz e que houve também um aumento na espessura das epidermes adaxial e abaxial nas plantas sombreadas. Em relação às espessuras dos parênquimas paliçádico e lacunoso, houve um decréscimo destes de acordo com o nível de irradiância, ocorrendo um menor adensamento das células do parênquima nas folhas de plantas sombreadas.

## **2.2 Capacidade fotossintética e nitrogênio foliar**

O nitrogênio representa uma pequena fração da biomassa da planta (aproximadamente 3% da matéria seca). Esta concentração em diferentes tecidos da planta é um fator altamente limitante para o crescimento e produtividade, pois esse elemento é um controlador de diversos processos na planta, tais como, distribuição da matéria seca em diferentes partes da planta (Levin, Mooney & Field, 1989), e na assimilação de carbono através da fotossíntese (Field & Mooney, 1986; Gastal & Saugier, 1989; Reich et al., 1991; Nijs, Behaeghe & Impens, 1995).

O N foliar é um bom indicador da capacidade de carboxilação e do transporte de elétrons da folha. Esta resposta linear pode ser explicada por um

simples efeito de massa: maior disponibilidade de N sugere um aumento no nitrogênio foliar, paralelamente, um investimento em compostos fotossintéticos como proteínas dos tilacóides e enzimas envolvidas no ciclo de Calvin (Nijs, Behaeghe & Impens, 1995; Traw & Ackerly, 1995; Ramalho et al., 1997; Hirose & Werger, 1987; Evans 1989a; Lu & Zhang, 2000). Em função da interação entre o metabolismo do N e do C, estudos de mudanças ambientais que afetam a assimilação de C deveriam levar em conta o fluxo deste nutriente na planta. Muitas espécies mostram um considerável decréscimo do nitrogênio foliar após longa exposição a concentrações elevadas de CO<sub>2</sub>, pelo menos quando expressadas em matéria seca. Este decréscimo pode coincidir com a diminuição da área foliar específica, sendo que, qualquer decréscimo no N foliar, geralmente, reduz a capacidade fotossintética da folha.

Uma cobertura vegetal fechada funciona como um sistema de assimilação, no qual as camadas de folhas estão sobrepostas e se sombreiam mutuamente. Variações no nível de radiação e na concentração de nitrogênio são estudadas correlacionando-as com a posição foliar ao longo do caule, sendo que correlações positivas entre estas variáveis têm sido demonstradas para algumas espécies (Traw & Ackerly, 1995; Hirose et al., 1988). Segundo esses autores, o ganho de carbono em plantas é maximizado quando as folhas estão presentes em ambientes com alta luminosidade e têm grandes concentrações de nitrogênio favorecendo, conseqüentemente, uma grande capacidade fotossintética. Sendo assim, a capacidade fotossintética da folha depende da concentração de nitrogênio e da luminosidade durante o crescimento. Na maioria das espécies, a taxa fotossintética líquida apresenta um considerável declínio quando há uma diminuição do conteúdo de nitrogênio foliar (Evans, 1989b; Tan & Hogan, 1995).

Muitos estudos têm demonstrado que a deficiência no fornecimento do nitrogênio, comparada a plantas controles, decresce significativamente a



capacidade de assimilação do carbono. O decréscimo na assimilação de carbono pode estar associado tanto a uma diminuição na concentração e da atividade da Rubisco, como com o decréscimo na síntese de enzimas chaves envolvidas no ciclo de Calvin. Segundo Lu & Zhang (2000), plantas crescendo com deficiência de nitrogênio são mais susceptíveis a danos no aparelho fotossintético quando transferidas para locais com alta radiação, reduzindo a assimilação de carbono.

A atividade da enzima redutase do nitrato é estimulada pela citocinina, sendo regulada pela alternância dos períodos de luz e escuro ao longo do dia, apresentando o pico de atividade coincidente com a metade do período de luz (Layzell, 1990). A participação direta da radiação no sistema de redução do nitrato parece estar associada à produção de ATP durante o transporte fotossintético. Alves (1985) sugere que um possível controle da luz sobre a redutase do nitrato, em cafeeiros jovens e em cafeeiros adultos submetidos a 31°C, seja independente da fotossíntese. É interessante ressaltar a relação entre níveis de citocinina e a luminosidade. Observa-se que os níveis de citocinina decrescem em folhas, caules e raízes durante o período escuro e aumentam no período de luminosidade, acumulando na parte apical durante o escuro (Machácková et al, 1996).

A taxa transpiração também influencia na alocação de N (Pons & Bergkotte, 1996). Essa constatação sugere que a redução da transpiração em folhas sombreadas é um importante fator na regulação da exportação de N a partir das folhas completamente expandidas. Segundo Wendler & Millard (1995), a remobilização do N, a partir das proteínas de estoque, pode contribuir para o crescimento da folha e que essa eficiência no uso do N, por árvores durante o crescimento, pode ser regulada pelos fatores ambientais, entre eles a disponibilidade de água.

Fahl et al (1994), estudando o efeito de diferentes níveis de radiação e nitrogênio na taxa fotossintética líquida de plantas jovens de café, concluíram

que esta espécie pode ser classificada como facultativa à sombra, exibindo características adaptativas quando em ambientes com sol ou com sombra, sendo esta transição fortemente influenciada pelo fornecimento de adubação nitrogenada.

Apesar da importância da radiação e da disponibilidade de nitrogênio para o crescimento e produção do cafeeiro, existem poucas referências na literatura que abordem as alterações existentes entre intensidade de radiação solar, taxa fotossintética e alocação do nitrogênio ao longo de plantas de café em diferentes condições de cultivo, o que justifica o interesse deste estudo.

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Condições experimentais

A área de estudo está situada na fazenda experimental do Ministério da Agricultura no município de Varginha – MG, a 864 m de altitude, latitude 21° 33' 10"S e longitude 46° 26' 20"W GRW. As avaliações foram realizadas em cafeeiros, cultivar Mundo Novo, com 16 anos de idade, em monocultivo e em consórcio com seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) também de 16 anos de idade. Assim foram definidos dois tratamentos distintos em termos de disponibilidade de energia:

- Pleno sol (PS) – monocultivo
- Sombra (S) – consórcio

As avaliações foram feitas em um dia típico, isto é, predominantemente claro, da estação chuvosa de 2001 (25/11), após um período chuvoso. Nos dez dias que antecederam a data de avaliação, foi observado um total 87,0 mm de precipitação na área experimental.

### 3.2 Características avaliadas

#### 3.2.1 Potencial hídrico foliar

O potencial hídrico foi medido em folhas situadas na parte mediana da planta, antes do nascer da manhã, ao meio dia solar e às 15 horas (hora solar), utilizando a câmara de pressão Soil Moisture - Modelo 3005. Foram avaliadas 4 plantas e uma folha por planta.

### **3.2.2 Trocas gasosas**

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas com o uso analisador portátil de CO<sub>2</sub> a infravermelho (IRGA), modelo ADC-LCA-4 (Hoddesdon, UK). Foram feitas medidas das seguintes características: taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA), concentração de CO<sub>2</sub> intracelular (Ci), temperatura foliar, temperatura e umidade relativa da câmara. Através dos valores de Ci, A e E, foram calculadas a eficiência do uso da água e a eficiência de carboxilação instantâneas, definidas pelas razões A/E e A/Ci, respectivamente. A partir das informações de umidade relativa e temperatura da câmara, foi determinado o déficit de pressão de vapor da atmosfera na câmara (DPV). Foram realizadas medições às 9:00, 12:00 e 15:00 horas (hora solar), em folhas completamente expandidas, situadas no ápice, meio e base da planta. Foram feitas avaliações em 4 plantas, sendo uma folha por planta em cada posição avaliada (Ápice, Meio e Base).

### **3.2.3 Eficiência fotoquímica do fotossistema II**

A eficiência fotoquímica do fotossistema II foi avaliada utilizando o fluorômetro PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, Norkfolk, UK), através da razão Fv/Fm, na qual Fv representa a fluorescência variável e Fm a fluorescência máxima. As avaliações foram feitas após 30 minutos de adaptação das folhas ao escuro com auxílio de “clipes” foliares, nos mesmos horários das medidas de trocas gasosas. Foram feitas avaliações em 4 plantas, sendo uma folha por planta em cada posição avaliada (Ápice, Meio e Base), nas mesmas folhas utilizadas para as avaliações de trocas gasosas.

### **3.2.4 Nitrogênio foliar**

Folhas coletadas, completamente expandidas, situadas nas mesmas posições descritas para as avaliações de trocas gasosas. Antes de proceder a secagem em estufa de circulação forçada de ar à 70°C/ 48 h, foi determinada a área foliar através de medidas de comprimento e largura.

O nitrogênio foliar foi determinado pelo método micro-Kjeldahl, sendo a digestão e destilação realizadas no Laboratório de Metabolismo e Biologia Molecular do Setor de Fisiologia Vegetal da UFLA e a titulação realizada no Laboratório de Análise Foliar do Departamento de Ciências do Solo da UFLA. Os resultados obtidos foram expressos em base de porcentagem na matéria seca e área foliar.

### **3.2.5 Proteínas, Açúcares solúveis totais (AST) e Amido**

Para cada 500 mg do material seco e moído, foram adicionados 20 ml de água para extração de proteínas e açúcares solúveis totais. As amostras foram levadas para banho-maria à 40°C por 1 hora, sob agitação constante. Após este período, o material foi levado para centrifugação a 20.000 g por 20 minutos. O sobrenadante foi coletado para análise de proteínas e açúcares.

O precipitado foi ressuspenso com 4 ml de ácido perclórico a 30% (v/v) por 20 minutos, levado para centrifugação, coletado o sobrenadante e armazenado em outro recipiente, sendo repetido este processo por mais uma vez. Os dois sobrenadantes foram combinados e o volume final completado para 100 ml, utilizando-se esse extrato para a determinação do conteúdo de amido pelo método dos açúcares redutores (Muller, 1959).

A determinação de proteínas foi realizada pelo método Bradford (1976). Aliquotas de 100 µL do extrato foram tomadas e combinadas com 5 ml do reagente Comassie. As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 595 nm.

Para quantificação de AST, foi utilizada a metodologia descrita por Yemm & Willis (1954). Para uma alíquota de 10 µL, do extrato adicionaram-se 990 µL de água destilada e 2 ml do reagente antrona, sendo levados para o banho-maria por 3 minutos. Após agitação, as amostras foram levadas para leitura no espectrofotômetro a 620 nm.

### **3.2.6 Características anatômicas**

Foram coletadas folhas totalmente expandidas, aleatoriamente, nas posições de avaliação, e (ápice, meio e base) todo material coletado armazenado durante 48 horas, em uma solução de FAA composta por formol, água e álcool 70% (v/v) depois fixadas em álcool 70% até o dia das análises (Johansen, 1940).

Os cortes transversais foram realizados a mão livre com o auxílio de uma lâmina de barbear e submetidos ao processo de coloração com Safranina - Azul de astra (Bukatsh, 1972). Os cortes foram montados em lâminas semi-permanentes com água glicerinada.

Para as avaliações relativas à caracterização dos estômatos (número médio por mm<sup>2</sup>, diâmetro polar e equatorial), foram feitos cortes paradérmicos manuais, utilizando-se uma lâmina de barbear. Os cortes foram realizados na região mediana das folhas na epiderme da face abaxial e colocados sobre uma lâmina com safranina e água glicerinada. As observações foram realizadas com auxílio de câmara clara, em microscópio Olympus CBB, segundo a técnica de Labouriau, Oliveira & Salgado-Labouriau (1961). Em cada região da lâmina foliar, foram observados 4 campos, totalizando 40 campos por tratamento (dez folhas por tratamento).

As fotomicrografias foram realizadas utilizando-se um fotomicroscópio Olympus BX-60, do Laboratório de Citologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras – UFLA.

### **3.3 Delineamento experimental**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC). As coletas de dados foram realizadas em quatro plantas, constituindo assim, quatro repetições. Foi avaliado, ao longo do dia, ápice, meio e base de cada planta, sendo as avaliações realizadas em folhas do segundo ou do terceiro internódio, portanto completamente expandidas. Para análises estatísticas, utilizou-se o programa SISVAR e para os testes de médias foram aplicados testes de Tukey a 5%.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Microclima

A variação diurna da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA), temperatura foliar e déficit de pressão de vapor (DPV) referentes às plantas submetidas aos tratamentos Pleno sol (PS) e Sombra (S) está apresentada na Figura 1. Esses resultados permitem observar que o sombreamento pela seringueira, nas plantas de cafeeiro, causou alterações microclimáticas não só em relação ao sistema de cultivo, mas afetando também essas características ao longo da planta (Ápice, Meio e Base).

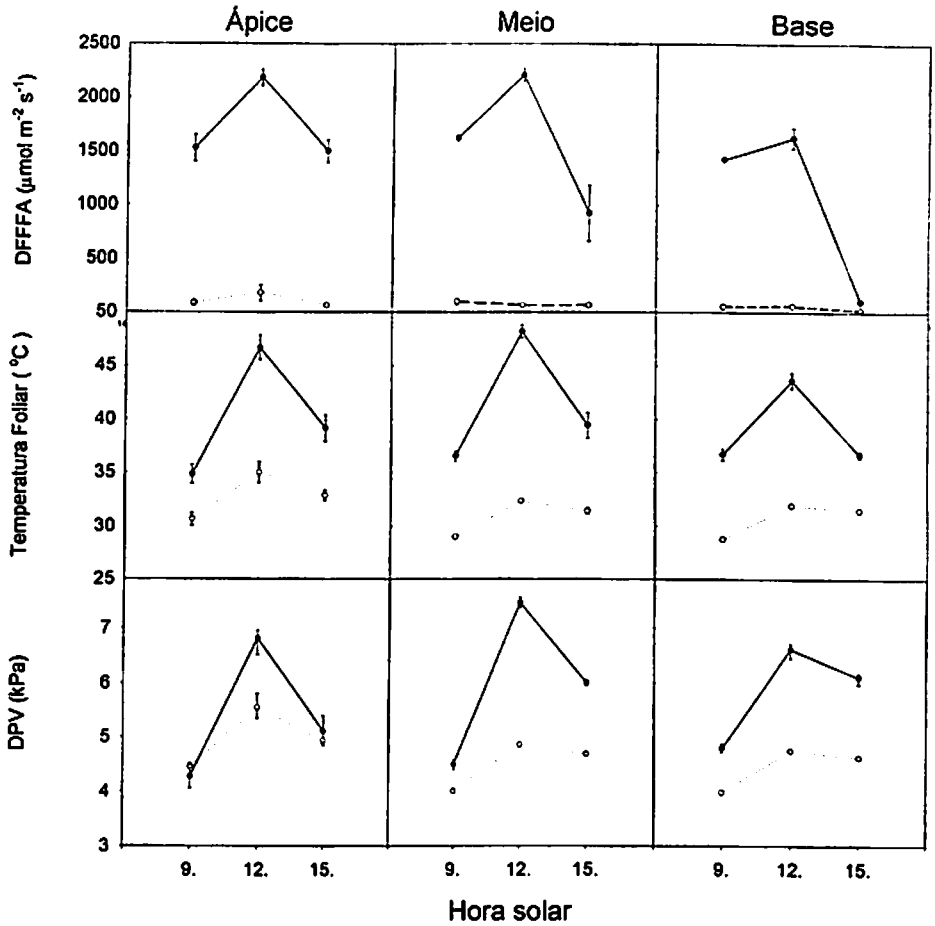
Nota-se que é mais nítido o efeito do sombreamento pela seringueira no tratamento S, que o efeito do auto-sombreamento no PS. As plantas submetidas ao tratamento PS apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nos valores de DFFFA para os três horários, sendo os maiores valores observados às 12 horas e os menores valores às 15 horas especialmente para parte mediana e a base da planta. Observa-se que, nas partes inferiores da planta, essas variações são mais acentuadas, enquanto que para as plantas em consórcio verifica-se pouca variação de DFFFA ao longo do dia para as diferentes partes da planta, revelando assim um efeito mais significativo do sombreamento associado ao sistema de cultivo que ao auto-sombreamento. Segundo Fahl et al (1994), o cafeeiro apresenta uma variação da radiação de saturação entre 300 a 600  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , entretanto Kumar & Tieszen (1980) afirmam que radiação entre 1200 e 1300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  não afeta o aparelho fotossintético de plantas de café.

A temperatura foliar das plantas de cafeeiro em ambos tratamentos, pleno sol e sombreado, apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) ao longo do dia, sendo seus maiores valores alcançados às 12 horas e os menores às 9



horas. Perde-se assim que, de maneira similar ao comportamento da DFFFA, as maiores variações ocorrem em condições de pleno sol. Resultados semelhantes foram obtidos por Kumar & Tieszen (1980a) estudando o efeito da radiação e da temperatura na fotossíntese em *Coffea arabica*. Estes observaram que o aumento da radiação provocava um aumento na temperatura das folhas. Em relação à posição na planta, as folhas do Meio no tratamento pleno sol apresentaram maiores valores de temperatura foliar enquanto que os menores valores nesse são observados na Base. Para as condições de consórcio (Sombra), os maiores valores ocorrem no Ápice e os menores na Base.

O déficit de pressão de vapor (DPV), que está associado à temperatura e umidade relativa do ar, apresentou em ambos tratamentos um comportamento semelhante ao da DFFFA, variando do dia nas três posições da planta, atingindo os maiores valores às 12 horas e os valores mínimos às 9 horas. As folhas em condições de pleno sol (PS) são caracterizadas por um maior DPV ( $p < 0,05$ ) que para as condições de sombreamento. Entre os tratamentos foi observado que a parte Meio, das plantas submetidas ao tratamento pleno sol, apresentou o maior valor de DPV e o Ápice o menor; já nas plantas submetidas ao tratamento S, a parte Ápice apresentou o maior valor e a Base o menor. Essa observação pode ser explicada devido a maior exposição do Ápice à radiação que as demais partes das plantas.

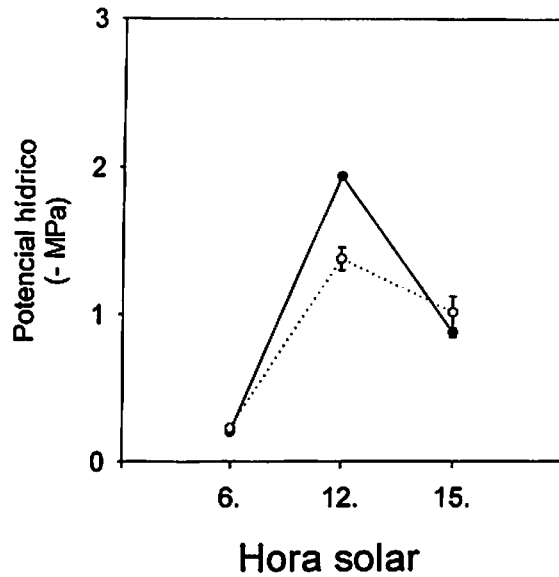


**Figura 1.** Variação diurna da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA), temperatura foliar e do déficit de pressão de vapor (DPV) em diferentes partes de plantas de cafeeiro, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol) e consórcio com seringueira (Sombra) na região de Varginha- MG. Cada ponto corresponde à média  $\pm$  erro padrão de 4 observações. Pleno sol (•) e Sombra (o).

## 4.2 Potencial hídrico foliar

Os valores de potencial hídrico foliar medidos na parte mediana de plantas de cafeeiro às 6, 12 e 15 horas, estão apresentados na Figura 2. Ao longo do dia, foram verificadas diferenças entre os horários avaliados, sendo no horário das 12 horas, encontrados os menores valores de potencial hídrico foliar (-1,9 MPa para PS e -1,4 MPa para S) e os maiores valores às 6 horas próximos de -0,2 MPa para ambos tratamentos. Esse comportamento responde diretamente às variações do DPV e de DFFFA ao longo do dia. Resultados semelhantes foram obtidos por Kumar & Tieszen (1980b) ao avaliarem as variações diurnas no potencial hídrico foliar em plantas de *Coffea arabica*.

Ressalta-se ainda que os valores de potencial hídrico foliar observados no início do dia caracterizaram condições não limitantes de oferta de água em ambos tratamentos. O valor de potencial hídrico foliar verificado ao meio dia é superior ao potencial crítico para cafeeiro (-2,4 MPa), que segundo Da Matta et al. (1993) corresponde a -2,4 MPa.



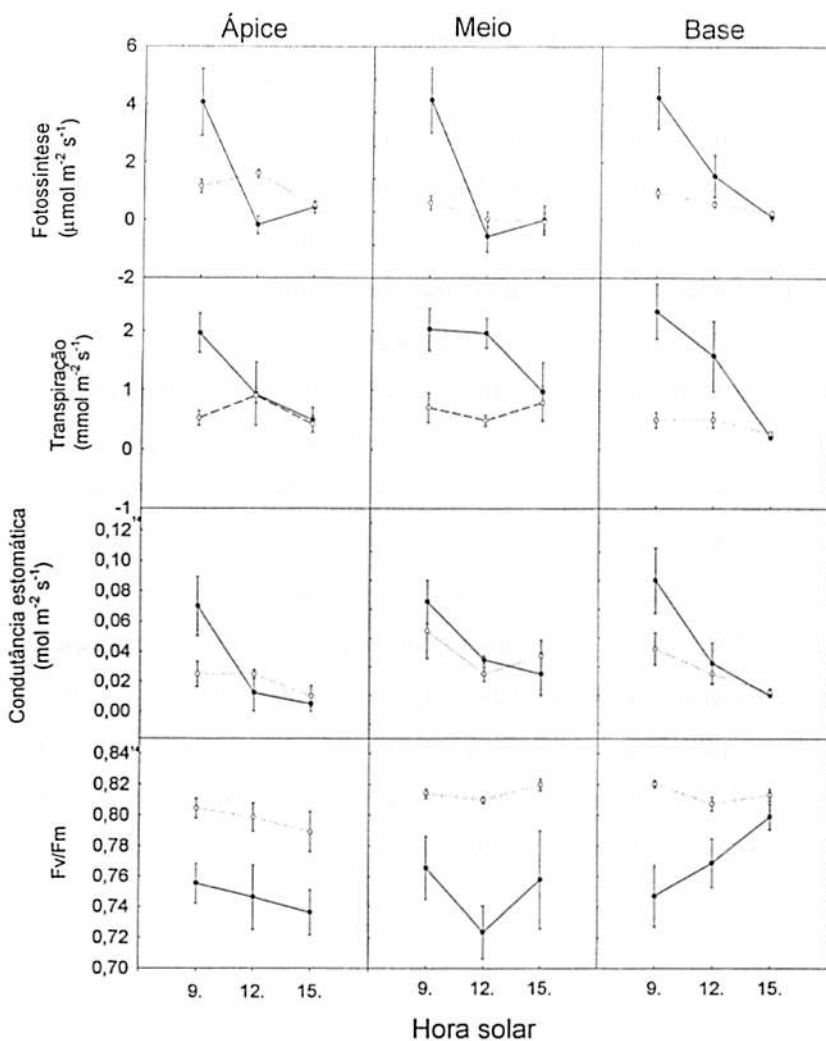
**Figura 2.** Variação diurna do potencial hídrico de folhas da parte mediana de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol) e consórcio com seringueira (Sombra) na região de Varginha- MG. Cada ponto corresponde à média  $\pm$  erro padrão de 4 observações. Pleno sol (•) e Sombra (o).

#### 4.3 Trocas gasosas e eficiência fotoquímica do fotossistema II

Pode-se observar na Figura 3 os resultados das avaliações de trocas gasosas em plantas de café submetidas aos tratamentos pleno sol e sombreado. A análise desses resultados mostra que o efeito do sombreamento foi significativo para a fotossíntese, sendo observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) ao longo do dia, atingindo os maiores valores às 9 horas (PS-  $4,23 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e S-  $1,13 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e os menores às 15 horas para S ( $0,47 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e atingindo mesmo valores negativos ao meio dia em condições de pleno sol.

Ao longo da planta, para as partes avaliadas não foram observadas diferenças significativas. Kumar & Tieszen (1980a) relataram que folhas de plantas crescidas em casa de vegetação tiveram uma redução na atividade fotossintética, da ordem de um quarto em relação às plantas cultivadas em condições de campo. Entretanto, deve-se ressaltar que folhas de sombra respiram com menos intensidade que folhas de sol, compensando, consideravelmente a redução do ganho de carbono nessa condição de fraca radiação.

O comportamento da transpiração é semelhante ao observado para fotossíntese, sendo verificados, em geral, os maiores valores no início do dia. Apenas o tratamento PS apresentou diferenças ao longo do dia, atingindo o maior valor às 9 horas ( $2,11 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e o menor valor às 15 horas ( $0,56 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Ao longo da planta, o Meio (PS-  $1,66 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e S-  $0,66 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) foi a parte que apresentou maiores valores, embora não apresentasse diferenças significativas entre as demais partes no mesmo tratamento. Em geral, a transpiração responde de maneira nítida as variações da condutância estomática, sendo esse fato associado às variações de DPV e da DFFFA, como pode ser observado na Figura 1.



**Figura 3.** Variação diurna da fofossíntese, transpiração, condutância estomática e eficiência fotoquímica do fofossistema II (Fv/Fm), em diferentes partes de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol) e consórcio com seringueira (Sombra) na região de Varginha- MG. Cada ponto corresponde à média  $\pm$  erro padrão de 4 observações. Pleno sol (•) e Sombra (o).

Não foram observadas diferenças significativas na média geral da condutância estomática entre as plantas nos tratamentos pleno sol e as plantas no tratamento sombreado. Apenas o tratamento PS apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os horários, sendo os maiores valores encontrados às 9 horas e os menores às 15 horas. Em relação à posição na planta, não foram encontradas diferenças significativas, sendo que o Meio apresentou os maiores valores. A condutância estomática é diretamente proporcional à abertura estomática. Resultados semelhantes foram obtidos por Carelli et al., (1999) trabalhando com níveis de irradiância em café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*).

Geralmente, os estômatos reagem de maneira a manter constante a pressão parcial interna de  $\text{CO}_2$  em relação à pressão externa, sendo esta concentração definida pelo balanço entre o consumo (fotossíntese) e a reposição (fluxo externo, respiração, fotorrespiração) do  $\text{CO}_2$ . Ramos & Grace (1990), estudando o efeito da sombra nas trocas gasosas de plantas jovens de algumas espécies arbóreas, observou que a condutância estomática pode diminuir com o aumento da temperatura foliar e do DPV. É observada uma alteração entre nas trocas gasosas quando o nível de radiação é alterado.

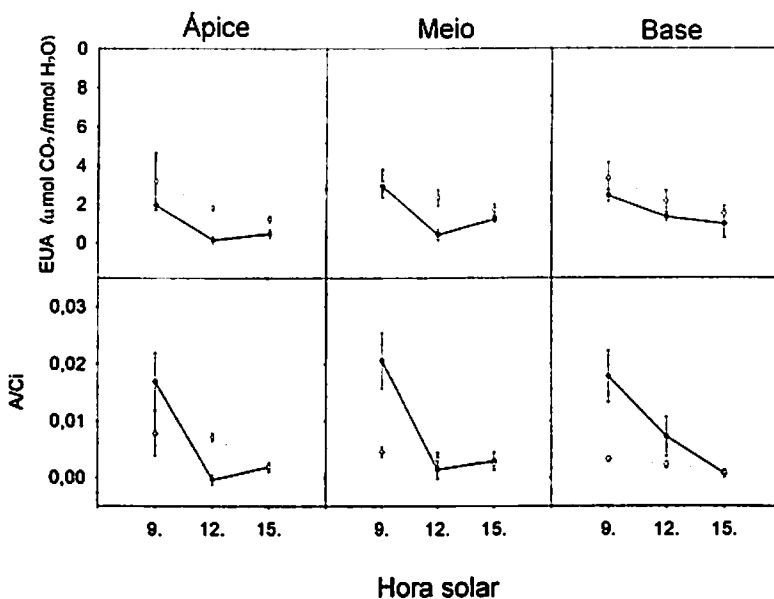
Em relação à razão  $F_v/F_m$ , observam-se diferenças significativas para as plantas submetidas aos tratamentos pleno sol e sombreado. Entretanto, não há diferenças entre os três horários estudados. Em relação à posição na planta apenas em condições de pleno sol, observam-se diferenças, sendo que a Base apresentou a maior razão  $F_v/F_m$  (0,77) e o Ápice a menor (0,75). A Base deste tratamento (PS) apresentou uma variação crescente, não sendo, significativamente diferente, ao longo do dia (9 horas - 0,75 e 15 horas - 0,80). Entretanto esse comportamento não está associado ao observado para fotossíntese na mesma posição. O Meio (PS), no horário das 12 h (0,72), apresentou os menores valores de  $F_v/F_m$  embora não seja diferente

significativamente em relação aos demais horários observados na mesma parte. Sendo observado também neste horário uma maior radiação e maior temperatura foliar. Nota-se também que este valor apresenta um aumento acentuado, com a diminuição da radiação, após este horário. Os resultados da razão  $F_v/F_m$  nas plantas do tratamento PS mostram que os valores entre 0,72 e 0,76 estão associados a um declínio da fotossíntese. Contudo, a recuperação da fotossíntese, após o horário das 12 h, pode indicar que níveis de radiação mais elevados ao longo do dia ( $1700$  e  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) não causaram danos irreversíveis no aparelho fotossintético das plantas.

É interessante notar que as plantas submetidas aos tratamentos PS e S apresentaram respostas semelhantes entre a razão  $F_v/F_m$  e a fotossíntese com exceção da Base (PS), que apresentou um aumento significativo ao longo do dia com a redução da radiação (Figura 1). Pode também ser observado uma relação inversa entre a razão  $F_v/F_m$  e a DFFFA entre estes tratamentos.

Na Figura 4, são apresentados os dados de eficiência no uso da água (EUA) e eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ), observados nas plantas submetidas aos tratamentos pleno sol e sombra. Observa-se que os resultados da EUA mostram um comportamento semelhante entre as plantas submetidas aos diferentes tratamentos, sendo que as plantas sombreadas apresentaram maior EUA quando comparados às plantas a pleno sol, porém não há diferenças significativas, sugerindo que menores níveis de radiação, que poderiam contribuir para uma menor transpiração ou maior fotossíntese no cafeeiro, nas condições desse estudo, não alteram a EUA. As plantas em ambos tratamentos (PS e S) apresentaram, ao longo do dia, um decréscimo na EUA, em resposta a um decréscimo da fotossíntese e da transpiração. Ressalta-se também que não foram observadas diferenças entre as partes avaliadas. Pode-se observar que a EUA alcança os maiores valores durante as primeiras horas do período da manhã, associados a uma maior fotossíntese.





**Figura 4.** Variação diurna da eficiência no uso da água (EUA) e eficiência de carboxilação (A/Ci) em diferentes partes de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol) e consórcio com seringueira (Sombra) na região de Varginha- MG. Cada ponto corresponde à média  $\pm$  erro padrão de 4 observações. Pleno sol (●) e Sombra (○).

Quando os estômatos estão totalmente abertos, a absorção de  $\text{CO}_2$  é mais limitada pela resistência de transferência deste que pela perda de água por transpiração. A melhor relação entre absorção de  $\text{CO}_2$  e perda de água é alcançada quando os estômatos estão parcialmente fechados. Com os estômatos praticamente fechados, a razão fotossíntese/transpiração reduz rapidamente, pois a entrada do  $\text{CO}_2$  sofre mais restrições que a transpiração via estômatos e a perda de água na forma de vapor continua ocorrendo através da cutícula (Larcher, 2000).

Observa-se que houve diferenças nos resultados da eficiência de carboxilação (A/Ci) entre as plantas nos tratamentos pleno sol e sombra. As plantas do tratamento pleno sol, com o aumento da radiação, atingiram seus maiores valores da razão A/Ci no horário da 9 horas, apresentando uma redução ao longo do dia, devido às altas taxas respiratórias e à redução das taxas fotossintéticas, o que promove um aumento da concentração de carbono intercelular, nas três partes estudadas. Foram também observados, neste horário (9 horas), maiores valores para fotossíntese em todas as partes das plantas submetidas a esse tratamento (PS). Correia (1999), trabalhando com milho, observou que um aumento na concentração de Ci associada a uma redução da fotossíntese evidencia uma limitação não estomática do processo fotossintético.

#### **4.4 Nitrogênio foliar**

Os resultados referentes à concentração de nitrogênio foliar das plantas a pleno sol e sombreadas são apresentados na Figura 5. Observa-se que as plantas submetidas aos tratamentos pleno sol e sombra apresentaram diferenças significativas entre si, sendo que as plantas de sombra (S- 3,54 %MS) apresentaram, em média, maior concentração de nitrogênio quando comparadas com as plantas a pleno sol (PS- 3,44 %MS). Ao longo da planta, o Ápice (PS- 3,63 % MS e S- 3,89 % MS) apresentou maior concentração de nitrogênio, diferindo estatisticamente das outras partes.

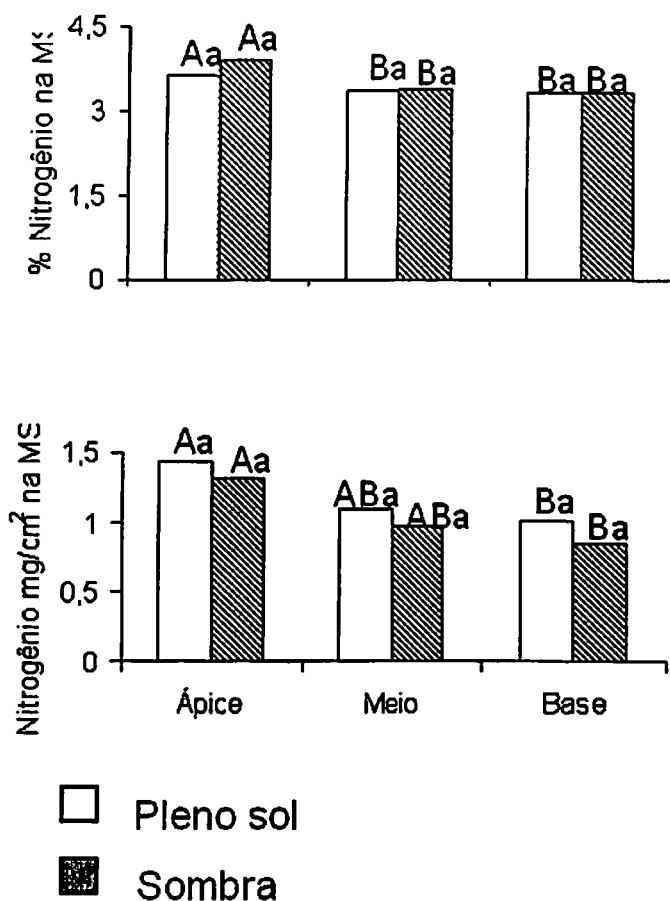
Resultados semelhantes foram obtidos por Zanela, (2001) ao estudar respostas de plantas jovens de espécies florestais à diferentes níveis de sombreamento, que observou teores de nitrogênio maiores em tratamentos mais sombreados. Um aumento na concentração de nitrogênio sugere um maior investimento em compostos fotossintéticos, o que irá permitir um melhor desempenho deste processo (Hirose & Werger, 1987; Evans, 1989a; Nijs,

Behaeghe & Impens, 1995; Anten, Hernandez & Medina, et al, 1996; Ramalho et al, 1997; Lu & Zhang, 2000).

Quando os resultados de nitrogênio foliar foram expressos por unidade de área foliar, as plantas a pleno sol ( $1,18 \text{ mg/cm}^2$ ) apresentaram maior concentração de nitrogênio em suas folhas quando comparadas às plantas sombreadas ( $1,1 \text{ mg/cm}^2$ ), porém essa diferença não foi significativa. O Ápice dos tratamentos (PS-  $1,4 \text{ mg/cm}^2$  e S-  $1,3 \text{ mg/cm}^2$ ) não apresentou diferença significativa em relação ao Meio (PS-  $1,1 \text{ mg/cm}^2$  e S-  $1,0 \text{ mg/cm}^2$ ), diferindo significativamente da Base (PS-  $1,0 \text{ mg/cm}^2$  e S-  $0,9 \text{ mg/cm}^2$ ).

Traw & Ackerly (1995) estudando posição foliar, níveis de radiação e alocação do nitrogênio em algumas espécies arbóreas, ressalta que a posição foliar, ao longo do caule, explica melhor a variação na concentração de nitrogênio que o nível de radiação.

Essa diferença na concentração de nitrogênio entre as folhas de uma mesma planta ao longo do caule contribui para uma eficiente utilização deste nitrogênio durante a fotossíntese (Field, 1983; Evans, 1993; Pons, et al 1993; Pons & Bergkotte, 1996). Para as folhas do Ápice em condições sombreadas (S), foram observadas maiores taxas fotossintéticas, que também apresentaram as maiores concentrações de nitrogênio. Esse resultado está em acordo com a observação de Ellsworth & Reich (1993) e Traw & Ackerly (1995) de que a concentração de nitrogênio está fortemente correlacionada com a capacidade fotossintética. Também, no Ápice das plantas sombreadas, foi verificada uma maior taxa de transpiração quando comparado com as demais partes, sendo essa associada a uma maior concentração de nitrogênio. Esse resultado é semelhante aos observados por Pons & Bergkotte (1996), estes afirmam que, em folhas maduras de plantas sombreadas, as taxas de transpiração influenciam a alocação do nitrogênio.

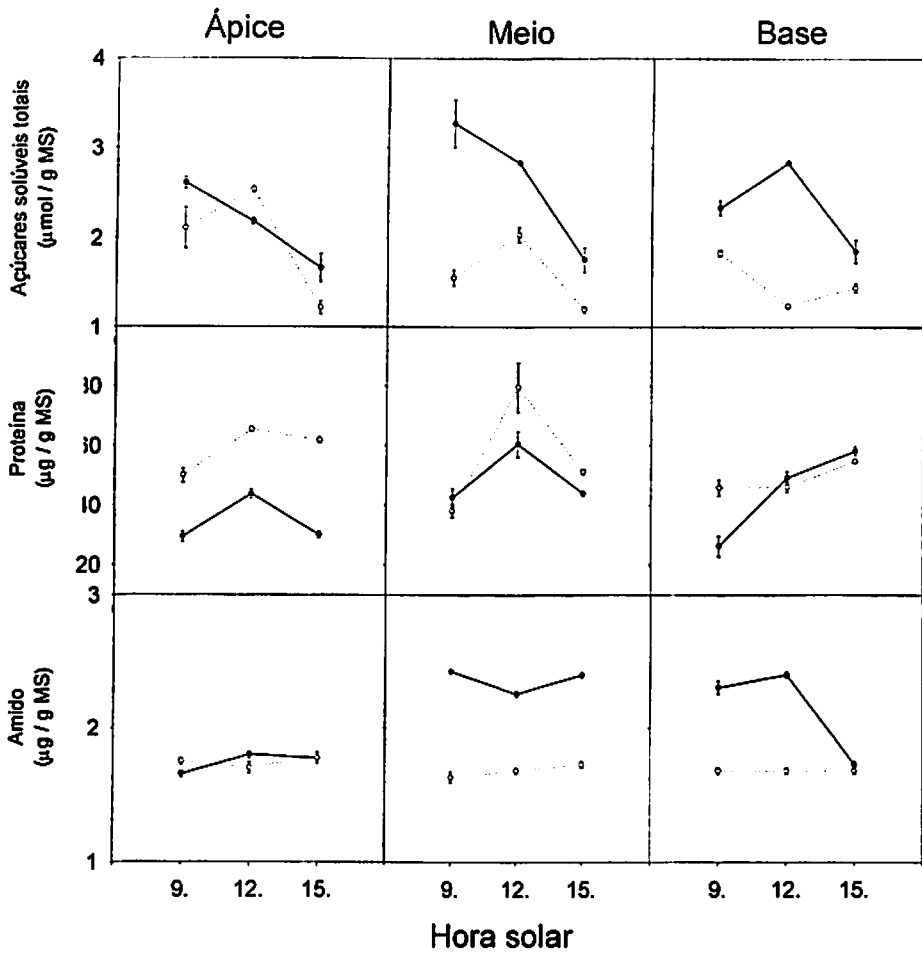


**Figura 5.** Concentração de nitrogênio foliar expressa por unidade de massa foliar e por unidade de área foliar no Ápice, Meio e Base das plantas, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol) e consórcio com seringueira (Sombra) na região de Varginha - MG. Cada ponto de 5 observações. Letras maiúsculas comparam médias estatísticas entre as diferentes partes da planta dentro de um mesmo tratamento; letras minúsculas comparam médias de uma mesma parte da planta entre dois tratamentos.

#### **4.5 Açúcares solúveis totais, proteínas e amido**

A figura 6 ilustra a variação diurna da concentração de açúcares solúveis totais (AST), proteínas e amido para o Ápice, Meio e Base das plantas submetidas aos tratamentos pleno sol e sombra.

Em condições de pleno sol, verificam-se valores significativamente maiores de AST quando comparado ao tratamento sombreado, independentemente do horário de avaliação, para o Meio e a Base. Enquanto que, para o Ápice, não se observa a influência do sistema de cultivo na concentração de AST. Observa-se que a concentração de AST foi maior às 9:00 horas para as partes Ápice e Meio de plantas em condições de pleno sol, ao passo que na Base os maiores valores foram atingidos ao meio dia. Para as partes Ápice e Meio de plantas sombreadas, a concentração de AST responde às variações da DFFFA enquanto que, para a Base das plantas mantidas nessa condição de luminosidade, observa-se um comportamento inverso.



**Figura 6.** Variação diurna dos teores de açúcares solúveis totais, proteína e amido em diferentes partes de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol) e consórcio com seringueira (Sombra) na região de Varginha - MG. Cada ponto corresponde à média  $\pm$  erro padrão de 4 observações. Pleno sol (●) e Sombra (○).

As plantas sombreadas apresentaram valores significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) de proteínas quando comparadas às plantas a pleno sol, para o Ápice, independente do horário de análise. Entretanto, para o Meio e a Base, observa-se que o sistema de cultivo não afetou os resultados obtidos.

Os maiores conteúdos de amido foliar foram obtidos nas avaliações realizadas para o Meio da planta de plantas mantidas em condições de pleno sol. Foram observadas diferenças significativas entre as partes avaliadas apenas para as plantas do tratamento pleno sol; já para o tratamento S, nota-se uma pequena variação do teor de amido ao longo do dia.

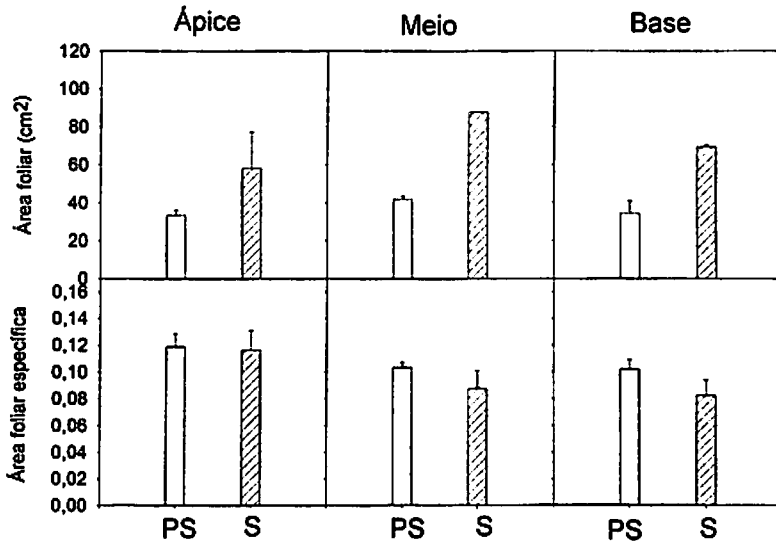
#### **4.6 Área foliar específica**

As folhas do tratamento pleno sol são mais densas e menores que as folhas do tratamento sombra (Figura 7). Boardman (1977), Strauss-Debenedetti & Berlyn (1994), Castro, Alvarenga & Gomide (1996), Ueda et al (2000) encontraram resultados semelhantes. Estes afirmam que folhas de plantas sombreadas são mais finas e mais leves por unidade de área foliar que as folhas de sol de uma mesma espécie submetida aos dois tratamentos.

Segundo Kitajima (1994), em plantas de sombra, há uma maior alocação de biomassa para a parte aérea que para as raízes, desenvolvendo assim, folhas maiores, porém mais finas quando comparadas às folhas de sol. Essa seria considerada uma resposta fenotípica à sombra, o que irá favorecer um aumento na razão fotossíntese-respiração, contribuindo para manutenção do ganho de carbono e maximizando o seu crescimento na sombra.

Foi observada uma resposta da estrutura foliar em relação à posição desta ao longo do caule. Observa-se uma forte resposta do nitrogênio por unidade foliar e o peso por unidade de área da foliar nas plantas tanto no tratamento pleno sol quanto no tratamento sombra (Figuras 5 e 7). Estes dados

sugerem que este ajuste, ao longo do caule, é necessário para um melhor aproveitamento da DFFFA, e para uma melhor eficiência fotossintética da planta como um todo.



**Figura 7.** Área foliar e área foliar específica em diferentes partes de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (PS- □) e consórcio com seringueira (S- ▨) na região de Varginha- MG. Cada ponto é média de 5 observações.

#### 4.7 Anatomia foliar

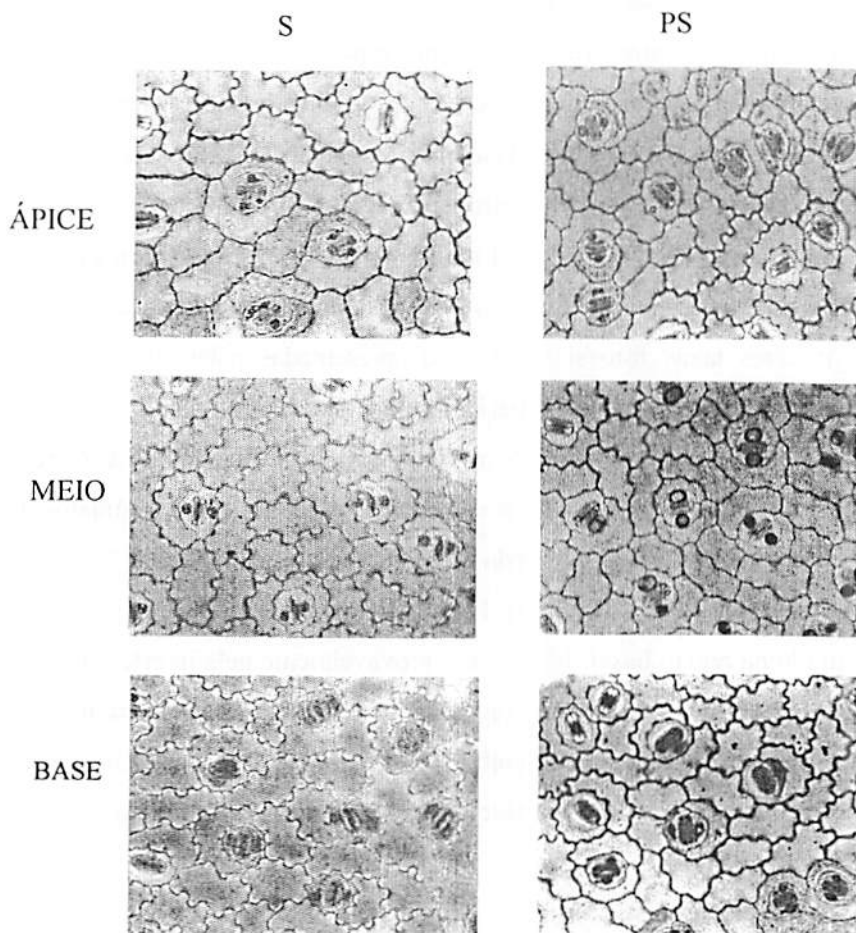
Os resultados das análises da anatomia foliar observados em plantas submetidas aos tratamentos pleno sol e sombra são apresentados nas Figuras 8 e 9 e nas Tabelas 1 e 2.



Quantidade, distribuição, tamanho, forma e mobilidade do aparelho estomático são características de uma espécie, as quais podem se alterar em função de adaptações às condições locais, podendo variar mesmo de indivíduo para indivíduo. No estudo da epiderme da face abaxial em vista frontal, observa-se na Tabela 1, para os dois níveis de radiação dentro de cada região, que as plantas do tratamento pleno sol apresentaram os maiores valores de número de estômatos quando comparadas às plantas do tratamento sombra. Observa-se que as maiores taxas fotossintéticas são apresentadas pelas plantas a pleno sol, sugerindo que esta peculiaridade anatômica influencia na capacidade fotossintética. Tem sido também demonstrado (Voltan, Fhal & Carelli, 1992) que, em folhas de cinco cultivares de cafeeiro, o número de estômatos decresceu linearmente à medida que reduziram os níveis de radiação. Nota-se que, no tratamento PS e S (Tabela 1; Figura 8), o número mínimo de estômatos foi atingido na região basal, isto devido provavelmente pela interferência das folhas superiores sobre as inferiores (auto - sombreamento). Estudos têm demonstrado que plantas cultivadas em ambiente com redução da intensidade luminosa, geralmente, apresentam decréscimo no número de estômatos (Bjorkman & Holmgren, 1963).

As respostas médias do diâmetro equatorial, nos dois níveis de radiação (PS e S), não apresentaram diferenças significativas. Todavia, o diâmetro polar apresenta-se maior no tratamento S, da região basal (Tabela 1). Bjorkman & Holmgren (1963) trabalhando com *Solidago virgourea*, também obtiveram aumento significativo no tamanho dos estômatos das folhas de plantas cultivadas em ambiente com redução de intensidade luminosa.

A análise estatística da variação da espessura foliar mostrou diferenças significativas dentro de cada região da planta de *C. arabica* L. e entre os diferentes níveis de radiação (pleno sol e sombra).



**Figura 8.** Epiderme abaxial, em vista frontal, em diferentes partes, Ápice (A), Meio (M) e Base (B), de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol- PS) e consórcio com seringueira (Sombra- S) na região de Varginha- MG .

Trat.	Partes	DE (n° / mm <sup>2</sup> )	DP (μm)	DE (μm)
PS	A	173,5Ab	23,9Aa	15,0Aa
	M	197,2Bb	27,1Ba	17,3Ca
	B	172,8Ab	24,7Aa	16,5Ba
S	A	143,9Ba	24,2Aa	15,2Aa
	M	132,5Aba	26,7Ba	16,8Ba
	B	122,5Aa	25,7Bb	16,2Ba

**Tabela 1.** Densidade estomática (DE), diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DE) do Ápice (A), Meio (M) e na Base (B), de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol) e consórcio com seringueira (Sombra) na região de Varginha- MG. Cada ponto é média de 40 observações. As letras maiúsculas na vertical apresentam diferenças entre as partes do mesmo tratamento, letras minúsculas apresentam diferenças entre partes em diferentes tratamentos.

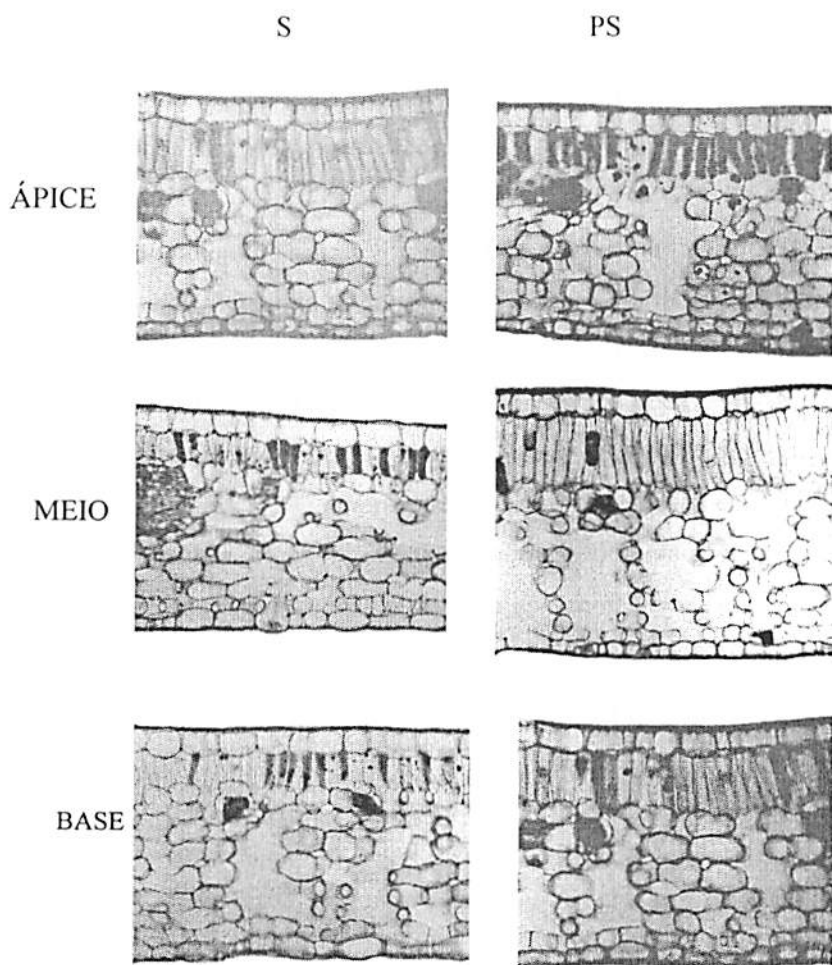
A maior espessura do limbo foliar foi apresentada pela região mediana e as menores na região basal, que não diferiram da região superior. A menor espessura da região superior, provavelmente, pode ser porque a folha não foi totalmente expandida (Tabela 2).

Uma maior radiação favoreceu também um aumento na espessura do parênquima paliçádico (também conhecido como células fotossintéticas) e do parênquima esponjoso (Figura 9). Um aumento nos espaços intercelulares favorece uma maior reflexão interna da radiação absorvida, o que favorece um maior aproveitamento da radiação para o processo fotossintético. Folhas de sol mais espessas sugerem uma adaptação que permite uma maior reflexão do

excesso de radiação (Kumar & Tieszen, 1980a). De modo geral, notam-se as diferenças entre as regiões, devido, provavelmente, pela interferência das folhas superiores sobre as inferiores (auto - sombreamento). Estudo com outras plantas mostram folhas mais espessas quando crescidas em condições de maior disponibilidade de radiação solar (Syertsen & Smith, 1984; Castro et al., 1998).

Trat.	Partes	ELF ( $\mu\text{m}$ )	EAD ( $\mu\text{m}$ )	EAB ( $\mu\text{m}$ )	PP ( $\mu\text{m}$ )	PE ( $\mu\text{m}$ )
PS	A	255,5	33,7 Aa	23,8 Aa	40,0 Aa	157,9
		Aa				Aa
	M	556,4	40,2 Aa	39,0 Aa	151,0	328,4
		Bb			Cb	Bb
	B	288,8	36,4 Aa	23,3 Aa	59,7 Bb	170,2
		Aa				Aa
S	A	290,2	35,9 Aa	27,0 Aa	42,3 Aa	184,9
		Aa				Ab
	M	470,6	67,1 Ab	33,1 Aa	68,3 Ba	302,1
		Ba				Ba
	B	286,7	36,9 Aa	31,4 Aa	37,5 Aa	180,3
		Aa				Aa

**Tabela 2.** Espessura do limbo foliar (ELF), epidermes adaxial (EAD) e abaxial (EAB), parênquima paliçádico (PP) e parênquima esponjoso (PE) do Ápice (A), Meio (M) e Base (B), de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol) e consórcio com seringueira (Sombra) na região de Varginha- MG. Cada ponto é média de 40 observações.



**Figura 9.** Secção transversal do mesofilo de folhas em diferentes partes, Ápice (A), Meio (M) e Base (B), de plantas de café, cultivar Mundo Novo, em condições de monocultivo (Pleno Sol - PS) e consórcio com seringueira (Sombra- S) na região de Varginha- MG .

## 5 CONCLUSÕES

O efeito do sombreamento pela seringueira foi mais significativo nas respostas de trocas gasosas que o efeito do auto - sombreamento em plantas de café.

As plantas, em momocultivo, em horários de maior disponibilidade de radiação e maior déficit de pressão de vapor da atmosfera, são mais sensíveis à fotoinibição.

Em condições sombreadas, maiores teores de nitrogênio foliar e uma menor disponibilidade de energia radiante, favorecem uma maior concentração de proteínas, de açúcares solúveis totais e amido.

O posicionamento da folha, ao longo do caule, influenciou a área foliar específica, densidade estomática e espessura de parênquimas, sendo verificados maiores valores nas folhas do Ápice.

A condição de disponibilidade de radiação influencia a estrutura foliar, sendo que, em condições de pleno sol, tem-se maior número de estômatos e maior espessura foliar.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J. D. Relação entre a redutase do nitrato e a fotossíntese no cafeeiro (*Coffea arabica* L.) 1985. 38p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

ANTEN, N. P. R.; HERNANDEZ, R.; MEDINA, E. M. The photosynthetic capacity and leaf nitrogen concentration as related to light regime in shade leaves of a montane tropical forest tree, *Tetrarhodium rubrivenium*. **Functional Ecology**, v. 10, n. 4, p. 491- 500, Aug. 1996.

BJORKMAN, O.; HOLMGREN, P. Adaptability of the photosynthetic apparatus to light intensity in ecotypes from exposed and shade habitats. **Physiology Plant**, v. 16, n. 4, p. 889-913, 1963.

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review and Plant Physiology**, Palo alto, v. 28, 355- 377, 1977.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BUKATSH, F. Benskensgem zeir doppelfarbeing astrablau- safranina. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v.16, p.255, 1972.

CARELLI, M. L. C.; FALH, J. I.; TRIVELIN, P. C. O.; QUEIROZ-VOLTAN, R. B. Carbon isotope discrimination and gas exchange in *Coffea* species grown under different irradiance regimes. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 2, p. 63- 68, 1999.

CASTRO, E. M.; GAVILANES, M. L.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, D. M.; GAVILANES, T. O. T. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidonea* (L.) Sleumer, sob diferentes níveis de sombreamento. **Daphne**, Belo Horizonte, v. 8. n. 4, p. 31- 35, 1998.

CASTRO, E. M. de; ALVARENGA, A. A. de; GOMIDE, M. B. Crescimento e distribuição de matéria seca de mudas de calabura (*Muntingia calabura* L.) submetidas a três diferentes níveis de irradiância. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 357-365, jul./set. 1996.

CORREIA, C. M.; AREAL, E. L. V.; TORRES-PEREIRA, M. S.; TORRES-PEREIRA, J. M. G. Intraspecific variation in sensitivity to ultraviolet- radiation in maize grown under field conditions II. Physiological and biochemical aspects. *Field Crops Research*, Amsterdam, v. 62, n. 2/3, 97-105, June 1999.

CUI, M.; VOGELMANN, T.C; SMITH, W. K. Chlorophyll and light gradients in sun and shade leaves of *Spinacia oleracea*. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, v. 14, p. 493- 500, 1991.

ELLSWORTH, D. S.; REICH, P. B. Canopy structure and vertical patterns of photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia*, New York, v. 96, n. 2, p. 169-178, Nov. 1993.

EVANS, J. R. Partitioning of nitrogen between and within leaves grown under different irradiances. *Australian Journal of Plant Physiology*, East Melbourne v. 16, n. 6 p. 533- 548, 1989a.

EVANS, J. R. Photosynthetic acclimation and nitrogen partitioning within a lucerne canopy. I. Stability through time and comparison with a theoretical optimum. *Australian Journal of Plant Physiology*, East Melbourne, v. 20, n. 1, p. 69- 82, 1993.

EVANS, J. R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves. *Oecologia*, New York, v. 78, n. 1, p. 9- 19, 1989b.

FAHL, J. I.; CARELLI, M. L. C.; VEGA, J.; MAGALHÃES, A. C. Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica* L.). *Journal of Horticultural Science*, Ashford, v. 9, n. 1, p. 161-169, Jan. 1994.

FAHL, J. *Influência da irradiância e do nitrogênio na fotossíntese e crescimento de plantas jovens de café (Coffea arabica L.)*. 1989. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Campinas, Campinas, SP.

FIELD, C. Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: Leaf age as a control on the allocation program.- *Oecologia*, New York, v. 56, n. 2/3, p. 341-347, 1983.

FIELD, C.; MOONEY, H. A. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: GIVNISH, T. J. (Ed.). *On the economy of form and function*. Cambridge: Cambridge University Press, 1986. p.25-565



GASTAL, C.; SAUGIER, B. Relationships between nitrogen uptake and carbon assimilation in whole plant of tall fescue. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 12, p. 407-418, 1989.

GUTIÉRREZ, M. V.; MEINZER, F. C.; GRANTZ, D. A. Regulation of transpiration in coffee hedgerows: covariation of environmental variables and apparent responses of stomata to wind and humidity. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 17, p. 1305- 1313, 1994.

HIROSE, T.; WERGER, M. J. A. Nitrogen use efficiency in instantaneous and daily photosynthesis of leaves in the canopy of a *Solidago altissima* stand. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 70, n. 2, p. 215- 222, June 1987.

HIROSE, T.; WERNER, M. J. A.; PONS, T. L.; VAN RHEENEN, J. W. A. Canopy structure and leaf nitrogen distribution in a stand of *Lysimachia vulgaris* L. as influenced by stand density. **Oecologia**, New York, v. 77, n. 2, p. 145-150, 1988.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New york: Mcgraw-Hill, 1940. 523p.

KITAJIMA, K. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. **Oecologia**, New York, v. 98, n. 3/4, p. 419-428, Aug. 1994.

KOZLOWSKI, T. T. Carbohydrate sources and sinks in woody plants. **Botanical Review**, New York, v. 58, n. 2, p. 107-222, 1992.

KOZLOWSKI, T. T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S. G. **The physiological ecology of woody plants**. New York: Academic Press, 1991.

KUMAR, D.; TIESZEN, L. L. Photosynthesis in *Coffea arabica*. I. Effects of light and temperature. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 6, n. 1, p. 13-19, Jan. 1980.

KUMAR, D.; TIESZEN, L. L. Photosynthesis in *Coffea arabica*. I. Effects of light and temperature. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 16, n. 1, p. 13-19, Jan. 1980a.

KUMAR, D.; TIESZEN, L. L. Photosynthesis in *Coffea arabica*. Effects of water stress **Experimental Agriculture**, New York, v. 16, p. 21-27, 1980b

LABOURIAU, L. G.; OLIVEIRA, J. C.; SALGADO-LABOURIAU, M. L. Transpiração de *Svholzobiuem parahiba* (Vell.). Toledo: comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais, Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 237-257, 1961.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000.

LAYNE, D. R.; FLORE, J. A. Physiological responses of *Prunus cerasus* to whole-plant source manipulation. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence, water relations and carbohydrate concentrations. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 88, n. 1, p. 44-51, May 1993.

LAYZELL, D. B. N<sub>2</sub> fixation, NO<sub>3</sub> reduction and NH<sub>4</sub> assimilation. In: DENNIS, D. H. **Plant physiology, biochemistry and molecular biology**. Harlow: Longman Group, 1990.

LEVIN, S. A.; MOONEY, H. A.; FIELD, C. The dependence of plant root: shoot ratios on internal nitrogen concentration. **Annals of Botany**, London, v. 64, n. 1, p. 71-75, July 1989.

LU, C.; ZHANG, J. Photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as by nitrogen deficiency in maize plants. **Plant Science**, v. 151, p. 135-143, 2000.

MACHÁCKOVÁ, I.; EDER, J.; MOTYKA, V.; HANUS, J.; KREKULE, J. Photoperiodic control of cytokinin transport and metabolism in *Chenopodium rubrum*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 98, p. 564- 570, 1996.

MATTA, F. M. da; MAESTRI, M.; BARROS, R. S.; REGAZZI, A. J. Water relations of coffee leaves (*Coffea arabica* e *C. canephora*) in response to drought. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 68, n. 5, p. 741-746, 1993.

MENDES, M. M.; GAZARINI, L. C.; RODRIGUES, M. L. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments - effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. **Environmental of Experimental Botany**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 165-178, Apr. 2001.

MULLER, G. L. Use of dinitrosalicylic and reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, p. 426-428, 1959.

NAVES, V. L.; ALVARENGA, A. A.; OLIVEIRA, L. E. M. de. comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas à diferentes níveis de radiação fotossinteticamente ativa. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 18, n. 4, p. 408-414, out./dez. 1994.

NIJS I.; BEHAEGHE T.; IMPENS I. Leaf nitrogen content as a predictor of photosynthetic capacity in ambient and global change conditions. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 22, n. 2/3, p. 177-183, Mar./May 1995.

NUNES, M. A.; RAMALHO, J. D. C.; DIAS, M. A. Effect of supply on the photosynthetic performance of leaves from coffee plants exposed to bright light. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 44, n. 262, p. 893-899, May 1993.

PONS, L. T.; BERGKOTTE, M. Nitrogen allocation in response to partial shading of a plant: Possible mechanisms. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 98, n. 3, p. 571-577, Copenhagen, 1996.

PONS, T. L.; VAN RIJNBERK, H.; SCHEURWATER, I.; VAN DER WERF, A. Importance of the gradient in photosynthetically active radiation in a vegetation stand for leaf nitrogen allocation in two monocotyledons. **Oecologia**, New York, v. 95, n. 3, p. 416-424, Sept. 1993.

PROIETTI, P.; PALLIOTTI, A.; FAMIANI, F.; ANTOGNOZZI, E.; FERRANTI, F.; ANDREUTTI, R.; FRENGUELLI, G. Influence of leaf position, fruit and light availability on photosynthesis of two chestnut genotypes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 85, n. 1/2, p. 63-73, July 2000.

RAMALHO, J. C.; PONS, T. L.; GROENEVELD, H. W.; NUNES, M. A. Photosynthetic responses of *Coffea arabica* leaves to a short-term high exposure in relation to availability. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 101, n. 1, p. 229-239, Sept. 1997.

RAMOS, J.; GRACE, J. The effects of shade on the gas exchange of seedlings of tropical trees from Mexico. **Functional Ecology**, v. 4, n. 5, p. 667-677, 1990.

REICH, P. B.; WALTERS, M. B.; ELLSWORTH, D. S. Leaf age and season influence the relationships between leaf nitrogen, leaf mass per area and photosynthesis in maple and oak trees. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, v. 14, n. 3, p. 251-259, Apr. 1991.

SOUZA, N. L. DE Comportamento fisiológico de cultivares de *Coffea arabica* L. submetidos a diferentes níveis de radiação solar. 2000. 41p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

STRAUSS-DEBENEDETTI, S.; BERLYN, G. Leaf anatomical responses to light in five tropical Moraceae of different successional status. *American Journal of Botany*, Columbus, v. 81, n. 12, p. 1582-1591, 1994.

SYVERTSEN, J. P.; SMITH, JR, M. L. Light acclimation in citrus leaves. I. Changes in physical characteristics, chlorophyll, and nitrogen content. *Journal American Society for Horticultural Science*, Madison, v. 109, n. 6, p. 807-812, 1984.

TAN, W.; HOGAN, G. D. Limitations to net photosynthesis as affected by nitrogen status in jack (*Pinus banksiana* Lamb.) seedlings. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 46, n. 285, p. 407-413, 1995.

TRAW, M. B.; ACKERLY, D. D. Leaf position, light levels, and nitrogen allocation in five species of rain forest pioneer trees. *American Journal of Botany*, Columbus, v. 82, n. 9, p. 1137-1143, 1995.

UEDA, Y.; NISHIHARA, S.; TOMITA, H.; ODA, Y. Photosynthetic response of Japanese rose species *Rosa bracteata* and *Rosa rugosa* to temperature and light. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 84, n. 3/4, p. 365-371, June 2000.

VOLTAN, R. B. Q.; FAHL, J. I.; CARELLI, M. L. C. Variação na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 4, n. 2, p. 99-105, 1992.

WENDLER, R.; MILLARD, P. Impacts of water and nitrogen supplies on the physiology, leaf demography and nitrogen dynamics of *Betula pendula*. *Tree Physiology*, East Melbourne, v. 16, n. 1/2, p. 153-159, Jan./Feb. 1995.

YEMM, E.W.; WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, London, v. 90, n. 3, p. 508-514, 1954.

ZANELA, S. M. **Respostas ecofisiológicas e anatômicas ao sombreamento em plantas jovens de diferentes grupos ecológicos**. 2001. 79p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.