



INFLUÊNCIA DA IRRADIÂNCIA E DO NITROGÊNIO NA FOTOSSÍNTESE
E CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)

*Este exemplar corresponde à
redação final da tese defendida
pelo candidato Joel Fahl e
aprovada pela Comissão Julgadora*

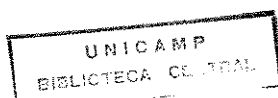
Aluísio

JOEL IRINEU FAHL
Pesquisador Científico da Seção de Fisiologia
Instituto Agrônômico de Campinas

Orientador: Prof. Dr. ANTONIO CELSO NOVAES DE MAGALHÃES

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de Campinas, para a
obtenção do título de Doutor em Ciência.

CAMPINAS - SP
1989



Aos

meus pais Jorge e Olinda

e irmão Israel

Agradeço

À

minha esposa Irene

e filhos Kristine e

Cristiano

Dedico

A G R A D E C I M E N T O S

Ao professor Dr. Antonio Celso Novaes de Magalhães, pela orientação, apoio irrestrito, incentivo e amizade.

Aos professores Dr. Ladaslav Sodek, Dr. Hilton Silveira Pinto e Dr. Carlos Alfredo Joly, pela revisão criteriosa na fase de pré-banca.

À Pesquisadora Científica Dra. Maria Luiza Carvalho Carelli, pela colaboração, sugestões e valiosa revisão crítica deste trabalho.

Aos Pesquisadores Científicos Marco Antonio Teixeira Zullo, Renato Ferraz de Arruda Veiga, Jorge Vega e Toshio Igue, pela colaboração nas análises químicas, histológicas, ultraestruturais e estatísticas, respectivamente.

Aos Auxiliares Técnicos Márcia Bonatto Pinton e Luiz Antonio Leite, pelo auxílio nas determinações analíticas e no cultivo de plantas.

Ao Instituto Agrônomo, pelas facilidades oferecidas para a realização desta pesquisa.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), especialmente ao Instituto de Biologia, pela oportunidade oferecida e aos professores do Curso de Pós-Graduação pelos ensinamentos e amizade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Bolsa de Pesquisa e pela ajuda financeira concedida.

A todos que direta e indiretamente colaboraram para o bom desenvolvimento deste trabalho.

ÍNDICE

PÁGINA

| | |
|---|-----|
| LISTA DE QUADROS | vii |
| LISTA DE FIGURAS | ix |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 7 |
| 2.1. Descrição do sistema de medidas de trocas de CO ₂ | 7 |
| 2.1.1. Mistura gasosa | 10 |
| 2.2. Curva de calibração para o CO ₂ | 11 |
| 2.3. Determinação do grau de precisão das medidas em função da intensidade da corrente elétrica no detector | 12 |
| 2.4. Material vegetal e condições de crescimento das plantas | 12 |
| 2.5. Respostas fisiológicas de plantas de café às condições experimentais de medida | 15 |
| 2.5.1. Efeito da velocidade do ar na câmara de assimilação de CO ₂ (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F _a) | 15 |
| 2.5.2. Tempo de aclimatação da folha na CAC .. | 16 |
| 2.5.3. Efeito da temperatura na câmara de assi milação sobre a taxa de fotossíntese a parente | 16 |
| 2.5.4. Efeito da intensidade de luz sobre a ta xa de fotossíntese aparente | 17 |
| 2.5.5. Influência da idade da folha na taxa de fotossíntese aparente, nos teores de clorofila e de nitrogênio total | 17 |

| | | |
|--------|---|----|
| 2.6. | Influência de Níveis de Irradiância e de <u>Ni</u> <u>trogênio</u> no Crescimento de Plantas e nas <u>Ca</u> <u>racterísticas Químicas, Anatômicas e Fotos</u> <u>intéticas de Folha</u> | 19 |
| 2.6.1. | Crescimento da planta | 19 |
| 2.6.2. | Características químicas, anatômicas e ultra estrutural das folhas | 19 |
| 2.6.3. | Fotossíntese aparente a níveis cres- centes de irradiância | 20 |
| 2.7. | Análise Estatística | 21 |
| 3. | RESULTADOS | 22 |
| 3.1. | Curva de calibração para o CO_2 | 22 |
| 3.2. | Determinação do Grau de Precisão das <u>Medi</u> <u>das</u> em Função da Intensidade da Corrente <u>E</u> <u>létrica</u> no Detector | 24 |
| 3.3. | Respostas Fisiológicas de Plantas de <u>Cafê</u> <u>às Condições Experimentais de Medida</u> | 25 |
| 3.3.1. | Efeitos do tempo de exposição à luz e da velocidade de fluxos de ar na CAC sobre a taxa de fotossíntese apa- rente (F_a) | 25 |
| 3.3.2. | Tempo de aclimatação da folha na câ- mara de assimilação de CO_2 (CAC) | 28 |
| 3.3.3. | Efeito da temperatura na câmara de assimilação de CO_2 (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) | 29 |
| 3.3.4. | Efeito de níveis de irradiância <u>so</u> <u>bre</u> a taxa de fotossíntese aparente (F_a) | 31 |

| | |
|--|----|
| 3.3.5. Influência da idade da folha na taxa de fotossíntese aparente, nos teores de clorofila e de nitrogênio total . | 32 |
| 3.4. Influência de Níveis de Irradiância e de Nitrogênio no Crescimento da Planta e nas Características Químicas, Anatômicas e Fotosintéticas da Folha | 36 |
| 3.4.1. Crescimento da planta | 36 |
| 3.4.2. Características anatômicas e ultra-estruturais das folhas | 38 |
| 3.4.3. Composição química das folhas | 42 |
| a. Teores de nitrogênio total | 42 |
| b. Teores de clorofila | 45 |
| 3.4.4. Fotossíntese aparente (F_a) e eficiência quântica (Φ) em resposta a níveis crescentes de irradiância | 45 |
| 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES | 51 |
| 5. RESUMO | 65 |
| 6. ABSTRACT | 68 |
| 7. LITERATURA CITADA | 71 |

LISTA DE QUADROS

| Quadro nº | | Página |
|-----------|--|--------|
| 1 | Influência da amperagem da corrente elétrica no detector, sobre as medidas da concentração de CO ₂ por cromatografia de gás por condutividade térmica. Dados médios de cinco repetições | 25 |
| 2 | Influência da velocidade do ar na câmara de assimilação de CO ₂ (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F _a) de folhas de plantas de café. Médias de cinco repetições... | 27 |
| 3 | Efeito de níveis de irradiância e de nitrogênio no crescimento de plantas de café . Médias de cinco repetições | 37 |
| 4 | Características anatômicas de folhas de plantas jovens de café cultivadas a pleno sol e à sombra com e sem suplementação nitrogenada. Médias de oito repetições | 40 |
| 5 | Influência de níveis de luz e de suplementação nitrogenada sobre o teor de nitrogênio (expresso em base de peso de matéria seca e de área foliar), sobre as relações existentes entre os teores de nitrogênio total e clorofila e entre a taxa de fotossíntese aparente (F _a) e o teor de nitrogênio total em folhas de plantas jovens de café. Médias de cinco repetições | 43 |

- 6 Teores de clorofila (a, b , protoclorofila e total), relação entre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) e o teor de clorofila total, e relação entre as concentrações de clorofila a e b e entre a clorofila a e , a protoclorofila, em folhas de plantas jovens de café cultivadas a pleno sol e a sombra , com e sem suplementação nitrogenada. Dados médios de quatro repetições 46
- 7 Valores das Densidade de Fluxo de Ftons (DFF) incidente no ponto de compensação de luz (I_0), no ponto de saturação lumínica ($I_{sat.}$) e de eficiência quântica aparente (Φ) de folhas de plantas de café. Temperatura média da folha $27 \pm 0,5^\circ C$ 49

LISTA DE FIGURAS

| Figura nº | | Página |
|-----------|--|--------|
| 1 | Esquema do sistema de médias de fotossíntese aparente (F_a) por cromatografia de gás por condutividade térmica | 8 |
| 2 | Influência da concentração de CO_2 sobre a altura dos picos registrados no cromatograma. Dados médios de quatro repetições ... | 23 |
| 3 | Influência da velocidade do ar na câmara de assimilação de CO_2 (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) de folhas de plantas de café. Médias de cinco repetições | 26 |
| 4 | Tempo necessário para a aclimação da folha na câmara de assimilação de CO_2 (CAC) após um período de duas horas de permanência na câmara de crescimento em condições abertas (luz e temperatura) semelhante às de estudo | 29 |
| 5 | Influência da temperatura na câmara de assimilação de CO_2 (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) em plantas de café. Dados médios de quatro repetições | 30 |
| 6 | Influência de níveis de irradiância sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) em folhas de plantas de café. Dados médios de quatro repetições | 31 |

7. Influência da idade fisiológica de folhas de plantas jovens de café na taxa de fotossíntese aparente (F_a) e no teor de nitrogênio total (N total). Médias de quatro repetições 34

8. Influência da idade fisiológica de folhas de plantas jovens de café nos teores de clorofilas e na relação fotossíntese aparente/clorofilas (*a* e *b*). Médias de quatro repetições 34

9. Características anatômicas de folhas de plantas jovens de café cultivadas a pleno sol e a sombra com e sem suplementação nitrogenada 39

10. Micrografias eletrônicas mostrando a ultraestrutura dos cloroplastos de folhas de café submetidos a diferentes tratamentos: Plantas suplementadas com nitrogênio crescidas em condições de pleno sol (A) e de 50% da luz solar (B); e plantas não suplementadas com nitrogênio, mantidas em condições de pleno sol (C) e a 50% da luz solar (D). (PC) parede celular; (V) vacúolo central; (M) mitocôndria. A linha de referência representa 500 nm..... 41

- 11 Efeitos de várias Densidades de Fluxo de Fofons (DFF) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) em folhas de plantas jovens de café, conduzidas a pleno sol e à 50% de luz solar, com e sem suplementação nitrogenada. Médias de quatro repetições..... 48

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Coffea arabica* é originária de regiões da Etiópia situadas a 7-9° de latitude norte, altitude de 1.000 - 2.000 m e precipitação anual sazonalmente bem distribuída atingindo valores entre 1500 a 2000 mm. Como em sua região de origem o cafeeiro cresce sob densas florestas tropicais, a espécie foi considerada como uma planta de sombra obrigatória, e em seu cultivo econômico procurou-se simular as condições naturais. Entretanto, em vista do cultivo no Brasil e em outros países se desenvolver a pleno sol, e devido às diversas evidências experimentais apresentadas por ALVIM (1959), concluiu-se que o cafeeiro não se enquadra na categoria de plantas de sombra obrigatória.

A prática do cultivo do cafeeiro a pleno sol, como é generalizada no Brasil, apresentou vários problemas em outros países, como a super produção, com rápido esgotamento das plantas. Este fato conduziu à necessidade do emprego de prática, como a proteção parcial da radiação solar durante os primeiros anos, até que o auto-sombreamento diminuisse os perigos de esgotamento (MITCHELL, 1974).

A atividade fotossintética constitui o processo básico responsável pela acumulação de cerca de 95% da matéria seca das plantas, sendo a luz o fator determinante da fotossíntese.

As diferentes espécies de plantas, durante a sua evo

lução, adaptaram-se a viver em habitats com níveis de luz que podem variar entre 0,3 e 40 E.m⁻².dia⁻¹, e assim apresentam as seguintes características fotossintéticas: (1) ponto de compensação de luz mais baixo; (2) maior eficiência quântica a baixas intensidades de luz; (3) saturação em densidades mais baixas de fluxo luminoso. Via de regra, o valor máximo da taxa de fotossíntese é menor nas plantas de sombra, mas estas podem apresentar mais eficiência de carboxilação fotossintética (TESKEY e SHRESTHA, 1985).

OSTENDORF (1962) em sua revisão relata numerosos trabalhos que abordam o problema da intensidade de radiação solar no cafeeiro a nível agrônomo, contudo são escassas as informações básicas e fundamentais referentes aos aspectos anatômico fisiológicos e bioquímicos do comportamento da folha em resposta à intensidade de irradiância.

NUTMAN (1937) verificou, em condições de campo, que a fotossíntese no cafeeiro foi bem maior em intensidades moderadas de luz do que em condições de luz solar plena. Essa queda na taxa fotossintética, observada em cafeeiros submetidos a alta irradiância (NUTMAN, 1937; TIÓ, 1962), tem sido atribuída ao aumento na temperatura foliar (NUNES *et al.*, 1968). De fato, estudos demonstraram que em alta irradiância não houve redução na fotossíntese do cafeeiro, quando durante as determinações a temperatura da câmara de assimilação de CO₂ foi mantida a 25°C (NUNES *et al.*, 1968; KUMAR e TIESZEN, 1980).

A temperatura ótima para a fotossíntese em plantas de café aparentemente situa-se ao redor de 24°C, sendo que acima desse valor a fixação de CO₂ decresce substancialmente (NUNES *et al.*, 1968; KUMAR e TIESZEN, 1980). Esse decréscimo na taxa fotossintética em altas temperaturas, provavelmente é

causada pela elevação da concentração interna de CO_2 e consequente fechamento dos estômatos (NUNES *et al.*, 1968). Por outro lado, estudos efetuados por FRISCHKNECHT *et al.* (1982) mostraram que a temperatura ótima para a assimilação de CO_2 no cafeeiro varia de 24 a 33°C, dependendo da temperatura a que as plantas foram submetidas nos dias anteriores.

KUMAR e TIESZEN (1980) estudando a taxa fotossintética em cafeeiros cultivados à sombra e a pleno sol, verificaram que o nível de irradiância saturante para as plantas de sombra e de sol foram, respectivamente, 300 e 600 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Contudo, a taxa fotossintética das plantas cultivadas em condições sombreadas foi substancialmente maior do que a verificada nas plantas crescidas a pleno sol, mesmo quando as determinações foram efetuadas a temperaturas ao redor de 25°C. Nessas mesmas condições YAMAGUCHI e FRIEND (1979), ao contrário de KUMAR e TIESZEN (1980), verificaram que a fotossíntese de plantas cultivadas a pleno sol foi superior à das plantas de sombra.

Com relação à influência da idade fisiológica da folha sobre a capacidade fotossintética, vários trabalhos em diversas espécies de plantas demonstraram que a capacidade de assimilação de CO_2 é baixa nas folhas em início de expansão, atinge valores máximos quando estas se tornam expandidas e declina posteriormente com a idade (FREELAND, 1952; HARDWICK *et al.*, 1968; BAKER e HARDWICK, 1973; KUMAR, 1979; YAMAGUCHI e FRIEND, 1979; CONSTABLE e RAWSON, 1980; LINS e EHLERINGER, 1982; WITTENBACH *et al.*, 1980; CHAVES, 1986 e FORD e SHIBLES, 1988).

As variações da capacidade fotossintética que ocorrem durante a ontogênese das folhas são interrelacionadas com uma série de fatores estruturais e bioquímicos.

No período de crescimento compreendido entre a emergência e a expansão total, as folhas apresentam intensa

atividade metabólica que se traduz por um aumento na fotossíntese, e que é acompanhado por acréscimos nas concentrações de clorofila e proteína, na atividade da enzima ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO), na transpiração, e no aumento da condutância estomática e condutância interna da folha à difusão do CO_2 (BAKER e HARDWICK, 1973; CONSTABLE e RAWSON, 1980; CHAVES, 1986; FORD e SHIBLES, 1988).

Após atingirem a expansão total as folhas de plantas anuais entram em fase de senescência, caracterizada por um progressivo declínio na taxa fotossintética, que é associado a perda de clorofila, de N total, de proteína total, desestruturação de cloroplastos e queda da condutância da folha ao CO_2 (DAVIS e MCCREE, 1978; WITTENBACH, 1979; FRIEDRICH e HUFFAKER, 1980; WITTENBACH *et al.*, 1980; FORD e SHIBLES, 1988).

Em plantas de soja, WITTENBACH *et al.* (1980) verificaram que as perdas de clorofila e de N total foram estreitamente paralelas ao declínio na fotossíntese. Contrariamente, FORD e SHIBLES (1988), também em plantas de soja, verificaram que o teor de clorofila diminui com a senescência e que a taxa de declínio pode ou não estar acoplada ao decréscimo na taxa fotossintética. FRIEDRICH e HUFFAKER (1980) sugeriram que o mecanismo responsável pela perda de clorofila não está relacionado com a capacidade fotossintética e que o processo de degradação pode ser retardado devido sua associação com as membranas dos tilacóides.

A duração do período de declínio gradual da fotossíntese varia amplamente entre as espécies e pode durar de poucas semanas, em espécies anuais como soja e cevada, a meses ou mesmo anos como em *Phoenix dactylifera* (HOPKINSON, 1964).

A intensidade de luz durante o crescimento afeta o teor de nitrogênio da folha, que é frequentemente um nutriente

limitante para o desenvolvimento da planta. Deste modo, o teor de nitrogênio total em folhas de plantas cultivadas em alta densidade de fluxo de fótons é bem maior que nas cultivadas em baixa irradiância, tanto em espécies herbáceas (SEEMANN *et al.*, 1987) como em espécies arbustivas (KOO e SIJES, 1956; SYVERSTEN e SMITH, 1984).

Por outro lado, numerosos trabalhos em diversas espécies de plantas demonstraram que existe uma forte correlação positiva entre o teor de nitrogênio e a capacidade fotossintética das folhas (NÁTR, 1972; BROWN, 1978; GULMON e CHU, 1981; FIELD e MONEY, 1983; EVANS, 1983; MAKINO *et al.*, 1984, 1985; SEEMANN *et al.*, 1987). Em plantas C_3 bem fertilizadas, cerca de 20% do nitrogênio total da folha está alocado na principal enzima carboxilativa, a ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO) (EVANS e SEEMANN, 1984). Portanto, alterações no teor de nitrogênio da folha são acompanhadas por variações na concentração da RUBISCO (BJORKMAN, 1981).

Em densidades de fluxo de fótons saturante a fotossíntese é limitada pela quantidade de RUBISCO (KU *et al.*, 1979; WITTENBACH, 1979; BJORKMAN, 1981), ocorrendo, portanto, uma correlação positiva entre a capacidade fotossintética e a atividade da RUBISCO (FRIEDRICH e HUFFAKER, 1980; EVANS, 1983; SEEMANN *et al.*, 1987). Por outro lado, em baixa irradiância, a fotossíntese é limitada pela disponibilidade de luz, não havendo, nesse caso, relação entre a fotossíntese e o teor de nitrogênio da folha (BJORKMAN, 1981; GULMAN e CHU, 1981; FIELD, 1983).

SEEMANN *et al.* (1987) sugeriram que durante o processo de aclimatação das plantas a condição de sol/sombra, deve ocorrer uma redistribuição do nitrogênio foliar entre as proteínas chaves, componentes do aparelho fotossintético. Recentemente, TERASHIMA e EVANS (1988) verificaram que em folhas de

plantas de espinafre crescidas a pleno sol, a proporção de nitrogênio total da folha alocado na enzima RUBISCO aumentou com a quantidade de nitrogênio da folha. Contudo, os mesmos autores constataram que em baixa irradiância este efeito não foi tão acentuado.

Apesar da importância da irradiância e da disponibilidade de nitrogênio para o crescimento e produção do cafeeiro, não existe na literatura disponível trabalhos que abordem, a nível fisiológico, as alterações existentes entre a intensidade de radiação solar, a taxa fotossintética e a nutrição nitrogenada das plantas.

A constatação destes fatos levou a realização da presente pesquisa, que tem por objetivos principais:

(1) Determinar as condições ótimas para medidas de fotossíntese aparente em folhas de plantas de café, empregando o método de cromatografia de gás com detecção por condutividade térmica para avaliação da concentração de CO_2 no ar.

(2) Estudar o comportamento da taxa fotossintética, assim como, as alterações nas características anatômicas e fisiológicas envolvidas no processo fotossintético de plantas jovens de café, cultivadas em diferentes condições de irradiância e de nutrição nitrogenada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. DESCRIÇÃO DO SISTEMA DE MEDIDAS DE TROCA DE CO₂

O sistema desenvolvido para medir a incorporação de CO₂ em folhas intactas foi do tipo aberto, semelhante ao descrito por NEVINS e LOOMIS (1970) com modificações, conforme ilustra a figura 1.

O principal componente do sistema empregou um cromatógrafo a gás, modelo CG-20 dotado de micro-detector de condutividade térmica e equipado com coluna CG-1479 de Porapax-N, acoplado a um registrador potenciométrico. Foi utilizada coluna com fase estacionária de Porapax-N pela sua eficiência na separação do CO₂ em misturas gasosas (CIOLA, 1973).

A câmara de assimilação de CO₂ (CAC) foi construída com chapas de "plexiglass", e constituída de duas metades justapostas integralmente que, uma vez fechada, possibilitou abrigar uma área foliar de 10cm² (2,5 x 4,0cm). Na metade superior foi adaptada uma jaqueta com as dimensões de 5,0 x 7,0 x 0,5cm, através da qual permitiu um fluxo de água destinada à retirada da parte do calor para manter o controle da temperatura no interior da câmara de assimilação (Fig. 1). Quando fechada, a câmara apresentou um volume total de 12cm³, sendo 6 cm³ na face adaxial e 6 cm³ na face abaxial da folha.

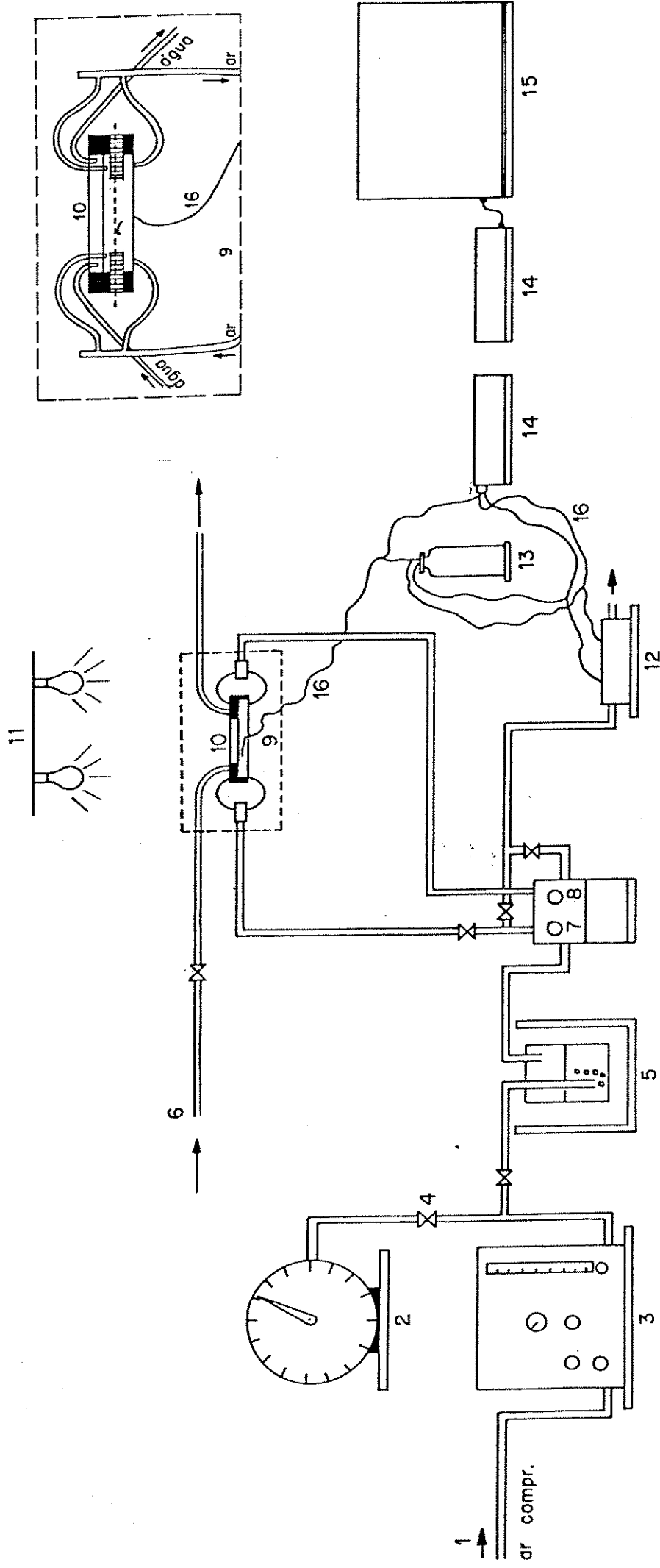


Figura 1. Esquema de medida de fotossíntese aparente (F_a) por cromatografia de gás detecção por condutividade térmica: 1. Entrada de ar; 2. Fluxômetro; 3. Controlador de fluxo; 4. Válvula; 5. Banho controlador de temperatura; 6. Entrada de água; 7. Amostrador de gás de referência; 8. Amostrador de gás amostra; 9. Câmara de assimilação de CO_2 ; 10. Jaqueta de água para controle da temperatura na câmara; 11. Sistema de luz; 12. Psicrômetro; 13. Garrafa térmica (tem. $0^\circ C$); 14. Registradores potenciométricos; 15. Cromatógrafo a gás; 16. Termopares.

A mistura gasosa penetrou na CAC pela parte anterior através de seis orifícios, sendo três na face superior e três na face inferior, de modo a permitir que o ar passasse pelas duas faces da folha. A saída da mistura gasosa ocorreu na parte posterior da câmara de assimilação por um sistema semelhante ao de entrada. O sistema de entrada da mistura gasosa na CAC, através de orifícios nas faces superior e inferior, visou proporcionar uma turbulência na massa de ar em contacto com as superfícies foliares, minimizando desta forma a resistência à difusão de CO_2 da câmara de ar adjacente da folha (camada limite).

Essa resistência pode ser um importante fator durante a troca gasosa (SMITH, 1980), especialmente quando o ar dentro da câmara não é bem agitado, em baixas taxas de fluxo. Nestes casos, a resistência da camada limite pode tornar-se extremamente grande, caso o sistema não promova razoável turbulência na massa gasosa (SYVERTSEN e SMITH, 1983).

O fluxo de ar antes de chegar à CAC foi controlado por um sistema de válvulas de gás, e sua medida foi feita por um fluxômetro de precisão "Precision Wet Test Meter".

A medida da temperatura da camada de ar adjacente à folha, no interior da CAC, foi efetuada por um termopar de cobre-constantan, colocado de modo a manter a junção próxima à face abaxial da folha.

A medida da concentração de CO_2 foi realizada em volumes de ar retirados de amostradores localizados no circuito gasoso, antes da entrada e após a saída da mistura gasosa da CAC, por meio de micro seringa de precisão. Essas amostras, contendo volume conhecido (2,5ml), foram injetadas no vaporizador do cromatógrafo, que teve suas condições de funcionamento previamente regulada para efetuar com eficiência a separação do CO_2 das demais substâncias da mistura gasosa, de modo a pro-

duzir cromatogramas com picos de altura a largura adequadas para medidas. Essas condições permitiram registrar até 8 amostras consecutivas (4 retiradas antes da entrada e 4 retiradas após a passagem do ar pela CAC), em um período de aproximadamente 15 minutos. Normalmente foi necessário um tempo semelhante para limpeza da coluna do cromatógrafo para reiniciar novas medidas.

O cálculo da concentração do CO_2 do ar em vpm, após sua passagem pela CAC, foi efetuada através da expressão:

$$C_2 = \frac{C_1 \times h_2}{h_1}$$

sendo que C_2 é a concentração do ar (vpm) que sai da CAC; C_1 é a concentração do ar que chega à CAC, e h_1 e h_2 são as alturas médias dos picos (mm) de C_1 e C_2 , respectivamente.

A fotossíntese aparente (F_a), expressa em unidades do sistema internacional $\mu\text{mol CO}_2, \text{m}^{-2}, \text{s}^{-1}$, foi calculada pela seguinte expressão:

$$F_a = \frac{\Delta C \times F \times 273}{22,4 \times (273+t) \times AF}$$

sendo em que ΔC é diferença entre a concentração de CO_2 no ar antes e após sua passagem pela CAC (vpm), F é o fluxo de ar (l.s^{-1}), t é a temperatura na CAC ($^{\circ}\text{C}$) e AF é a área foliar (m^{-2}). Para a CAC deste trabalho o valor da área foliar amostrada foi de $0,001 \text{ m}^2$.

2.1.1. Mistura gasosa

Ar natural comprimido foi utilizado como fonte de CO_2 , cuja concentração foi determinada periodicamente durante

o período de medidas, usando-se como padrão uma mistura gasosa (padrão calibração) preparada por S.A. White Martins, contendo 340 ppm de CO_2 , 21% de O_2 e N_2 em balanceamento. Antes de chegar à CAC o ar foi hidratado ao passar por um sistema de borbulhamento em água mantida à temperatura média de 23°C . Tal procedimento foi empregado para manter a umidade relativa do ar da câmara entre 40 e 80% que, conforme os resultados obtidos por NEVINS e LOOMIS (1970) em plantas de beterraba, não interfere significativamente na taxa fotossintética.

A umidade relativa na CAC foi determinada, indiretamente, através de medidas de temperaturas efetuadas no fluxo de ar após sua passagem pela CAC, utilizando um psicrômetro especialmente construído para esse fim. Esse sistema constou de um cilindro de "plexiglass", com $1,2\text{cm}^2$ de seção interna e 12 cm de comprimento, contendo em seu interior duas junções de termopares de cobre-constantan, sendo uma delas revestida por fios de algodão úmido. Esse conjunto foi protegido por um bloco de isopor de 5cm de espessura, para isolar do meio ambiente. As leituras dos termopares foram registradas continuamente em um registrador potenciométrico. Tendo-se os dados dos termômetros seco e úmido fornecidos pelo psicrômetro e a temperatura do ar na CAC, estimou-se a umidade relativa no interior desta última.

2.2. CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O CO_2

A curva de resposta por cromatógrafo a gás às diversas concentrações de CO_2 do ar foi efetuada utilizando-se misturas gasosas com concentrações de CO_2 , que variaram de 200 a 340 vpm em intervalos de 20 vpm. Para tal, foi utilizada a mistura gasosa padrão-calibração, anteriormente descrita. As con-

concentrações inferiores a 340 vpm foram obtidas diluindo-se a mistura gasosa padrão com volumes adequados de N_2 puro, através de um sistema de válvulas de precisão. Para cada concentração de CO_2 foram efetuadas cinco repetições, sendo que cada repetição consistiu de duas medidas da mistura gasosa padrão e duas da mistura gasosa diluída, registradas sequencialmente e fornecendo quatro picos.

2.3. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE PRECISÃO DAS MEDIDAS EM FUNÇÃO DA INTENSIDADE DA CORRENTE ELÉTRICA NO DETECTOR

Como já referido anteriormente, a concentração de CO_2 da mistura gasosa injetada no cromatógrafo foi determinada através da altura do pico registrado. Para uma mesma quantidade de CO_2 , a altura do pico formado variou com a intensidade da corrente elétrica aplicada no detector do aparelho. Por outro lado, a precisão das determinações da concentração de CO_2 dependeu das alturas dos picos que, quando muito altos ou muito baixos, acarretaram medidas menos precisas.

Neste trabalho foi avaliado o grau de precisão de medidas efetuadas em intensidades de corrente elétrica no detector de 180, 190 e 200 mA, por produzirem picos com altura adequadas (100 a 150 mm) para a faixa de concentração de CO_2 das misturas gasosas avaliadas.

2.4. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Foram utilizadas sementes de café (*Coffea arabica*, L.) cultivar Catuaí Vermelho H 2077-2-5-81, fornecidas pela Seção de Genética do Instituto Agrônomo de Campinas.

As sementes foram postas para germinar em areia grossa lavada, em caixas de polipropileno de 56cm de comprimento, 24 cm de largura e 18 cm de profundidade. Ao atingirem o estágio vegetativo correspondente à abertura das folhas cotiledonares ("orelha de onça"), as plântulas foram transplantadas para vasos de polipropileno, contendo cerca de dois litros de uma mistura de terra mais composto e mantidas em casa de vegetação em condições de sombreamento correspondente a 50% de luz solar total. As plantas assim conduzidas foram utilizadas na padronização da metodologia para a determinação da taxa de fotossíntese aparente em folhas de café.

Nos estudos referentes aos efeitos da luz e da nutrição nitrogenada no crescimento e nas trocas de gás carbônico, as plantas foram conduzidas da forma descrita anteriormente até a idade de 4 meses após o transplante. Decorrido esse tempo foram selecionadas 200 plantas que apresentavam o mesmo tamanho de desenvolvimento vegetativo, das quais foram retiradas as folhas menores da base do ramo, deixando-se somente os três pares de folhas mais jovens, enumeradas como + 1, + 2, e + 3 a contar do ápice do ramo ortotrópico. A folha + 1 correspondeu ao par mais jovem em expansão; a + 2 ao par de folhas recentemente expandidas e a denominada + 3, o par subsequente. Esse lote foi subdividido em grupos de 50 plantas, que foram distribuídos em quatro caixas de polipropileno com as dimensões de 150 x 60 x 25cm (comprimento, largura e profundidade) contendo orifícios na face inferior para o escoamento do excesso de água. Os espaços existentes entre os sacos de polipropileno contendo as plantas foram preenchidos com areia. Tal procedimento foi efetuado para evitar o aquecimento excessivo do sistema radicular, bem como para servir de sustentação para as plantas.

As quatro caixas contendo as placas foram distribuídas sobre dois vagonetes mantidos nas condições ambiente, sendo que sobre um deles colocou-se uma tela de polipropileno com capacidade para retenção de 50% da luz solar. Metade das plantas de cada tratamento de luz passou a receber semanalmente uma suplementação nitrogenada consistindo de 30ml de uma solução nutritiva completa e mais 5 mM de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, enquanto que a outra metade recebeu 30 ml de solução nutritiva sem nitrogênio (SARRUGE, 1975). Portanto, os tratamentos foram os seguintes: 1. Plantas conduzidas a pleno sol com suplementação nitrogenada (+N SOL); 2. Plantas conduzidas a sombra (50% da luz solar) com suplementação nitrogenada (+N SOMBRA); 3. Plantas conduzidas a pleno sol sem suplementação nitrogenada (-N SOL); 4. Plantas conduzidas a sombra sem suplementação nitrogenada (-N SOMBRA).

Em todos os estudos de fotossíntese efetuados neste trabalho, no dia anterior ao da análise, as plantas foram trazidas das condições de crescimento para o laboratório, onde permaneceram durante cerca de 14 horas em sala escura antes de serem colocados sob luz na câmara de crescimento.

A câmara de crescimento utilizada permitiu controle de temperatura em $27 \pm 1^\circ\text{C}$, ainda que a umidade relativa do ar não foi controlada, oscilando entre 35 e 60%. A entrada de ar condicionado foi feita de maneira indireta, a fim de não causar turbulência dentro da câmara.

Na fase de otimização da metodologia, a iluminação foi fornecida por um conjunto de 12 lâmpadas fluorescentes TLRS 40/54 luz do dia (40 watts) e 4 lâmpadas mistas MLL-N 240 (250 watts), proporcionando uma relação aproximada de 1:2 watts, respectivamente. Foram realizadas medidas da densidade de fluxo de fótons (DFP) em $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ à diferentes distâncias verti-

cais do conjunto de lâmpadas, utilizando-se um Steady Porometer L.I. 1600, munido de um Quantum Sensor LI-190S-L da L.I. COR, inc/LI-COR, LTD. Com esse conjunto de lâmpadas foi possível efetuar medidas de fotossíntese até irradiância de $222 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, acima desse nível houve problemas de excesso de aquecimento.

Nos estudos referentes a avaliação da fotossíntese nas plantas crescidas em diferentes níveis de luz e nitrogênio, utilizou-se um conjunto de 6 lâmpadas fluorescentes semelhantes às descritas no parágrafo anterior e uma lâmpada HPL-N de 400 watts, com relação aproximada de 1:1,6 watts. Tal sistema permitiu efetuar medidas de fotossíntese até DFF de $700 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, sem apresentar problemas de temperatura excessiva.

2.5. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE CAFÉ ÀS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE MEDIDA

2.5.1. Efeito da velocidade do ar na CAC sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a)

Este estudo foi efetuado utilizando as folhas + 2, de plantas de café com aproximadamente oito pares de folhas, conduzidas do modo já descrito.

Plantas previamente mantidas em câmara escura, foram colocadas na câmara de crescimento com temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar variando entre 35 e 60%, sendo que a folha foi imediatamente colocada na CAC, sob uma DFF de $222 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

A taxa fotossintética aparente foi determinada após 1, 2, 3, 4, 5 e 6 horas de luz, utilizando-se a intensidade de fluxos de ar de 0,20, 0,35 e $0,50 \ell \cdot \text{min}^{-1}$, que correspondem,

respectivamente, às velocidades no interior da CAC de 0,70, 1,20 e 1,70 cm.s^{-1} . Para cada intensidade de fluxo de ar foram utilizadas quatro repetições, ou seja, quatro plantas,

2.5.2. Tempo de aclimação da folha na CAC

Esse experimento foi efetuado para avaliar o tempo necessário para que as folhas se adaptassem ao micro-clima da CAC, de tal forma a se obter valores constantes de F_a .

As condições na CAC foram as seguintes: temperatura $28 \pm 0,7^\circ\text{C}$, UR $58 \pm 3,5\%$, velocidade do ar $1,20 \text{ cm.s}^{-1}$, DFF incidente $400 \mu\text{E.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

As determinações da taxa de F_a foram efetuadas após 0, 15, 30, 45 e 60 minutos, sendo que o tempo zero correspondeu ao momento em que a folha foi colocada na CAC. Quando esse experimento foi iniciado, as plantas já haviam permanecido por duas horas na câmara de crescimento sob irradiância de $400 \mu\text{E.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Foram utilizadas 10 plantas que, devido às características de medida do aparelho, cinco delas foram submetidas a medidas nos tempos 0-10, 30-45 e 60-70 minutos, e nas cinco restantes nos tempos 15-25 e 45-55 minutos.

2.5.3. Efeito da temperatura na câmara de assimilação sobre a taxa de fotossíntese aparente

A taxa de F_a foi determinada em quatro níveis de temperatura do CAC 24, 27, 30 e 36°C mantendo as demais condições constantes: velocidade do ar $1,20 \text{ cm.s}^{-1}$, DFF ao nível de CAC de $222 \mu\text{E.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Para evitar efeitos fisiológicos ocasionados por diferentes temperaturas nas partes da planta fora da CAC, as temperaturas da câmara de crescimento foram mantidas próximas das estudadas.

Para cada temperatura estudada foram efetuadas medidas em quatro folhas de plantas diferentes.

2.5.4. Efeito da intensidade de luz sobre a taxa de fotossíntese aparente

No estudo do efeito da irradiância sobre a taxa de F_a , as determinações foram efetuadas em folhas mantidas à temperatura de $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e velocidade do ar de $1,2 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$.

Foram efetuadas medidas da taxa de F_a em DFF de 60, 124, 176 e $222 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, com quatro repetições para cada nível de irradiância.

2.5.5. Influência da idade da folha na taxa de fotossíntese aparente nos teores de clorofila e de nitrogênio total

O efeito da idade da folha sobre a taxa de F_a foi efetuado nos quatro primeiros pares de folhas do ramo ortotrópico, contados a partir do ápice. Considerou-se como folha + 1 aquela em fase de expansão foliar, com cerca de 30 dias após a emergência; como folha + 2 aquela recém expandida, com cerca de 45 dias da emergência, e como folhas + 3 e + 4 os pares subsequentes.

As condições da CAC foram as seguintes: DFF 222 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, temperatura $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e velocidade do ar $1,20 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$.

Os teores de clorofila e de nitrogênio total, foram determinados nos mesmos tecidos vegetais em que foram analisados a taxa de F_a , com quatro repetições para cada par de folha.

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de micro-Kjeldahl, após secagem do material em estufa a 60°C, conforme BATAGLIA *et al.* (1978).

As extrações de protoclorofila (ProtoCfla), clorofila (Cfla) a e clorofila (Cfla) b foram efetuadas pela metodologia descrita por KOSKI *et al.* (1951), com modificações, visando otimizar a técnica para as folhas de café.

Por volta das 9 horas foi retirada separadamente, de quatro plantas diferentes, uma folha de cada par enumerados de + 1 a + 4, constituindo-se quatro amostras. Imediatamente após, as folhas de cada amostra foram seccionadas em pedaços, e 1,00g de amostra foi imerso em 15ml de acetona, transferido para almofariz de porcelana e macerado com auxílio de areia. O extrato de acetona foi filtrado a vácuo e lavado por duas vezes com 70 ml de acetona. A esse extrato foram adicionados 20ml de éter etílico e a mistura colocada em um funil de separação contendo 100 ml de água destilada. Esse procedimento foi repetido duas vezes para remover a acetona da mistura éter-acetona-pigmentos. A solução contendo éter-pigmento foi colocada em uma proveta e completado o volume a 20ml de éter etílico. Foi retirada uma alíquota de 1,0ml, colocada em balão volumétrico de 10ml e completado a volume com o mesmo solvente.

As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 620 e 625 nm para a ProtoCfla, a 660 e 665 nm para Cfla a e a 640 e 645 nm para a Cfla b, calculando-se os valores das absorbâncias a 624, 662, 642 nm através de interpolação harmônica (PIMENTEL GOMES, 1970). Para estimar os valores de ProtoCfla, Cfla a e

Cfla b foi utilizado o sistema de equações apresentado por SMITH e BENITEZ (1955).

2.6. INFLUÊNCIA DE NÍVEIS DE IRRADIÂNCIA E DE NITROGÊNIO NO CRESCIMENTO DA PLANTA E NAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, ANATÔMICAS E FOTOSSINTÉTICAS DA FOLHA

2.6.1. Crescimento da planta

Na instalação e ao final do experimento, após 4 meses, foram efetuadas medidas da altura e da área foliar das plantas.

A altura, expressa em centímetros, foi medida da base da planta (nível do solo) até a inserção do último par de folhas em formação. A área foliar da planta consistiu da soma-tória das áreas de cada folha, calculadas pelo produto de seu comprimento e largura máxima multiplicado pelo fator 0,62. Esse fator foi previamente calculado através de uma sub amostra composta de uma das folhas de cada par de cinco plantas de cada tratamento, com o auxílio de um integrador de área foliar LI-COR mod. LI-3000.

O peso foliar específico foi obtido a partir da área foliar e dos pesos de matéria fresca e seca dos diversos pares de folhas estudadas.

No final do experimento foi determinado o número de pares de folhas presentes no ramo ortotrópico da planta.

2.6.2. Características químicas, anatômicas e ultra estrutural das folhas

Os teores de nitrogênio total e de clorofilas foram

determinados em quatro amostras de cada tratamento, constituídas de quatro folhas + 2.

As características anatômicas foram avaliadas na folha + 2 de cada tratamento, efetuando-se manualmente com lâmina cortante, cortes transversais na região mediana entre a quarta e sexta nervura da base para o ápice da folha. Para acentuar o contraste entre os tecidos, foram utilizados os corantes vermelho congo e verde de metila acético, conforme técnica descrita por JOHANSEN (1940).

A medida de espessura dos tecidos foliares, bem como as fotografias foram feitas próximas à nervura principal, na região mais homogênea, utilizando-se um foto microscópio NIKON com aumento de 40x.

A nível ultra estrutural foram estudados os efeitos da luz e do nitrogênio nas características dos cloroplastos, através de microscopia eletrônica, conforme metodologia utilizada por VEGA *et al.* (1981).

2.6.3. Fotossíntese aparente a níveis crescentes de irradiância

Plantas crescidas nas diversas condições de luz e fertilização nitrogenada anteriormente descritas, foram transferidas para o laboratório e mantidas cerca de 14 horas no escuro, antes de serem submetidas aos diferentes níveis de irradiância.

Tanto nas plantas de sol como nas de sombra, foram efetuadas avaliações da F_a nas DFF de 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600 e 700 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Das cinquenta plantas de cada tratamento foram selecionadas 16 plantas que apresentavam maior uniformidade na co-

loração das folhas e no desenvolvimento vegetativo, as quais foram utilizadas alternadamente nas determinações da taxa de F_a . Essas análises foram feitas duas horas após a exposição das plantas ao nível de luz a ser estudado e de 15 a 50 minutos após a colocação da folha na CAC.

Para uma dada DFF foram feitas medidas em quatro repetições para cada tratamento, sendo duas determinações em um dia e as outras no dia seguinte. Esse procedimento foi seguido para todas as DFF, e foi iniciado do menor para o maior nível de irradiância.

2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, segundo o modelo de blocos ao acaso, e a comparação das médias dos tratamentos foi feita pelo teste Tukey. O nível de significância dos testes estatísticos foi pré-fixado em 5% (PIMENTEL GOMES, 1970).

As respostas fotossintéticas a diferentes níveis de fatores foram ajustadas às equações de regressão (DRAPER e SMITH, 1966).

3. RESULTADOS

3.1. CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O CO₂

Após o ajuste das condições de funcionamento do cromatógrafo para as medidas da concentração de CO₂ na mistura gasosa empregada no trabalho, procurou-se efetuar a curva de resposta a diferentes níveis de concentração de CO₂.

Os dados apresentados na figura 2A mostram que, para concentrações de CO₂ entre 200 e 340 vpm, a altura dos picos em resposta ao CO₂ aumentou com a concentração deste gás, ajustando-se a uma regressão linear. Considerando-se a baixa concentração de 260 a 340 vpm de CO₂, que é a faixa de concentração mais apropriada para o trabalho (Fig. 2B), verifica-se um ajuste superior ao da faixa de 200 a 340 vpm. Apesar de ambas as correlações apresentarem níveis de ajuste bastante elevados o coeficiente de correlação na faixa de 250 a 340 vpm alcançou valor da ordem de 0,9986, enquanto que na faixa de 200 a 340 vpm seu valor foi de 0,9961. SESTAK *et al.* (1971) relatam que a utilização da cromatografia de gás por condutividade térmica, para avaliar diferenças nas concentrações de CO₂ no ar, já tem apresentado respostas praticamente lineares em toda faixa de concentração de CO₂ fisiologicamente importante (0-5% de CO₂ no ar). Os resultados do presente trabalho, confirmam tais observações e mostram que, dentro da faixa de 200 a 340 vpm e, principalmente entre 260 a 340 vpm de CO₂, a linearidade de res

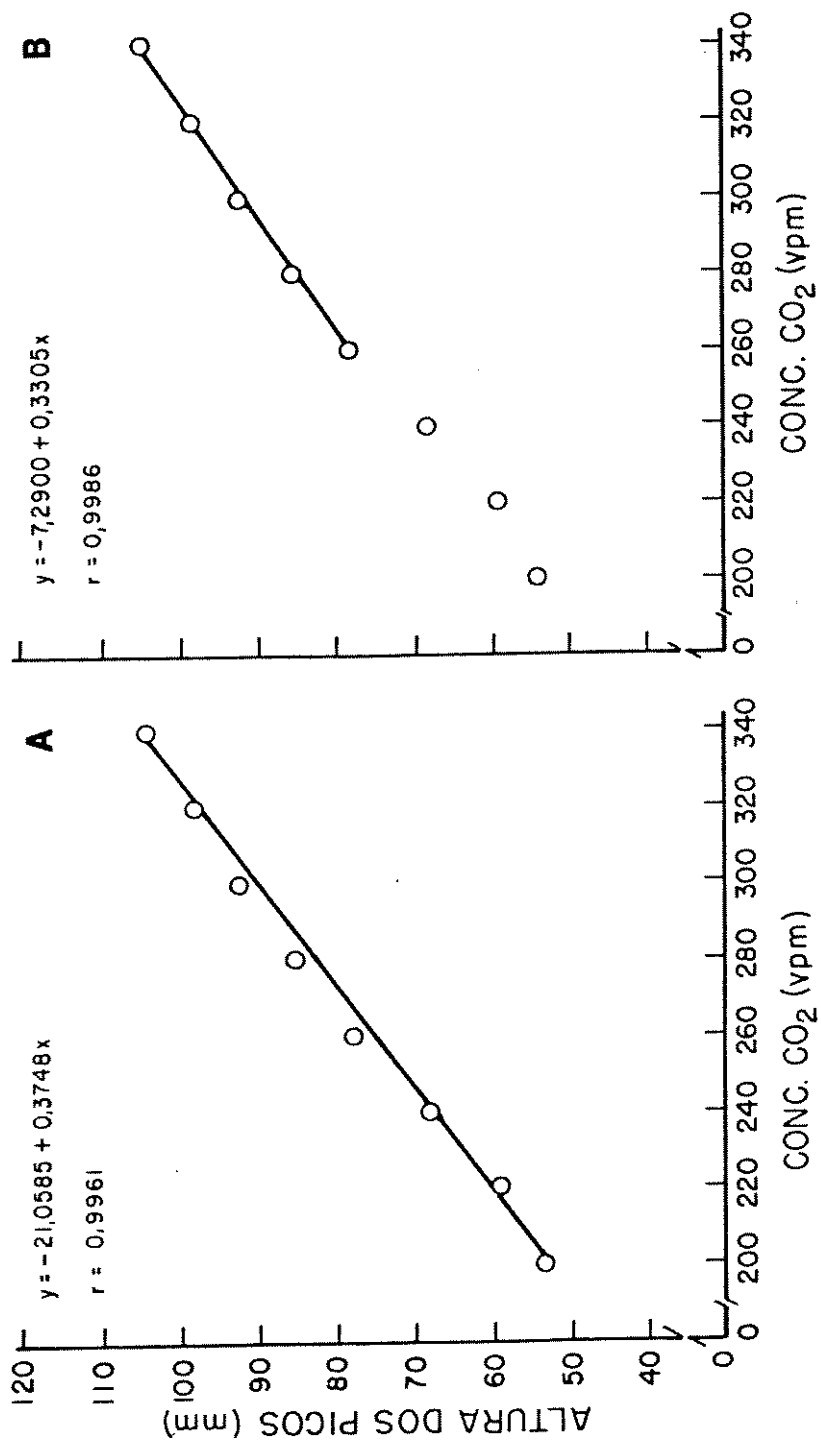


Figura 2. Influência da concentração de CO₂ sobre a altura dos picos registrados no cromatograma. Dados médios de quatro repetições. (A - regressão linear para o intervalo de 200 a 340 vpm; B - regressão linear para o intervalo de 260 a 340 vpm).

posta à concentração de CO_2 permite a utilização da cromatografia de gás com detecção por condutividade térmica para medidas de trocas de CO_2 em plantas.

3.2. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE PRECISÃO DAS MEDIDAS EM FUNÇÃO DA INTENSIDADE DA CORRENTE ELÉTRICA DO DETECTOR

Os resultados referentes à avaliação do grau de precisão das medidas da concentração de CO_2 , em função da intensidade da corrente elétrica no detector, são apresentados no quadro 1. Verifica-se que, para intensidade de corrente de 180, 190 e 200 mA, obtiveram-se picos com alturas de 106, 121 e 148 mm, respectivamente. Esses valores se enquadram dentro de valores adequados para medidas por cromatografia de gás, conforme estabelecido por CIOLA (1973).

Pelo mesmo quadro a análise do coeficiente de variação dentro de cada série de quatro medidas mostrou que, na faixa de amperagem estudada, observaram-se valores que variaram de 0,10 a 0,23%, o que equivale a um erro relativo de 1,0 a 2,30%. Esses valores, de acordo com SESTAK *et al.* (1971), atendem amplamente às exigências para avaliação de trocas de CO_2 em plantas. Neste estudo padronizou-se a amperagem de 190 mA, a qual, para alíquotas de 2,5 ml de ar na concentração de trabalho (aproximadamente 340 vpm de CO_2) foram produzidos picos com alturas adequadas para medidas e com boa sensibilidade de resposta. Na amperagem de 180 mA os picos, apesar de apresentarem erro baixo, foram relativamente pequenos e mostraram menor sensibilidade que os de 190 mA, enquanto que os de 200 mA, apesar de apresentarem altura maior, o excesso de sensibilidade provocou aumentos no erro.

Quadro 1. Influência da amperagem da corrente elétrica no detector, sobre a precisão das medidas da concentração de CO_2 por cromatografia de gás por condutividade térmica. Dados médios de cinco repetições.

| | AMPERAGEM DA CORRENTE NO DETECTOR(mA) | | |
|-------------------|---------------------------------------|--------|--------|
| | 180 | 190 | 200 |
| | mm | | |
| AR REFERÊNCIA (1) | 106,16 | 121,70 | 148,08 |
| AR AMOSTRA (2) | 106,01 | 121,77 | 148,33 |
| C.V. % | 0,15 | 0,10 | 0,23 |

(1) ar referência = amostras de ar retiradas antes da câmara de assimilação de carbono (CAC).

(2) ar amostra = amostras de ar retiradas após a passagem pela CAC.

3.3. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE CAFÉ AS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE MEDIDA

3.3.1. Efeito do tempo de exposição à luz e da velocidade de fluxos de ar na CAC sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a)

Os resultados referentes ao tempo necessário de exposição à luz, para se obter valores constantes de F_a , são apresentados na figura 3 e mostram que, após duas horas de iluminação, a taxa de F_a tendeu a estabilizar. Portanto, as determina

ções posteriores foram efetuadas após a exposição das plantas a duas horas de iluminação.

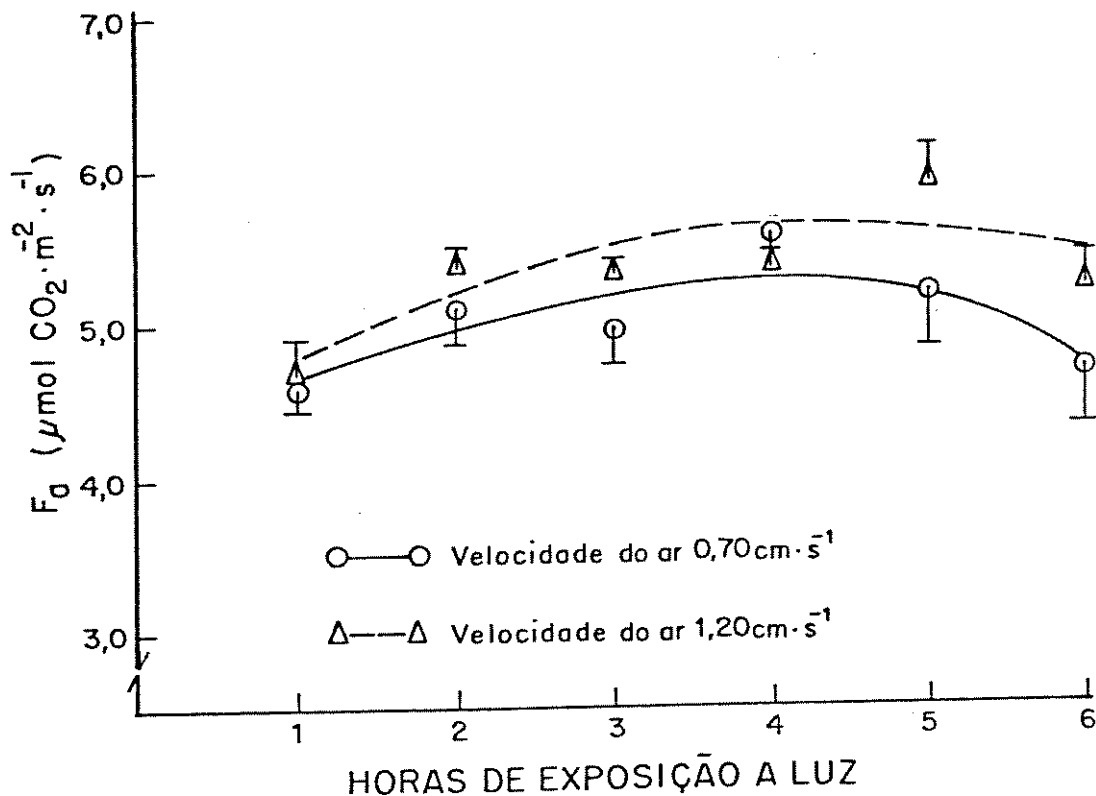


Figura 3. Influência da velocidade do ar na câmara de assimilação de CO₂ (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) de folha de plantas de café. Médias de cinco repetições. Barras = s(m).

O efeito da velocidade de fluxo de ar no interior da CAC sobre a taxa de F_a, para as condições no sistema de medidas e para a concentração CO₂ do ar empregado no estudo, está ilustrado no quadro 2. Verifica-se que, para as três velocidades de ar estudadas, as taxas de F_a não diferiram entre si. Contudo, observa-se que nas duas velocidades mais baixas, as medidas apresentaram um desvio padrão menor em relação à velocidade de 1,70 cm·s⁻¹.

NEVINS e LOOMIS (1970) em estudos com beterraba (*Beta vulgaris* L.), uma espécie que, como o cafeeiro, também apresenta metabolismo C₃, consideraram que à baixa velocidade do

fluxo de ar na CAC, a resistência da camada adjacente da folha (r_a) seria o principal fator limitante para a absorção de CO_2 pelas folhas, enquanto que a velocidades de fluxos de ar mais elevadas, a resistência estomática (r_s) e a resistência do mesófilo (r_m) tornar-se-iam os componentes dominantes.

Um outro aspecto fisiologicamente importante relacionado com o suprimento de ar é o gradiente da concentração de CO_2 que se forma no interior da CAC. Esta característica é afetada principalmente pela forma como se dá a entrada e saída do ar e pelas dimensões da CAC. Desta forma, em baixa velocidade de fluxo de ar a taxa fotossintética seria afetada pela amplitude do gradiente de concentração de CO_2 no ar, enquanto que a intensidades de fluxo de ar mais elevadas esse gradiente seria minimizado. Entretanto, tal situação requereria maior sensibilidade no método para determinação de CO_2 .

Quadro 2 - Influência da velocidade do ar na câmara de assimilação de CO_2 (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) de folhas de plantas de café. Médias de cinco repetições.

| Velocidade do ar na CAC | F_a | Desvio padrão da média s(m) |
|-------------------------|--|-----------------------------|
| cm.s^{-1} | $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ | |
| 0,70 | 4,17 | 0,05 |
| 1,20 | 4,37 | 0,05 |
| 1,70 | 4,13 | 0,07 |
| F | n.s. | |
| C.V. % | 4,05 | |

1. Mistura gasosa de alta pureza, contendo 340 vpm CO_2 , 21% de O_2 e N_2 em balanceamento.

Os resultados apresentados no quadro 2 parecem refletir estas situações e apesar de diferirem estatisticamente entre si, aparentemente o melhor resultado foi obtido na velocidade de fluxo de ar de $1,20 \text{ cm.s}^{-1}$ (com uma redução média de 20 ppm na concentração de CO_2 do ar), que apresentou taxa de F_a maior e desvio padrão relativamente baixo.

3.3.2. Tempo de aclimação da folha na câmara de assimilação de CO_2 (CAC)

Os resultados referentes à determinação do tempo necessário para a aclimação da folha na CAC, são apresentados na figura 4. Observa-se que 15 minutos após a colocação da folha na CAC, a taxa de F_a tornou-se estável, permanecendo constante até o final do experimento, ou seja, após 60 minutos. Convém ressaltar que, quando a folha foi colocada na CAC (tempo zero), as plantas já haviam permanecido na câmara de crescimento por um período de duas horas, em condições ambientais (luz e temperatura) semelhantes às verificadas na CAC.

Esses resultados concordam com KEYS *et al.* (1977), que obtiveram em folha bandeira de plantas de trigo (*Triticum aestivum*, L.) estabilização da taxa fotossintética em períodos que variam de 1 a 15 minutos após a colocação da folha no interior da CAC.

Em vista desses resultados, ficou estabelecido o tempo de 15 minutos para o início das determinações da taxa de F_a , por representar o período necessário para a aclimação da folha na CAC e por permitir maior número de determinações.

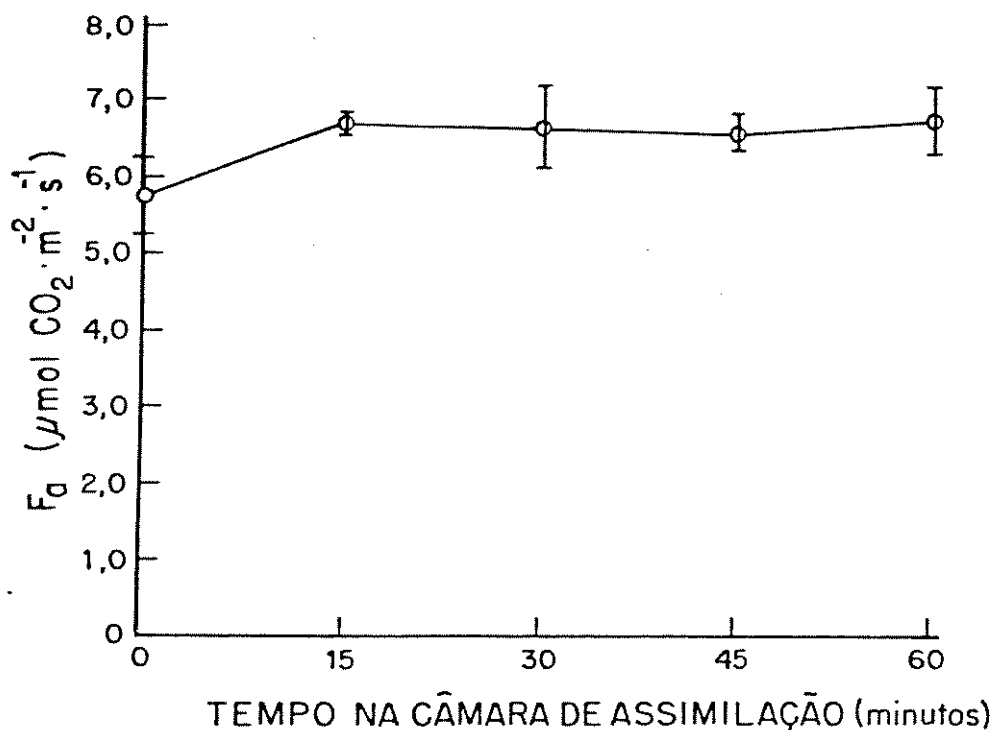


Figura 4. Tempo necessário para a aclimação da folha na câmara de assimilação de CO_2 (CAC) após um período de duas horas de permanência na câmara de crescimento em condições ambientes (luz e temperatura) semelhante às de estudo. Médias de quatro repetições. Barras = s(m).

3.3.3. Efeito da temperatura na câmara de assimilação de CO_2 (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a)

Na figura 5 são apresentados os dados do estudo do efeito da temperatura no interior da CAC sobre a taxa de F_a . A taxa de F_a foi inicialmente mais baixa (24°C), atingiu um ótimo ao redor de 27°C e decresceu posteriormente com o aumento da temperatura na CAC. Em 36°C a F_a caiu para valores inferiores a 80% dos obtidos na temperatura próxima à ótima (27°C). Esses resultados concordam com dados previamente obtidos por outros autores em plantas de café (KUMAR e TIESZEN, 1980; NUNES *et al.*, 1968; FRISCHKNECHT *et al.*, 1982) e com valores obtidos

por NEVINS e LOOMIS (1970), BUTTROSE (1968) e CHAVES (1986), em espécies de metabolismo C_3 .

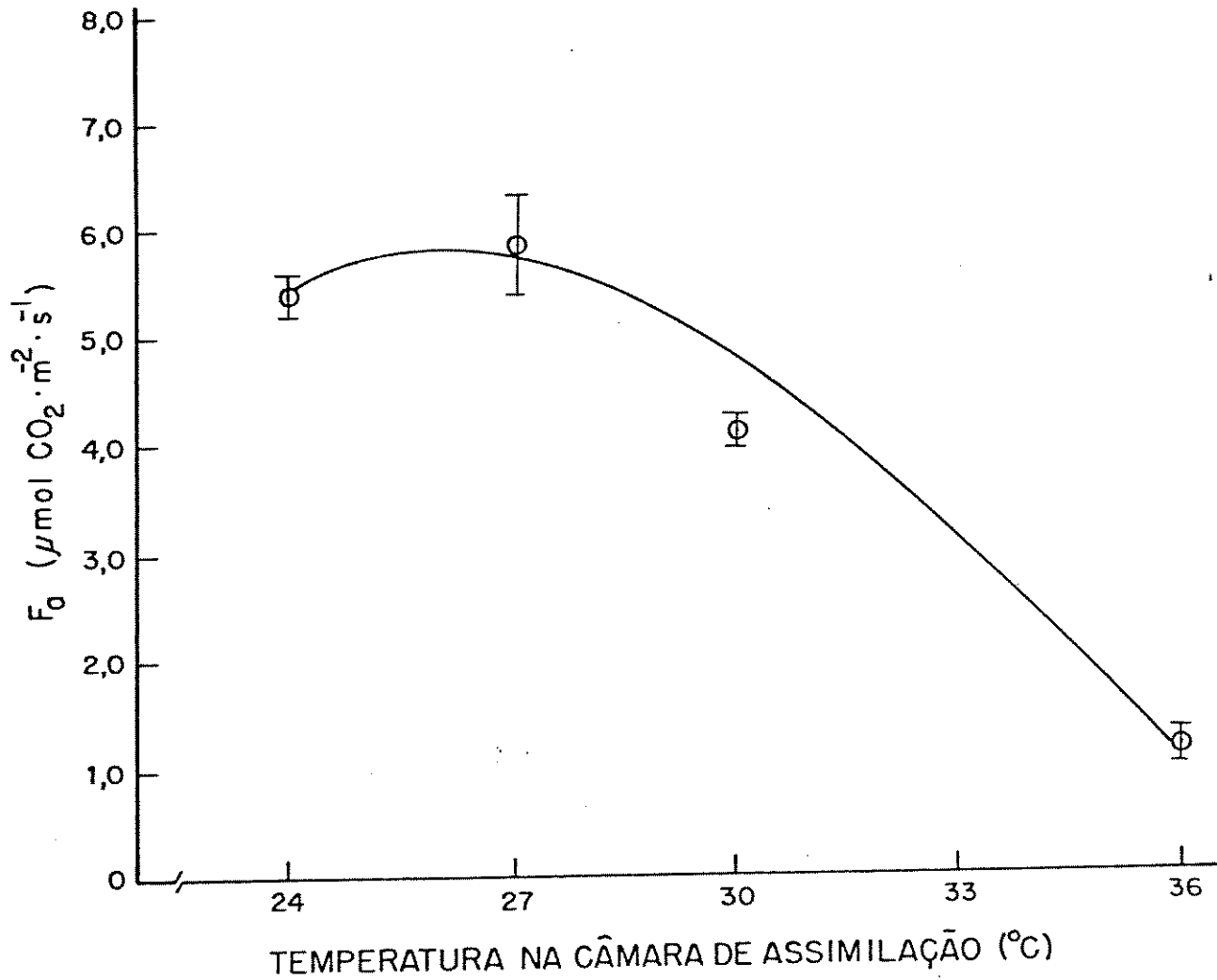


Figura 5. Influência da temperatura na câmara de assimilação de CO_2 (CAC) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) em plantas de café. Dados médios de quatro repetições. Barras = s(m).

FRISCHKNECHT *et al.* (1982) mostraram em plantas de café, que a temperatura ótima para assimilação de CO_2 variou de 24 a 33°C e foi dependente da temperatura a que as plantas foram submetidas nos dias que antecederam às determinações. Desta forma, ficou padronizada a temperatura ao redor de 27°C no

interior da CAC, para as determinações da taxa de F_a em folhas de plantas de café.

3.3.4. Efeito dos níveis de irradiância sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a)

Os efeitos da irradiância sobre a atividade fotossintética são apresentados na figura 6.

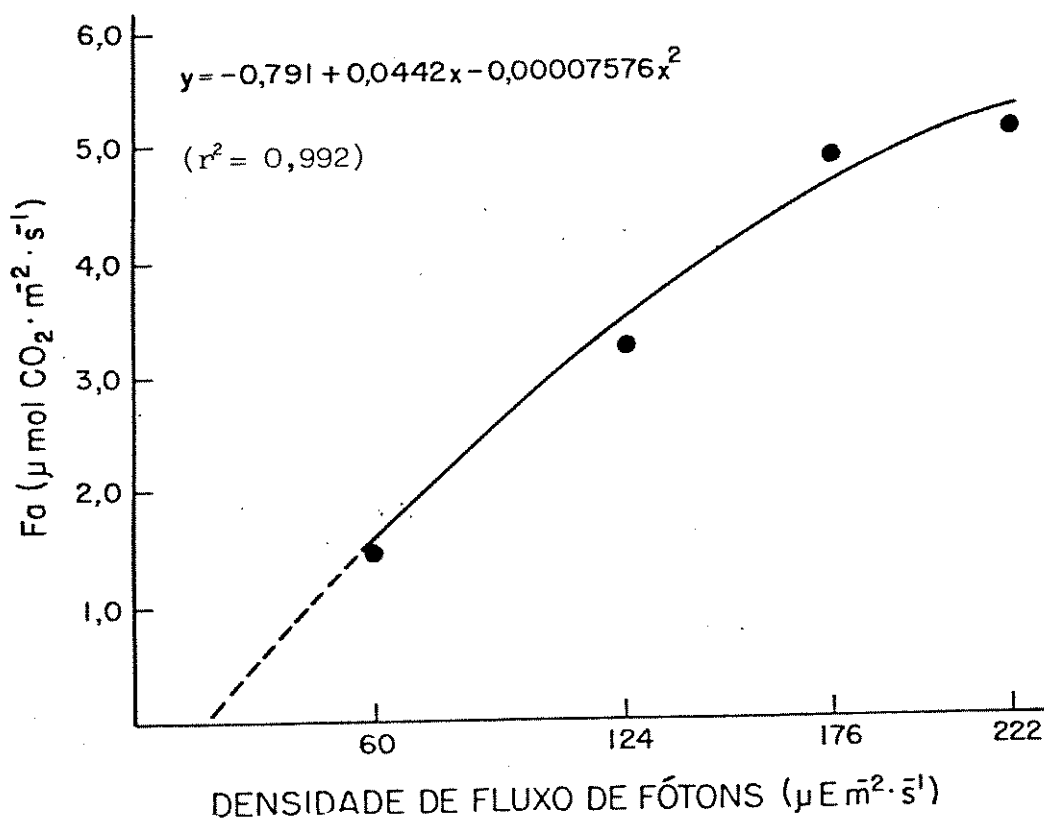


Figura 6. Influência de níveis de irradiância sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) em folhas de plantas de café. Dados médios de quatro repetições.

Pode ser observado que a taxa fotossintética (F_a) cresce com o aumento da densidade de fluxo de fótons (DFP), ajustando-se à equação quadrática:

$$Y = 0,791 + 0,0442X - 0,00007576X^2,$$

onde Y representa a taxa de F_a em $\mu mol CO_2 \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$, e X a densidade de fluxo de fótons em $\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$.

Segundo esse modelo de evolução da taxa de fotossíntese, nas condições experimentais de análise utilizadas, a saturação de luz ocorreria em DFF acima de $222 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, enquanto que o ponto de compensação de luz ficaria abaixo de $60 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Tais resultados concordam com aqueles obtidos por KUMAR e TIESZEN (1980), que observaram para *C. arabica* cv. SL 28 saturação lumínica em DFF de 300 e $600 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, respectivamente, para plantas conduzidas em condições de sombreamento e a pleno sol.

Esses resultados indicam que os valores das taxas de F_a fornecidos pelo presente método, foram semelhantes àqueles obtidos por outros autores utilizando outros métodos e que os estudos de fotossíntese em cafeeiro deviam ser efetuados em sistemas de iluminação que forneçam densidade de fluxo de fótons superiores a $300 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Devido a esse fato, nos experimentos referentes ao estudo da irradiância e do nitrogênio, o sistema de luz foi alterado para proporcionar irradiância com densidade de fluxo de fótons (DFF) de até $700 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, que estaria acima da saturação lumínica apresentada por plantas de café.

3.3.5. Influência da idade da folha na taxa de fotossíntese aparente, nos teores de clorofila e de nitrogênio total

A capacidade de assimilação de CO_2 varia com a idade fisiológica das folhas, a qual determina a intensidade máxima do processo fotossintético, quando as condições externas são ótimas.

As variações na taxa de fotossíntese aparente (F_a) e de nitrogênio total (N total) nos vários pares de folhas posicionados ao longo do ramo ortotrópico de plantas de café, estão expressas na figura 7. Pode ser observado que a taxa de F_a é baixa nas folhas em início de expansão (par + 1), atinge valores máximos nas folhas recentemente expandidas (par + 2), e declina posteriormente com a idade (pares + 3 e + 4). Esse padrão de comportamento da fotossíntese já foi anteriormente observado em plantas de café (YAMAGUCHI e FRIEND, 1979) e em numerosas outras espécies, como *Pinus* sp. (FREELAND, 1952), *Perrilla frutescens* (HARDWICK et al., 1968), cacau (BAKER e HARDWICK, 1973), algodão (CONSTABLE e RAWSON, 1980), soja (WITTENBACH et al., 1980), videira (CHAVES, 1986), mamão (LIN e EHLE-RINGER, 1982; FORD e SHIBLES, 1988).

O teor de nitrogênio total aumentou com a expansão da folha (par + 2), permanecendo aproximadamente constante nas folhas fisiologicamente mais maduras (Fig. 7).

Na figura 8 pode ser observado que os teores de clorofila (Cfla) total, Cfla a e Cfla b acompanharam o aumento na taxa fotossintética, que ocorreu com a expansão da folha (Fig. 7). Nas folhas fisiologicamente mais maduras (+ 3 + 4) a concentração desses pigmentos aumentou levemente, enquanto que a taxa fotossintética começou a decrescer (Fig. 7). Os teores de Cfla a e Cfla b acompanharam os aumentos verificados nas concentrações de Cfla total, e a relação Cfla a: Cfla b foi mantida aproximadamente constante nos vários pares de folhas estudadas (Fig. 8). Esses resultados concordam inteiramente com os dados obtidos por BAKER e HARDWICK (1973) em folhas de plantas de cacau.

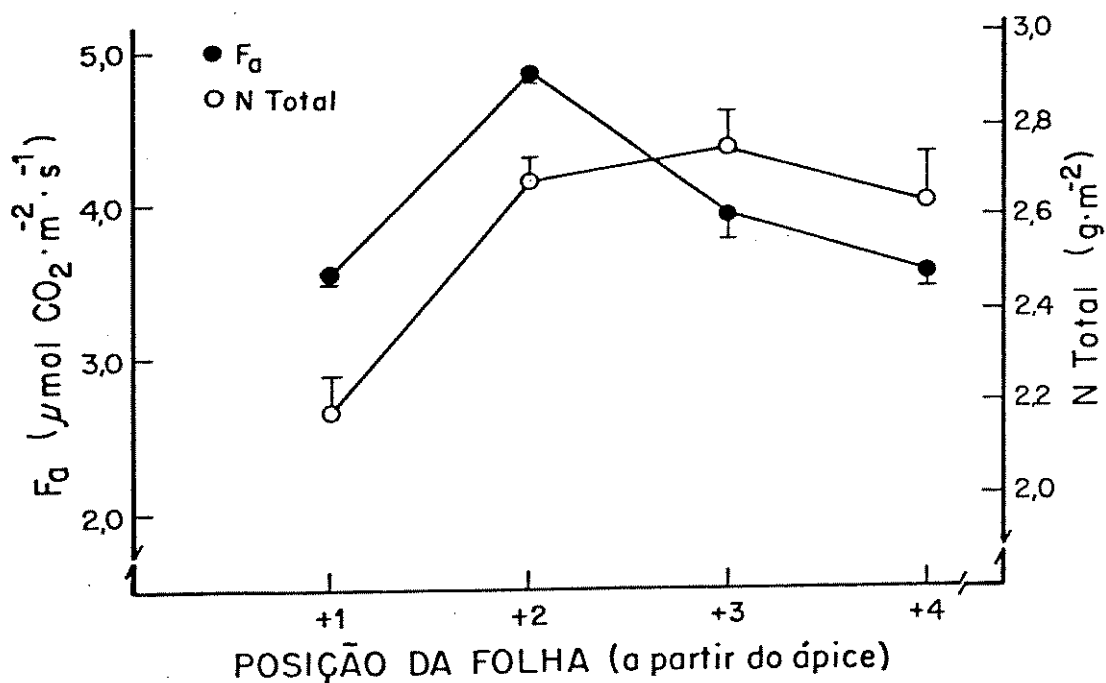


Figura 7. Influência da idade fisiológica de folhas de plantas jovens de café na taxa de fotossíntese aparente (F_a) e no teor de nitrogênio total (N total). Médias de quatro repetições. Barras = s(m).

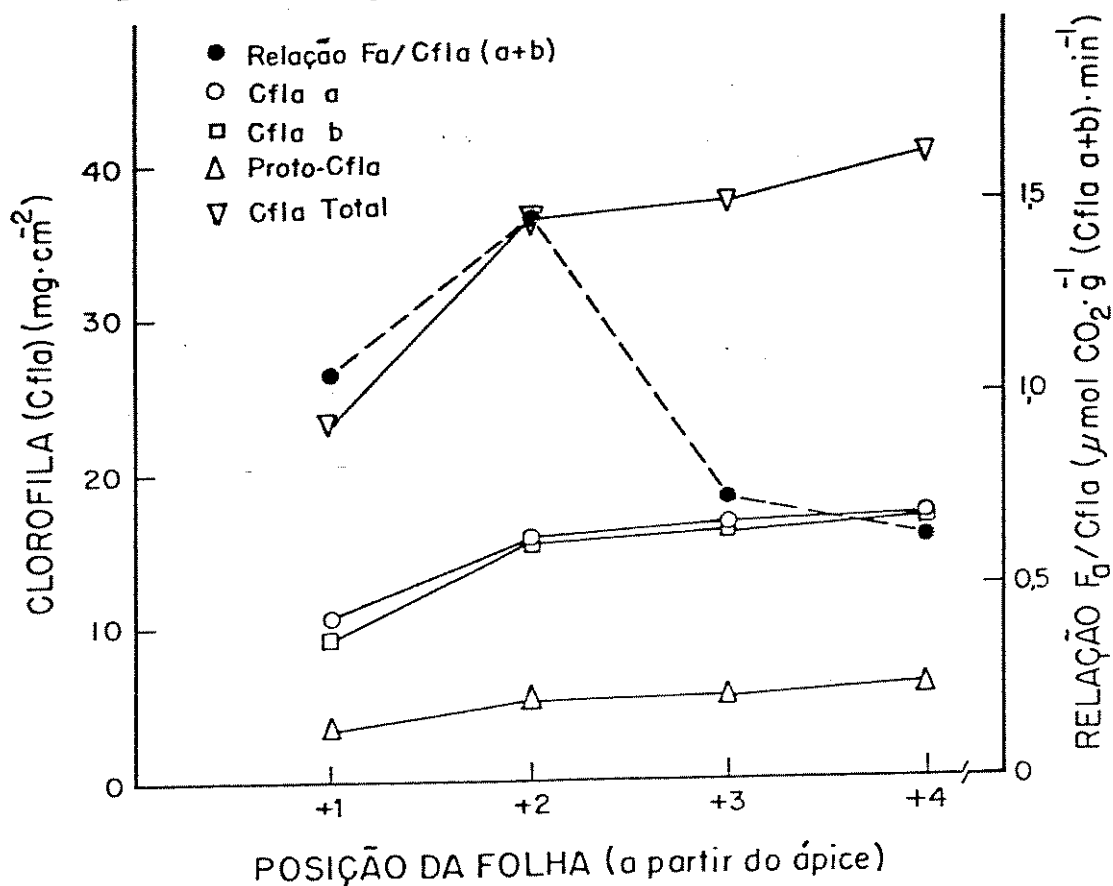


Figura 8. Influência da idade fisiológica de folhas de plantas jovens de café nos teores de clorofilas e na relação fotossíntese aparente/clorofilas (a e b). Médias de quatro repetições.

A taxa fotossintética, expressa por unidade de clorofila (eficiência fotossintética), é mostrada na fig. 8. Observa-se que durante o processo de expansão da folha, os aumentos nas taxas fotossintéticas por unidade de área (Fig. 7), e por unidade de clorofila (Fig. 8), são estritamente paralelos. Entretanto, nas folhas fisiologicamente maduras (+3 e +4) a queda na taxa fotossintética, expressa por unidade de clorofila (Fig. 8), é bem mais acentuada do que quando expressa por unidade de área (Fig. 7). Esses dados mostram que as folhas maduras tem menor eficiência fotossintética, apesar de apresentarem maiores teores de clorofila, e enfatizam que outros fatores podem estar envolvidos na diminuição da taxa de fotossíntese observada com o aumento da idade da folha.

No período de crescimento compreendido entre a emergência e a expansão total, as folhas apresentam intensa atividade metabólica que se traduz por aumento na fotossíntese, que é acompanhado por acréscimos nas concentrações de clorofila e proteína, na atividade da enzima ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO), na transpiração, e no aumento da condutância estomática e interna da folha à difusão do CO_2 (BAKER e HARDWICK, 1973; CONSTABLE e RAWSON, 1980; CHAVES, 1966; FORD e SHIBLES, 1988).

Os resultados apresentados neste trabalho mostram que, em plantas de café, o aumento da taxa fotossintética durante a expansão da folha, também foi relacionado com os acréscimos nos teores de clorofila e de N total (Figuras 7 e 8).

Um aspecto a ser destacado é que, mesmo após atingir a expansão total, as folhas de plantas de café continuam a acumular clorofila, embora a taxas menos intensas (Fig. 8). Em plantas de cacau, a principal síntese da clorofila ocorre somente após a folha ter atingido sua expansão total (BAKER e

HARDWICK, 1973). Esse padrão de síntese de clorofila é bastante diferente daquele apresentado em folhas de espécies de clima temperado, nas quais o teor de clorofila por unidade de área geralmente atinge um máximo antes da expansão total da folha (BAKER e HARDWICK, 1973).

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o início do declínio na taxa fotossintética em folhas maduras de plantas de café não foi acompanhado por quedas na concentrações de clorofila e de N total que, ao contrário, continuaram a aumentar levemente. FRIEDRICH e HUFFAKER (1980) sugeriram que o mecanismo responsável pela perda de clorofila não está relacionado com a capacidade fotossintética, e que o processo de degradação pode ser retardado devido a associação da clorofila com a membrana do tilacóide.

A duração do período de declínio gradual da fotossíntese varia amplamente entre as espécies e pode durar de poucas semanas, em espécies anuais como soja e cevada, a meses ou mesmo anos como em *Phoenix dactylifera* (HOPKINSON, 1964). O cafeeiro é uma espécie perene e seria pouco provável que as folhas, logo após atingirem a expansão total (+3 e +4), entrassem em processo de senescência. Portanto, outros fatores estruturais e bioquímicos devem estar envolvidos na queda da fotossíntese que se verifica nas folhas maduras de plantas de café.

3.4. INFLUÊNCIA DE NÍVEIS DE IRRADIÂNCIA E DE NITROGÊNIO NO CRESCIMENTO DA PLANTA E NAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, ANATÔMICAS E FOTOSSINTÉTICAS DA FOLHA

3.4.1. Crescimento da planta

A análise de crescimento das plantas, efetuada no final do período dos tratamentos de luz e de nitrogênio, é mostrada no quadro 3.

QUADRO 3 - Efeitos de níveis de irradiância e de nitrogênio no crescimento de plantas jovens de café. Médias de cinco repetições.

| TRATAMENTOS | ALTURA | | ÁREA FOLIAR | | FINAL DO TRATAMENTO | |
|--------------|---------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------------------------|---|
| | Inicial | Final | Inicial | Final | Nº de pares folha.pl ⁻¹ | Peso foliar específico mg(mf).cm ⁻² |
| | cm | | dm ² .pl ⁻¹ | | | mg(ms).cm ⁻² |
| + N SOL | 11,39 | 26,63 ^{a(1)} | 1,36 | 5,48 ^b | 7,38 ^a | 23,57 ^a |
| + N SOMBRA | 11,90 | 26,91 ^a | 1,32 | 5,97 ^a | 7,05 ^b | 20,15 ^b |
| - N SOL | 11,61 | 20,25 ^b | 1,37 | 3,60 ^c | 6,47 ^c | 23,34 ^a |
| - N SOMBRA | 11,78 | 21,02 ^b | 1,32 | 3,74 ^c | 5,82 ^d | 20,27 ^b |
| F | 0,58 | 64,74 [*] | 1,50 | 112,11 [*] | 92,50 [*] | 16,50 [*] |
| CV. % | 3,44 | 5,27 | 4,73 | 6,85 | 3,05 | 4,73 |
| DMS TUKEY 5% | - | 1,70 | - | 0,44 | 0,28 | 1,94 |

* Significativo ao nível de 5%. (1) Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si ao nível de 5% (teste de Tukey).

Pode ser observado que a altura das plantas foi significativamente aumentada pela suplementação nitrogenada e que esse aumento, em torno de 30%, foi independente do regime de luz estabelecido durante o período de crescimento. A área foliar também foi aumentada pela suplementação nitrogenada, sendo que esse aumento foi acentuado pelo sombreamento das plantas. O peso foliar específico (peso de matéria seca da folha por área de folha) foi afetado pelos tratamentos de luz, independente da suplementação nitrogenada. Deste modo, o peso foliar específico das plantas cultivadas a pleno sol foi em média 15% maior do que o das plantas sob sombra.

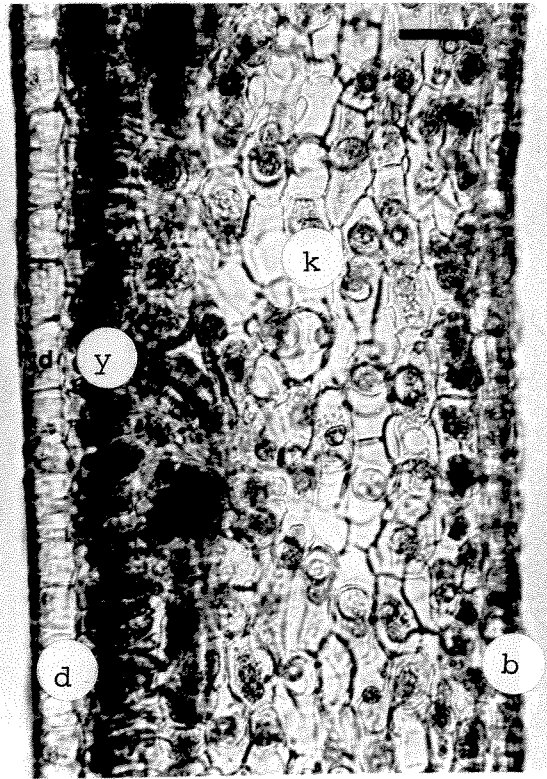
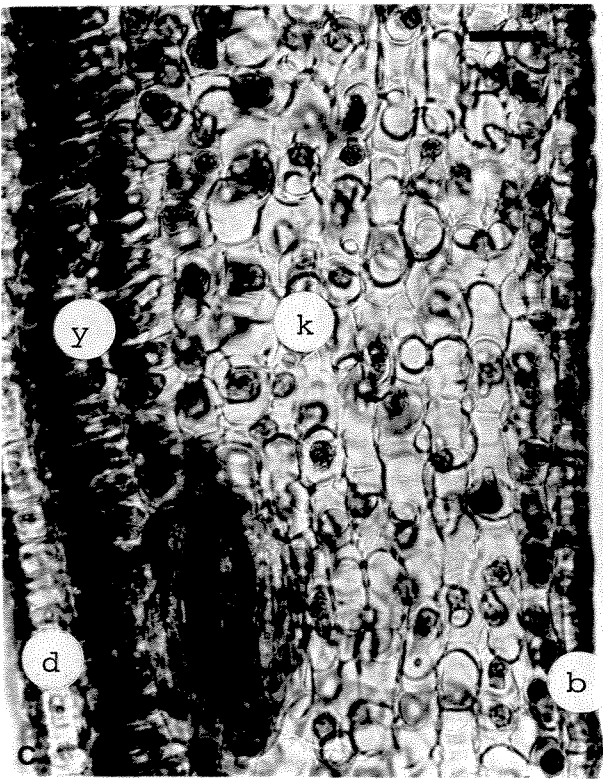
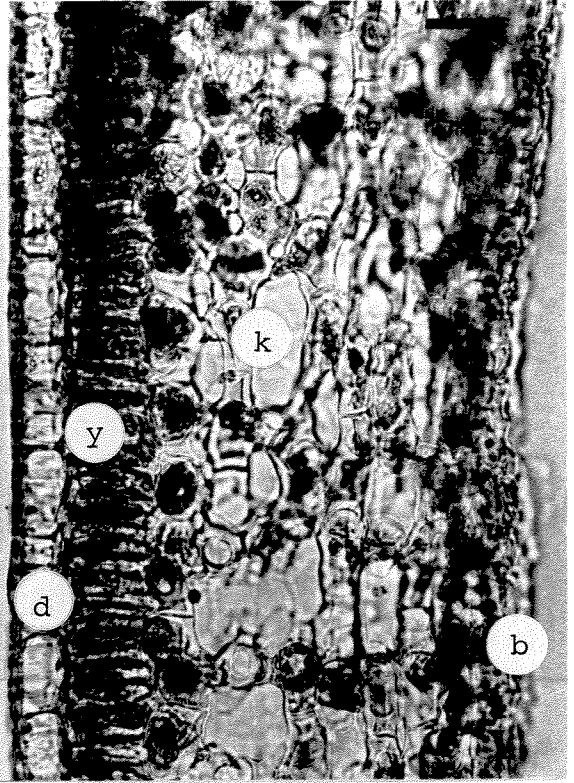
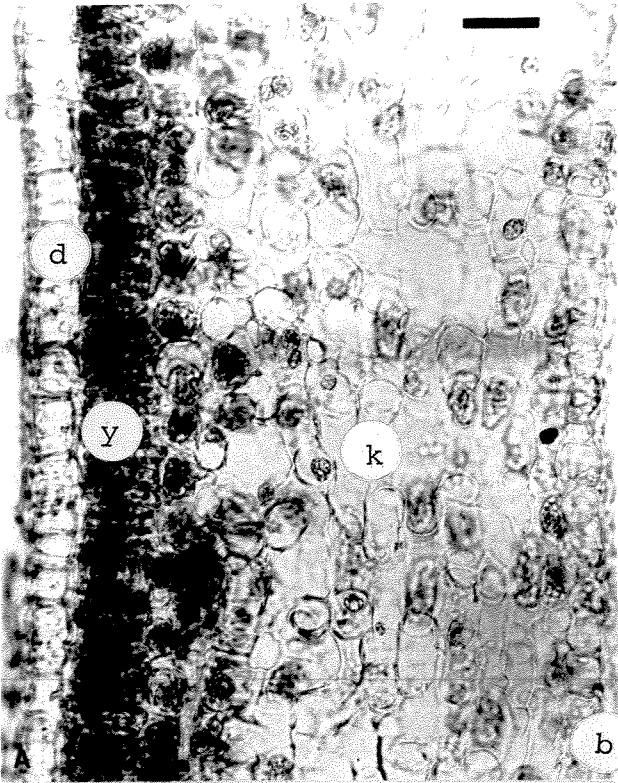
O número de pares de folhas presentes no ramo ortotrópico cresceu significativamente, tanto com a suplementação nitrogenada como com a maior intensidade de radiação recebida durante o período de crescimento.

A suplementação nitrogenada também estimulou a produção de matéria seca das folhas que, entretanto, não foi afetado pelos tratamentos de luz.

3.4.2. Características anatômicas e ultra-estruturas de folhas

As características anatômicas e ultra-estruturais das folhas de plantas cultivadas à sombra e a pleno sol, com e sem suplementação nitrogenada, são apresentadas no quadro 4 e nas figuras 9 e 10.

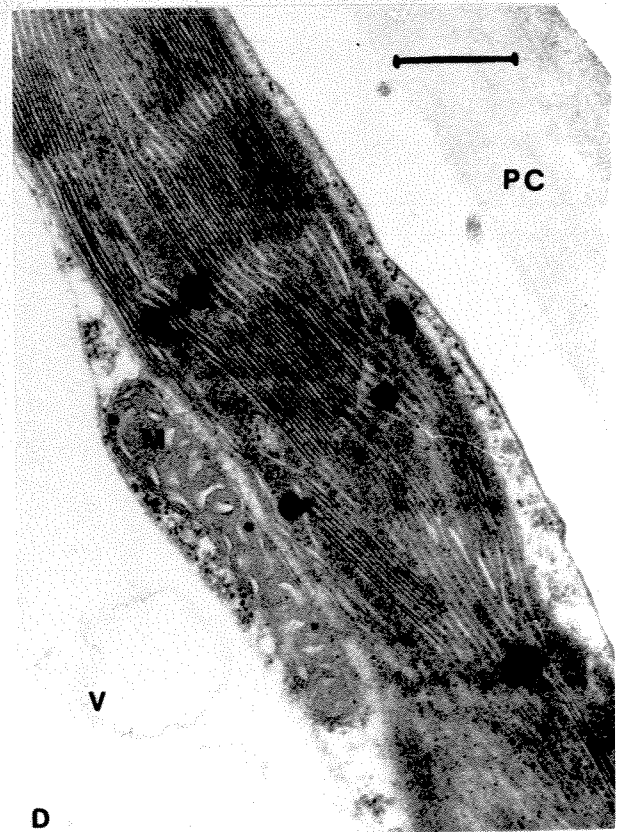
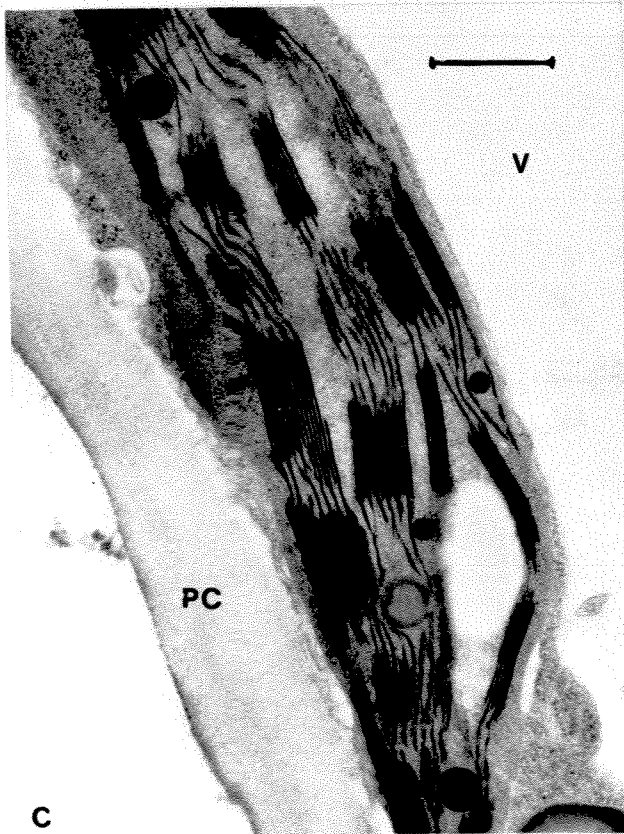
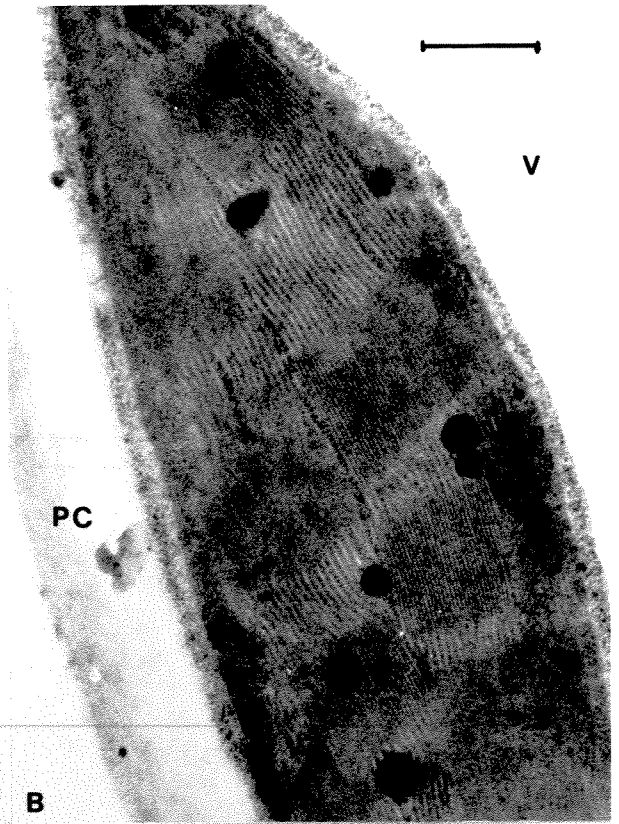
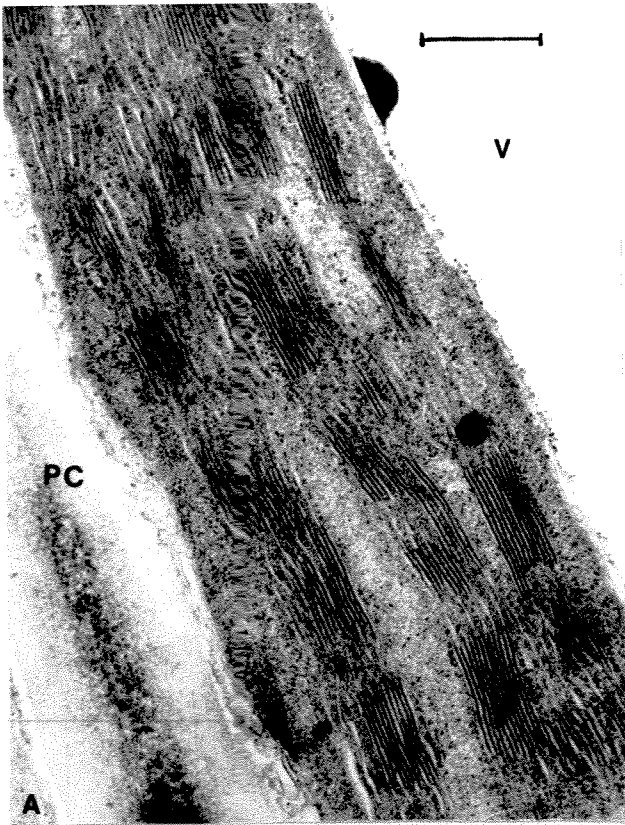
Pode ser observado pelo quadro 4 que, tanto os tratamentos de luz como de nitrogênio afetaram algumas características anatômicas da folha. Os cortes transversais mostram que a espessura total da folha foi cerca de 11% maior nas plantas cultivadas a pleno sol, nas quais o efeito do nitrogênio foi



QUADRO 4 - Características anatômicas de folhas de plantas jovens de café cultivadas a pleno sol e à sombra com e sem suplementação nitrogenada. Médias de oito repetições.

| TRATAMENTOS | µm | | | | | | | | | |
|--------------|----------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--|--|--|
| | CUTÍCULA SUPERIOR | EPIDERME SUPERIOR | PARÊNQUIMA PALIÇADICO | PARÊNQUIMA LACUNOSO | EPIDERME INFERIOR | CUTÍCULA INFERIOR | ESPESSURA TOTAL | | | |
| + N SOL | 4,99 ^{b(1)} | 24,31 ^a | 62,94 ^c | 209,29 ^c | 19,98 | 2,66 | 321,17 ^c | | | |
| + N SOMBRA | 2,50 ^a | 27,64 ^b | 53,28 ^b | 179,65 ^a | 19,98 | 2,66 | 285,71 ^a | | | |
| - N SOL | 3,66 ^{ab} | 26,64 ^{ab} | 57,28 ^b | 197,14 ^{bc} | 20,65 | 2,66 | 308,03 ^b | | | |
| - N SOMBRA | 2,83 ^a | 25,97 ^{ab} | 38,29 ^a | 189,48 ^{ab} | 19,31 | 2,63 | 278,52 ^a | | | |
| F | 8,30 [*] | 3,48 [*] | 74,33 [*] | 17,54 [*] | 0,53 ^{ns} | 0,005 ^{ns} | 44,19 [*] | | | |
| C.V. % | 34,99 | 9,07 | 7,30 | 4,42 | 1,95 | 3,29% | 3,29 | | | |
| DMS TUKEY 5% | 1,50 | 2,90 | 4,73 | 10,46 | - | - | 12,02 | | | |

* Significativo ao nível de 5%. (1) Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si ao nível de 5% (teste de Tukey).



mais pronunciado do que nas plantas de sombra. Esse aumento da espessura foi devido, principalmente, às maiores dimensões dos parênquimas paliçádico e lacunoso, uma vez que as espessuras das epidermes e cutículas permaneceram praticamente inalteradas. De um modo geral, verificou-se que os tratamentos de luz induziram maiores alterações nas características anatômicas das folhas do que a suplementação nitrogenada.

Na figura 9 pode ser observado que o aumento da espessura do parênquima paliçádico das folhas das plantas cultivadas a pleno sol foi decorrente, tanto da expansão longitudinal nas células como também no aparecimento de uma segunda camada de células neste tecido, em relação ao tratamento de sombra (Fig. 9).

A figura 10 mostra as micrografias representativas da ultra-estrutura dos cloroplastos de folhas, feitas em microscópio de transmissão eletrônica (MET). Pode ser observado que, nos cloroplastos das folhas das plantas crescidas à sombra, a quantidade de tilacóides por granum e o número de grana por cloroplasto aumentou consideravelmente (Fig. 10B e 10D) em relação aos cloroplastos de folhas mantidas ao sol (Fig. 10A e 10C), e que tal efeito foi acentuado pela suplementação nitrogenada (Fig. 10A e 10B).

3.4.3. Composição química das folhas

a. Teores de nitrogênio total

As concentrações de nitrogênio total, bem como as relações teor de clorofila total e taxa de assimilação de CO_2 por unidade de nitrogênio da folha, estão expressas no quadro 5. De modo geral, as folhas das plantas cultivadas a pleno sol mostraram maiores valores de N total, independente da suplemen-

QUADRO 5. Influência de níveis de luz e de suplementação nitrogenada sobre o teor de nitrogênio (expresso em peso de matéria seca e de área foliar) sobre as relações existentes entre os teores de nitrogênio total e clorofila e entre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) e o teor de nitrogênio total, em folhas de plantas jovens de café. (Médias de cinco repetições).

| TRATAMENTOS | N Total | | N Total.Cfla ⁻¹ | Cfla/N Total | $F_a \cdot g^{-1}N$ Total |
|--------------|--------------------------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------|---|
| | g.100g ⁻¹ de m.s.folha | g.m. ⁻² de folha | g.g ⁻¹ | g.g ⁻¹ | $\mu mol CO_2 \cdot g^{-1}N \cdot s^{-1}$ |
| + N SOL | 4,38 ^b (1) | 3,09 ^C | 6,79 ^b | 0,149 ^a | 2,34 ^{ab} |
| + N SOMBRA | 4,01 ^b | 2,40 ^b | 4,23 ^a | 0,244 ^b | 2,30 ^a |
| - N SOL | 2,80 ^a | 1,80 ^a | 7,0 ^b | 0,143 ^a | 2,85 ^{bc} |
| - N SOMBRA | 2,64 ^a | 1,59 ^a | 4,69 ^a | 0,213 ^b | 3,08 ^C |
| F | 26,01 [*] | 37,34 [*] | 25,72 [*] | 13,63 [*] | 8,33 [*] |
| CV% | 11,04 | 10,70 | 14,32 | 14,32 | 10,72 |
| DMS Tukey 5% | 0,72 | 0,45 | 1,17 | 0,059 | 0,53 |

* Significativo ao nível de 5%. (1) Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si ao nível de 5% (teste de Tukey). MS = matéria seca.

tação nitrogenada (Quadro 5). Pelo mesmo quadro verifica-se que a relação teor de clorofila total: teor de N da folha, por área foliar, foi cerca de uma vez e meia maior nas plantas cultivadas à sombra do que nas plantas cultivadas a pleno sol, e essa relação não foi afetada pela suplementação nitrogenada.

Os valores da taxa de assimilação de CO_2 por unidade de N total da folha tendeu a crescer em plantas não suplementadas com nitrogênio, e esse efeito foi mais pronunciado nas plantas cultivadas em condições de sombra.

Verifica-se também, que o teor de nitrogênio total das folhas das plantas suplementadas com nitrogênio foi significativamente superior ao das folhas das plantas não suplementadas, tanto expresso em base de peso da matéria seca de folha como em base de área foliar, situando-se esses valores acima de 54% (Quadro 5). Em termos de peso da matéria seca, não houve diferença entre os tratamentos de luz, quer em plantas suplementadas como não suplementadas com N. Contudo, considerando-se o teor de N total em base de área foliar, os tratamentos suplementados com N e conduzidos a pleno sol apresentaram valores significativamente superiores aos conduzidos à sombra. Esse acréscimo é consequência, principalmente, da maior massa foliar específica verificada nas plantas de sol suplementadas com N (Quadro 3).

Considerando o valor da eficiência no uso de nitrogênio como a razão da taxa de fotossíntese máxima na saturação luminosa e teor de nitrogênio total da folha ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{g N}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) as plantas conduzidas sem suplementação apresentaram maior eficiência no uso do nitrogênio.

b. Teores de clorofila

No quadro 6 são apresentados os teores de Cfla a, Cfla b e protoCfla nas folhas. Verifica-se que os teores de todas as formas de clorofilas foram significativamente maiores nas folhas das plantas conduzidas à sombra (Quadro 6). Por outro lado, como seria esperado, o teor de Cfla também aumentou consideravelmente com a suplementação nitrogenada. Nos dois níveis de nitrogênio o aumento do teor de Cfla total causado pelo sombreamento das plantas foi cerca de 25%, enquanto que o acréscimo causado pela suplementação nitrogenada, em ambas as condições de luz, foi de aproximadamente 40%. Nenhum dos tratamentos efetuados, tanto os de luz como os de nitrogênio, causaram alterações significativas nas relações Cfla a/Cfla b e Cfla a/ProtoCfla. Ocorreram, entretanto, tendências de aumento nessas relações nas folhas das plantas não suplementadas com nitrogênio, em relação às que receberam nitrogênio.

Os valores referentes à taxa de fotossíntese aparente (F_a) por unidade de peso de Cfla total ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{Cfla} \cdot \text{s}^{-1}$), com base na área foliar, foram maiores nas plantas cultivadas a pleno sol. Por outro lado, o fornecimento de nitrogênio reduziu significativamente essa relação em ambos os tratamentos de luz.

3.4.4. Fotossíntese aparente (F_a) e eficiência quântica (Φ) em resposta a níveis crescentes de irradiância

Na Figura 11 são apresentadas as curvas representativas da fotossíntese aparente (F_a) de plantas de café conduzidas a pleno sol ou à sombra, com ou sem suplementação nitroge-

QUADRO 6. Teores de clorofila (*a*, *b*, protoclórofila e total), relação entre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) e o teor de clorofila total, e relação entre as concentrações de clorofilas *a*, *b*, e entre a clorofila *a* e protoclórofila, em folhas de plantas jovens de café cultivados a pleno sol e a sombra, com e sem suplementação nitrogenada. Dados médios de quatro repetições.

| TRATAMENTOS | TEOR DE CLOROFILA (Cfla) | | TOTAL | $F_a/Cfla$ | RELAÇÃO | |
|--------------|---|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------------------------|
| | <i>a</i> | <i>b</i> | | | Cfla <i>a/b</i> | Cfla <i>a/PROTCfla</i> |
| | $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ de folha | | | | | |
| | $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Cfla} \cdot \text{s}^{-1}$ | | | | | |
| + N SOL | 0,199 ^{c(1)} | 0,176 ^c | 0,080 ^b | 0,455 ^c | 15,82 ^c | 1,13 ^{ab} 2,50 |
| + N SOMBRA | 0,243 ^d | 0,226 ^d | 0,098 ^c | 0,567 ^d | 9,70 ^a | 1,07 ^a 2,49 |
| - N SOL | 0,125 ^a | 0,104 ^a | 0,041 ^a | 0,270 ^a | 19,66 ^d | 1,20 ^b 3,06 |
| - N SOMBRA | 0,154 ^b | 0,135 ^b | 0,051 ^a | 0,339 ^b | 14,45 ^b | 1,14 ^{ab} 3,05 |
| F | 76,85 [*] | 126,99 [*] | 45,20 [*] | 93,78 [*] | 218,73 [*] | 10,78 [*] 6,06 [*] |
| CV % | 6,57 | 5,86 | 11,59 | 6,62 | 3,76 | 2,75 9,56 |
| DMS TUKEY 5% | 0,026 | 0,021 | 0,017 | 0,060 | 1,23 | 0,07 0,58 |

* Significativo ao nível de 5%. (1) Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si ao nível de 5% (teste de Tukey).

nada, em resposta a níveis crescentes de irradiância. As curvas foram ajustadas pela função do tipo:

$$F_a = A + B \sqrt{x} + Cx$$

onde F_a é a taxa de fotossíntese aparente em $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, x é a variável apresentando as diversas densidades de fluxo de fótons (DFF) em $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ e A, B e C são parâmetros da função.

Esta função se ajustou bem aos valores das respostas da taxa de fotossíntese aos níveis de irradiância, apresentando para os quatro tratamentos coeficientes de determinação superiores a 99%.

A capacidade fotossintética em todos os tratamentos aumentou com o aumento da DFF até atingir um máximo, decrescendo a seguir (Fig. 11A e B).

A taxa fotossintética máxima alcançada pelas plantas dos tratamentos que receberam suplementação nitrogenada foi de 7,19 e de 5,46 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, e para os não suplementados foi de 5,28 e de 4,90 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, quando conduzidos à pleno sol e à sombra, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores (BOLTON e BROWN, 1980; GULMON e CHU, 1981; EVANS, 1983; SEEMANN *et al.*, 1987) em outras espécies, nas quais obtiveram respostas lineares na taxa de fotossíntese em relação às condições de N foliar, dentro de determinados limites de concentração desse elemento.

Por esses dados observou-se que o aumento da capacidade fotossintética das plantas que receberam suplementação nitrogenada, em relação às não suplementadas, quando conduzidas a pleno sol, foi cerca de 32% maior do que das conduzidas à sombra.

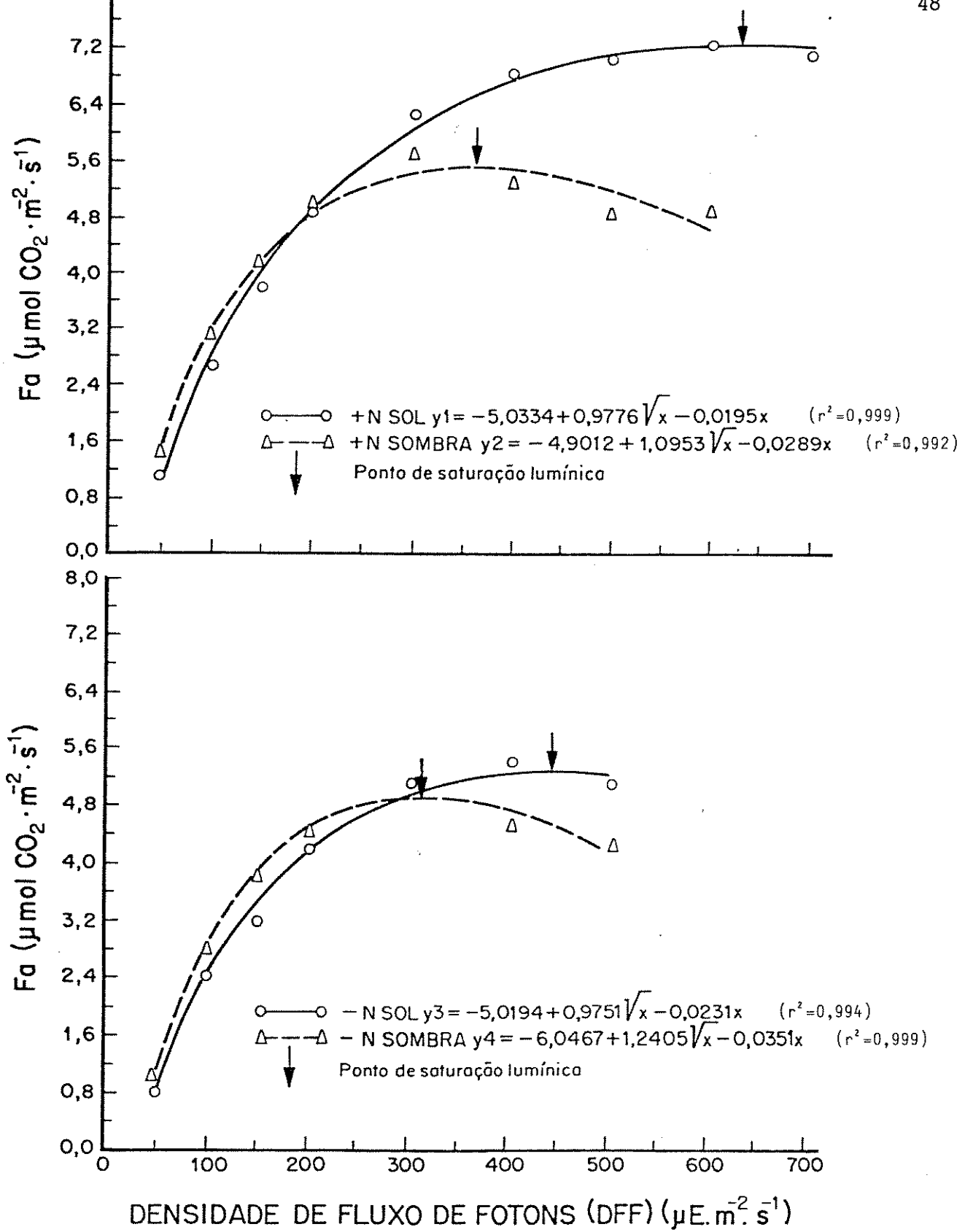


Figura 11 - Efeitos de várias Densidades de Fluxo de Fotons (DFF) sobre a taxa de fotossíntese aparente (F_a) em folhas de plantas jovens de café, conduzidas a pleno sol e a 50% de luz solar, com e sem suplementação nitrogenada. Médias de quatro repetições.

Quadro 7. Valores da densidade de fluxo de fótons (DFP) incidente no ponto de compensação de luz (I_o), no ponto de saturação lumínica (I_{sat}) e de eficiência quântica aparente (ϕ) de folhas de plantas de café. Temperatura média da folha $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

| Tratamentos | I_o | I_{sat} | ϕ * |
|-------------|------------------------------------|-----------|---------------------------------------|
| | $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ | | $\mu\text{mol CO}_2.\mu\text{E}^{-1}$ |
| + N SOL | 34,0 | 657 | 0,067 |
| + N SOMBRA | 26,9 | 359 | 0,078 |
| - N SOL | 36,0 | 445 | 0,063 |
| - N SOMBRA | 34,1 | 312 | 0,070 |

* Calculada pela relação entre o acréscimo da taxa fotossintética pela aplicação de um $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, a partir do ponto de compensação lumínica.

Com relação à saturação lumínica, verificou-se que nas plantas suplementadas com nitrogênio, quando conduzidas a pleno sol, ela ocorreu ao redor de uma DFF de $628 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, enquanto que nas conduzidas à sombra a saturação foi alcançada a $359 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Fig. 11A,B e Quadro 7). As plantas não suplementadas com N apresentaram, para a saturação lumínica um padrão de comportamento semelhante às das plantas com suplemento nitrogenado. Conseqüentemente, em condições de alta intensidade de luz, as plantas conduzidas a pleno sol apresentaram maior conversão de luz do que aquelas conduzidas em condições de sombra.

Entretanto, com suplementação nitrogenada, em irradiâncias inferiores a $200 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, as plantas de sombra apresentaram taxas fotossintéticas superiores às das plantas de sol, portanto, ao contrário de condições de alta irradiância, as plantas de sombra apresentaram maior eficiência na conversão de luz que as plantas de sol. As plantas não suplementadas com nitrogênio (-N) apresentaram padrão de comportamento da taxa de fotossíntese, em resposta a níveis de DFF, semelhantes às plantas suplementadas com aquele elemento, mostrando valores inferiores aos apresentados pelas primeiras.

Os valores da eficiência quântica aparente (Φ) das plantas cultivadas nos tratamentos anteriores referidos, calculados como o aumento da taxa de fotossíntese aparente instantânea, em $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, em incremento de $1,0 (\mu\text{m}) \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, acima do ponto de compensação lumínica, e calculados pelas funções apresentadas na figura 11A,B, são mostrados no quadro 7. Verifica-se que a eficiência quântica foi pouco afetada pela suplementação nitrogenada. Por outro lado, as plantas crescidas a sombra, apresentaram valores para eficiência quântica 24% superior aos valores das plantas crescidas a pleno sol.

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados apresentados relatam diversos aspectos importantes associados às respostas de plantas de café com relação à irradiância e disponibilidade de nitrogênio durante o crescimento.

Dados experimentais têm demonstrado que, tanto a arquitetura como a estrutura foliar podem ser grandemente influenciadas pelo nível de irradiância durante o crescimento, observando-se um aumento na espessura da folha e no peso foliar específico com o aumento da densidade de fluxo de fótons (BJORKMAN, 1981).

O cafeeiro, uma planta de hábito umbrófilo, quando cultivado a pleno sol, apresentou aumento médio de 15% no peso foliar específico e maior número de pares de folhas, quando comparado com tratamento sombreado (Quadro 3). Entretanto, a área foliar total das plantas de pleno sol, foi cerca de 70% inferior à das plantas sombreadas, devido à menor área de cada folha. Tais resultados concordam com os dados previamente obtidos em plantas de café (TANADA, 1946; YAMAGUCHI e FRIEND, 1979), de maçã (MAQQS, 1960) de arbusto Chaparral (GULMON e CHU, 1981), de pêssego (KAPPEL e FLORE, 1983), e de citrus (SYVERTSEN e SMITH, 1984), nos quais o sombreamento reduziu o peso foliar específico e o número de folhas, e aumentou a área foliar total.

As observações anatômicas das folhas de café crescendo a pleno sol revelaram que o aumento no peso foliar específico, ou seja, na espessura, foi decorrente, principalmente, de um alongamento longitudinal das células do parênquima paliçádico, às vezes acompanhado pelo aparecimento de uma segunda camada de células. Foi observado, também, aumento no número de células do parênquima lacunoso nas folhas cultivadas a pleno sol (Quadro 3, Figura 9). SYVERTSEN e SMITH (1984) também observaram que folhas de plantas de citrus crescendo a pleno sol, possuíam maior espessura e densidade do que folhas que se desenvolveram em ambiente 50% sombreado. Aqueles autores verificaram que, nas folhas das plantas mantidas a pleno sol, ocorreu a formação de uma segunda camada de células no parênquima paliçádico.

Tais alterações na estrutura das folhas podem ser relevantes do ponto de vista fisiológico, pois o aumento no volume de mesófilo se refletiria em maior espaço disponível para o alojamento da estrutura fotossintética (BJORKMAN, 1981), e maior superfície interna para a difusão do CO_2 (NOBEL e WALKER, 1985), quando expressos por unidade de área foliar.

A capacidade de alterar a estrutura da folha em resposta a diferentes níveis de luz, é um atributo comum das espécies que apresentam amplo potencial de aclimatação (BJORKMAN, 1981). A espécie *Coffea arabica* é originária da Etiópia, onde cresce permanentemente sob sombreamento em habitat de florestas tropicais (KUMAR, 1979). Embora originalmente seja uma espécie adaptada à sombra, no Brasil o cafeeiro é cultivado economicamente a pleno sol, entretanto, em alguns países como na Colômbia, podem ser encontradas culturas sombreadas. Os resultados apresentados neste trabalho sugerem a ocorrência de grande capacidade de adaptação das plantas aos diferentes níveis

de irradiância que, sob condições sombreadas, apresentam folhas mais delgadas e maior área foliar, permitindo maior eficiência na interceptação e absorção da luz disponível. Por outro lado, quando cultivadas em condições de luz solar plena, as plantas de café apresentaram menor área foliar, investindo a maior parte da energia para aumentar a espessura da folha, permitindo, deste modo, maior superfície interna para a difusão do CO_2 além de maior volume disponível para abrigar o aparelho fotossintético (BJORKMAN, 1981).

Entretanto, as alterações que ocorrem na estrutura das folhas, em resposta aos níveis de irradiância, não seriam fisiologicamente importantes se não se refletissem na atividade fotossintética, como ocorre em espécies obrigatórias de sombra (BJORKMAN, 1981). Os resultados apresentados mostram que os aumentos na área e no volume do mesófilo das folhas das plantas cultivadas a pleno sol, com suprimento adequado de nitrogênio, foram acompanhados por acréscimos na taxa fotossintética (Fig. 11A). BJORKMAN (1981) sugeriu que maiores taxas fotossintéticas somente ocorrem quando os aumentos nas relações volume do mesófilo/área da folha (V_{mes}/A), e área do mesófilo / área da folha (A_{mes}/A) forem acompanhados por acréscimos no conteúdo de compostos potencialmente limitantes da fotossíntese, tais como ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO) e transportadores eletrônicos, bem como outros determinantes a nível de cloroplastos.

Os resultados mostrados no quadro 3 indicam que o fornecimento de nitrogênio proporcionou maior crescimento das plantas, evidenciado pelos aumentos na altura, área foliar e na emissão de novos pares de folhas.

Vários autores têm demonstrado que o crescimento das plantas cultivadas em níveis sub-ótimos de nitrogênio é li-

mitado, principalmente, pela redução da área foliar do que pelos seus efeitos sobre a intensidade fotossintética dessa superfície (KOO e SIJES, 1956; WATSON *et al.*, 1958; HALSE *et al.*, 1969; BOUMA, 1970; LANGER e LIEW, 1973; PEARMAN *et al.*, 1977; SEEMANN *et al.*, 1987). Para um mesmo nível de irradiância as plantas suplementadas com nitrogênio tiveram área foliar e altura aumentados em aproximadamente 55% em relação às plantas não suplementadas (Quadro 3). Entretanto, nas plantas conduzidas a pleno sol, a taxa fotossintética máxima, expressa por unidade de área foliar, aumentou 36% com a suplementação nitrogenada. Tal efeito não foi tão pronunciado nas plantas sombreadas, nas quais a suplementação nitrogenada produziu aumento de 11% na taxa fotossintética (Fig. 11A,B). Portanto, os dados indicam que, em alta irradiância, o efeito do nitrogênio no crescimento de planta de café estaria correlacionado não só com o aumento na produção da área foliar, mas também com a elevação da intensidade fotossintética.

O teor de nitrogênio total por área de folha aumentou com a suplementação nitrogenada (Quadro 4), concordando com os dados obtidos por KOO e SIJES (1956), GULMON e CHU (1981) e SYVERTSEN e SMITH (1984). TERASHIMA e EVANS (1988) verificaram que em espinafre, cerca de 24% do nitrogênio da folha foi alocado nas membranas dos tilacóides, independentes do nível de nutrição nitrogenada e da irradiância durante a fase de crescimento. O nitrogênio contido nos tilacóides é um importante parâmetro para a avaliação da eficiência fotossintética que, entretanto, raramente é quantificado (MORITA, 1980; EVANS, 1987; TERASHIMA e EVANS, 1988), sendo o teor de clorofila o componente frequentemente determinado. TERASHIMA e EVANS (1988) consideram que a relação entre o teor de nitrogênio dos tilacóides e o conteúdo de nitrogênio total da folha pode ser

estimado pela razão entre o teor de clorofila e a quantidade de nitrogênio total da folha, uma vez que a relação entre os conteúdos de clorofila e nitrogênio dos tilacóides permanece aproximadamente constante. Os dados apresentados no quadro 4 mostram que a razão clorofila/N total da folha decresceu com o aumento da irradiância, não sendo, entretanto, afetado pelo nível do nitrogênio disponível para as plantas. Esses resultados concordam com os dados obtidos por outros autores utilizando, inclusive, plantas perenes, tais como, citrus (SYVERTSEN e SMITH, 1984) e em *Alocasia macrorrhiza* (SEEMAN *et al.*, 1987). Os resultados apresentados mostram que a redução na razão clorofila / N total nas folhas de plantas de café cultivadas a pleno sol, foi devido à diminuição do teor de clorofila (Quadro 5), e a uma provável intensificação dos processos de absorção, transporte e acumulação de nitrogênio nas folhas, principalmente na forma de NO_3^- (SAGE e PEARCY, 1987), traduzida por aumento na quantidade de N total expresso em unidade de área foliar (Quadro 4). Considerando-se a relação acima descrita como indicativa da razão entre N dos tilacóides e N total da folha, pode-se dizer que, sob plena irradiância, menor proporção do N da folha foi alocado nos tilacóides de plantas de café. Entretanto, em folhas de citrus, o efeito da alta irradiância na razão teor de clorofila/N total foi atribuído, parcialmente, a fenômenos de foto-inibição (SYVERTSEN e SMITH, 1984). BJORKMAN (1981) também relata observações de fotoinibição e degradação de clorofila em folhas de plantas no campo, expostos a altos níveis de irradiância. Tal fato também pode ter ocorrido em plantas de café a pleno sol, pois as folhas apresentaram sintomas de clorose.

A redução do teor de clorofila sob condições de alta irradiância pode estar associada à diminuição da concentração de clorofila b, observado nas folhas de plantas de café

crescidas a pleno sol. GOODCHILD *et al.* (1966), utilizando mutante de aveia desprovido de clorofila b, concluíram que esse pigmento não é um componente estrutural essencial das grana de cloroplastos de planta superiores. Entretanto, a deficiência de clorofila b causa inibição da formação dos tilacóides e, conseqüentemente, na estruturação dos granum. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que folhas de plantas conduzidas a pleno sol apresentaram, em média, teor de clorofila b 22% menor do que folhas de plantas crescidas na sombra.

As fotomicrografias ao microscópio eletrônico de ultra estrutura dos cloroplastos indicaram que a quantidade de grana e o número de tilacóides por granum foi sensivelmente maior nos cloroplastos de folhas crescidas sob baixa irradiância, em relação soa cloroplastos de folhas submetidas a alta irradiância (Fig. 10). Este comportamento foi semelhante ao observado por ARAUS *et al.* (1986), CHOW *et al.* (1988) e TERASHIMA e EVANS (1988), que verificaram em plantas de sombra não obrigatórias, portanto, semelhantes ao cafeeiro, que o número de grana e de tilacóides por granum aumentou com o decréscimo da irradiância.

Diversos autores (ANDERSON, 1986; BOARDMAN, 1977; EVANS, 1987; TERASHIMA e EVANS, 1988) verificaram que a composição dos tilacóides por unidade de clorofila foi independente do nível de nutrição nitrogenada, mas dependente do nível de radiação durante o crescimento da planta. Em condições plenas de irradiância, tem sido relatado em diversas espécies que a proporção do nitrogênio alocado para proteínas solúveis e RUBISCO aumentou com a quantidade de nitrogênio da folha (WONG, 1979; BJORKMAN, 1981; MAKINO *et al.*, 1984; EVANS, 1986), embora, em baixa irradiância, ocorreu menor comprometimento de nitrogênio para a produção de enzimas fotossintéticas (TERASHIMA e EVANS, 1988).

Desta forma, qualquer variação no conteúdo de nitrogênio na folha poderá resultar em alteração na concentração da RUBISCO, uma vez que essa enzima representa aproximadamente 20% do N total das folhas de plantas C_3 , sob condições adequadas de nutrição e conduzidas a pleno sol (EVANS e SEEMANN, 1984). Em plantas de cafeeiro, o aumento do teor de nitrogênio total na folha proporcionou considerável aumento na intensidade fotossintética máxima por unidade de área foliar, principalmente em condições de alta irradiância.

Diversos pesquisadores têm utilizado a relação entre fotossíntese aparente na saturação lumínica e teor de nitrogênio total da folha, por unidade de área foliar (F_a/N), como indicativa da Eficiência do Uso do Nitrogênio (EUN) (BROWN 1978; SEEMANN *et al.*, 1987; SYVERTSEN, 1984). Em plantas anuais C_3 tem sido observados valores de EUN variando entre 0,2 e 0,3 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{mmol}^{-1} \text{N orgânico} \cdot \text{s}^{-1}$ (LUGG e SINCLAIR, 1981; EVANS, 1983). Plantas lenhosas decíduas e arbustivas apresentam respostas intermediárias, enquanto que espécies que apresentam folhas persistentes o ano todo se caracterizam por baixos valores de EUN (SAGE e PEARCY, 1987). Os dados apresentados no quadro 4 mostram que a Eficiência no Uso do Nitrogênio apresentou valores relativamente baixos, variando de 2,30 a 3,08 $\mu\text{mol de CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{N total} \cdot \text{s}^{-1}$, semelhantes aos valores de 1,9 a 5,6 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{N} \cdot \text{s}^{-1}$ encontrados em citrus (planta lenhosa persistente) (SYVERTSEN, 1984; SYVERTSEN e SMITH, 1984), e ligeiramente inferior aos valores de 6,0 e 7,0 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{N} \cdot \text{s}^{-1}$ encontrados para pêssego (planta lenhosa decídua) (DEJONG, 1983). SYVERTSEN (1984) atribuiu a baixa EUN encontrada nas espécies perenes ao fato de apresentarem taxas fotossintéticas baixas em relação ao conteúdo de N total na folha, comparadas a outras culturas bem fertilizadas (BROWN, 1978; PAVLIK, 1983). O mes

mo autor verificou também, em plantas de citrus, que a falta de significância na relação entre EUN e N total da folha foi, aparentemente, consequência da fraca correlação entre F_a e o N total.

Como foi anteriormente referido (página 55), o teor de clorofila decresceu com o aumento da irradiância durante o crescimento, e como seria esperado, aumentou consideravelmente com a suplementação nitrogenada (Quadro 5). BOARDMAN (1977) relatou que folhas crescendo sob baixa irradiância apresentaram maior teor de clorofila por unidade de peso de folha, entretanto, quando expresso por unidade de área foliar, frequentemente as folhas crescidas sob alta irradiância mostraram teores de clorofila mais elevados do que folhas de sombra. Nossos resultados não estão totalmente de acordo com os de BOARDMAN, embora concordem com dados obtidos por KAPPEL e FLORE (1983), em pêsego, onde o teor de clorofila aumentou com o decréscimo da irradiância, quer expresso em termos de peso de matéria fresca (dados não apresentados) quer em unidade de área foliar.

Folhas crescidas sob alta irradiância, apesar de apresentarem menor teor de clorofila, mostraram aumento da taxa fotossintética por unidade de clorofila, em relação às plantas de baixa irradiância, principalmente sob suplementação com nitrogênio, quando ocorreu um aumento de 63% (Quadro 5). KAPPEL e FLORE (1983) sugeriram que o decréscimo da taxa fotossintética por unidade de clorofila, observada em folhas sombreadas de pessegueiro, em relação às folhas de sol, seria decorrente da baixa eficiência das reações fotoquímicas das folhas de sombra, ou das limitações associadas à fixação do gás carbônico. TERASHIMA e INOUE (1985) atribuem a maior atividade dos cloroplastos adaptados a alta luminosidade, principalmente à elevada concentração de componentes da cadeia de transporte eletrôni

co, plastoquinasas (PQ) e citocromo f (cit. f). Muitas espécies de plantas, incluindo algumas plantas frutíferas (JARVIS, 1971), acimam fotossinteticamente quando crescidas em diferentes níveis de irradiância. Folhas de plantas de café crescidas em dois níveis de irradiância exibiram um comportamento típico de adaptação, onde as folhas de plantas expostas à alta luminosidade apresentaram taxas fotossintéticas máximas superiores às taxas de plantas crescidas à sombra (Fig. 11A,B).

Os resultados mostraram um acréscimo da taxa fotossintética com o aumento da Densidade de Fluxo de Fótons (DFF) (Fig. 11A,B). A característica geral das repostas da taxa de assimilação de CO_2 foram semelhantes às aquelas apresentadas em café por YAMAGUCHI e FRIEND (1979), KUMAR e TIESZEN (1980), e em outras espécies C_3 arbóreas, como espécies de pera (CREWS *et al.*, 1975, maçã (LASKO e SEELEY, 1978), *Diplacus* (GULMON e CHU 1981), pêssigo (DEJONG, 1983), citrus (SYVERTSEN, 1984), videira (CHAVES, 1986), espécies de *Piper* (WALTERS e FIELD, 1987).

Com relação à saturação lumínica, o maior nível alcançado pelas plantas suplementadas com N, conduzidas a pleno sol ($625 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), em relação às plantas suplementadas conduzidas à sombra ($331 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), concordam com resultados obtidos por KUMAR e TIESZEN (1980) mas, ao contrário dos dados encontrados por aqueles autores, os valores das taxas fotossintéticas máximas das plantas de sol foram superiores aos valores das plantas de sombra. Tais resultados estão de acordo com os dados obtidos em plantas de café (YAMAGUCHI e FRIEND, 1979), de pêssigo (KAPPEL e FLORE, 1983), de *Piper* (WALTERS e FIELD, 1987), assim como em inúmeras outras espécies (BJORKMAN, 1981).

As taxas fotossintéticas máximas nas folhas das plantas de café suplementadas com nitrogênio e crescidas a pleno sol ($7,19 \mu\text{mol} \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) foram superiores às das plan

tas de sombra, que alcançaram valores máximos de $5,28 \mu\text{mol} \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Fig. 11A,B). Em plantas suplementadas com N as diferenças nas taxas fotossintéticas máximas, entre as plantas cultivadas a pleno sol e à sombra, foram maiores do que as observadas nas plantas que não receberam suplementação nitrogenada.

Os valores das taxas fotossintéticas apresentadas neste trabalho são superiores aos valores de $2,8 \mu\text{mol} \text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ relatados em plantas de café por NUTMAN (1937), $3,9$ (TIÖ, 1962), $3,3$ (BIERHUIZEN *et al.* (1969), $2,8$ (NUNES *et al.*, 1969), $3,5$ (YAMAGUCHI e FRIEND, 1979, $3-2-4,0$ (FRISCHKNECHT *et al.*, 1982) e se aproximam dos valores de $6,3$ a $9,5 \mu\text{mol} \text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ apresentad^{ab} por KUMAR e TIESZEN (1980) e NUNES *et al.* (1968). FRISCHKNECHT *et al.* (1969) e SONDAHL *et al.* (1976), observaram consideráveis diferenças nas taxas fotossintéticas em diferentes variedades de *Coffea arabica*. YAMAGUCHI e FRIEND (1979) atribuem a mais alta taxa fotossintética apresentada pelas plantas de café crescidas em ambiente com maior irradiância ao aumento do peso de matéria seca por unidade de área foliar. Embora esses fatores possam afetar a capacidade fotossintética, outros devem ser considerados. BJORKMAN (1981) relata que o aumento do nível de irradiância durante o crescimento resulta em um acréscimo na espessura da folha acompanhado de aumento na razão V_{mes}/A folha e A_{mes}/A folha, com conseqüente aumento da taxa fotossintética por unidade de área foliar. Entretanto, o autor sugere que este aumento da taxa fotossintética com o aumento da espessura da folha somente ocorre quando acompanhado por aumento na quantidade da RUBISCO e de componentes da cadeia de transporte eletrônico, além de outros constituintes da atividade fotossintética por unidade de área foliar.

De fato, a maior taxa fotossintética apresentada

pelas folhas crescidas ao sol com suplementação nitrogenada, em relação as folhas de sombra, também suplementadas com nitrogênio, foram acompanhadas por aumentos na espessura da folha e no teor de N foliar total que, de acordo com SEEMANN *et al.* (1987), refletiria em maior concentração da RUBISCO por unidade de área foliar. Aqueles autores observaram em *Alocasia*, com elevado teor de N foliar, uma boa correlação entre o teor da enzima RUBISCO e o N total da folha, e a RUBISCO representou 6% e 11% do N total da folha, respectivamente para as plantas crescidas à sombra e a pleno sol.

No caso das plantas crescidas ao sol, não suplementadas com nitrogênio, o não paralelismo entre o aumento da taxa fotossintética e o aumento da espessura da folha, em relação as folhas de sombra, pode ter sido consequência da incapacidade de síntese de componentes fotossintéticos (principalmente RUBISCO), em consequência do baixo nível de N total disponível na folha (Quadro 4).

As folhas de sombra suplementadas com nitrogênio apresentaram taxas fotossintéticas por unidade de área foliar próximas às de folhas de sol, não suplementadas com nitrogênio. Este fato pode estar ligado à menor espessura foliar e, possivelmente, a melhor relação entre RUBISCO ou outros determinantes da taxa fotossintética a nível de cloroplastos e N total por unidade de área foliar, apresentada pelas folhas de sol em relação às folhas de sombra. Com efeito, SEEMANN *et al.* (1987) verificaram em *Alocasia* que a porcentagem de N total da folha, representada por RUBISCO, foi maior em folhas crescidas ao sol do que em folhas crescidas à sombra.

Em baixa densidade de fluxo de fótons as taxas fotossintéticas de folhas crescidas à sombra foram mais elevadas do que a de plantas crescidas ao sol (Fig. 11A,B), o que também

representada por RUBISCO, foi maior em folhas crescidas ao sol do que em folhas crescidas à sombra.

Em baixa densidade de fluxo de fótons as taxas fotossintéticas de folhas crescidas à sombra foram mais elevadas do que de plantas crescidas ao sol (Fig. 11A,B), o que também foi observado por YAMAGUCHI e FRIEND (1979), BJORKMAN (1981), KAPPEL e FLORE (1983) e SYVERTSEN (1984). Esta adaptação das plantas as condições de baixa irradiância parece estar relacionada a economicidade do uso da energia luminosa (BJORKMAN, 1972, in BOARDMAN, 1977). Nesta situação as plantas de sombra investiriam maior proporção de sua capacidade de síntese na organização e manutenção da atividade do "complexo captador de luz, clorofila a,b - proteína II", onde se localiza a maior concentração de clorofila b (THORNBURGH, 1975), e que, de acordo com BUTLER (1977), está associado ao fotossistema II (P.S.II). Esta estruturação a nível de cloroplasto se reflete no aumento do desenvolvimento das grana nas plantas de sombra, e no aparente decréscimo no volume do estroma em relação ao volume total do cloroplasto (BOARDMAN, 1977; BJORKMAN, 1981).

Pelos resultados obtidos foi possível observar que as maiores taxas fotossintéticas das folhas de sombra, sob condições de baixa DFF, aparentemente estão associadas à maior quantidade de clorofila, principalmente de clorofila b (Quadro 6), e também à maior estruturação das grana (Fig. 10). BJORKMAN (1981) e KRAUSE (1988) sugerem que plantas submetidas a baixa irradiância durante o crescimento podem apresentar alterações na conformação das membranas dos tilacóides, com reflexos na organização dos fotossistemas. Tais alterações conduziriam a um aumento na capacidade captadora de luz do sistema fotossintético e permitiriam que parte da energia absorvida pelo PSII (fotos

sistema II) seja transferida para o PSI (fotossistema I), de forma a otimizar o transporte eletrônico.

Os dados da Fig. 11A,B mostram um declínio na taxa de fotossíntese aparente nas folhas de plantas crescidas à sombra, após a saturação lumínica, em ambos os tratamentos de nutrição nitrogenada. Este comportamento parece indicar que a transferência de plantas condizidas à sombra para condições artificiais de irradiância acima do nível de fotossaturação, provocou super excitação do PSII, adaptado a baixa irradiância, causando um decréscimo na atividade fotoquímica devido, provavelmente, à inativação do sistema de transporte eletrônico nos tilacóides (BJORKMAN, 1981; CRITCHLEY, 1981; KRAUSE, 1988; POWLES e BJORKMAN, 1982).

Com relação aos valores de eficiência quântica aparente (Φ), calculados a partir dos resultados incluídos na Fig. 11A,B (Quadro 6), é evidente a maior eficiência na utilização da radiação incidente nas plantas crescidas à sombra, em relação às de pleno sol, com ou sem suplementação nitrogenada. Os valores médios obtidos variando de 0,063 a 0,078 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \mu\text{E}^{-1}$ de radiação incidente, são ligeiramente superiores aos valores médios de 0,050 a 0,063 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \mu\text{E}^{-1}$, relatados para outras plantas superiores de metabolismo C_3 , submetidas a temperaturas ótimas e atmosfera normal (cerca de 300 ppm de CO_2 e 21% de O_2) (EHLERINGER e BJORKMAN, 1977; EHLERINGER, 1978; OSBORNE e GARRET *et al.*, 1983; CHAVES, 1986). Os valores da eficiência quântica apresentados pelas plantas crescidas à sombra e a pleno sol, foram pouco afetados pela suplementação nitrogenada, concordando com resultados de OSBORNE e GARRET *et al.* (1983). Os maiores valores de Φ verificados em folhas de plantas conduzidas à sombra, podem ser atribuídos, como foi demonstrado por GABRIELSEN (1948) e OSBORNE e GARRET (1983) à maior capacidade de

captação da irradiância incidente, que essas folhas apresentam a baixa densidade de fluxo de fótons, em relação as folhas de plantas conduzidas a pleno sol.

5. RESUMO

A taxa de fotossíntese aparente foi estudada em folhas intactas de plantas jovens de café, cultivadas em vasos contendo uma mistura de terra e composto, e mantidas em casa de vegetação.

As medidas da concentração de CO_2 no ar efetuadas por cromatografia de gás com detecção por condutividade térmica, mostraram linearidade na resposta dentro da faixa estudada (200 a 340 vpm) e um grau de precisão da ordem de 1^o/oo.

A otimização da metodologia para estudo da fotossíntese em folhas intactas de plantas de café mostrou que as taxas máximas de fotossíntese aparente e sua estabilização são alcançadas após duas horas de exposição à luz, e em velocidade de fluxo de ar na Câmara de Assimilação de CO_2 (CAC) de $1,20 \text{ cm.s}^{-1}$. Valores máximos e estáveis na taxa fotossintética em folhas aclimatadas por um período de duas horas de exposição a condições ambientais (luz e temperatura) semelhantes às de medidas, foram obtidas 15 minutos após a colocação da folha na CAC.

A taxa fotossintética em função da idade fisiológica da folha se caracteriza por apresentar valores baixos em folhas em expansão (par + 1), atingindo valores máximos em folhas recém expandidas (par + 2), declinando posteriormente com a idade (pares + 3 e + 4). Os teores de nitrogênio total e de clorofilas (a, b e protoclorofila) aumentaram até a expansão total da folha (par + 2) e permaneceram aproximadamente cons-

tantes nas folhas fisiologicamente mais maduras (pares + 3 e + 4).

Com relação à influência de níveis de irradiância e de nitrogênio no crescimento da planta, verificou-se que a suplementação nitrogenada causou aumento na altura da planta, área foliar, número de pares de folhas presentes e matéria seca das folhas, independente da irradiância durante o crescimento, enquanto que o peso foliar específico de plantas crescidas a pleno sol foi sensivelmente maior em relação às plantas crescidas à sombra (50% da luz solar), independente da disponibilidade de nitrogênio.

A espessura total da folha nas plantas crescidas a pleno sol foi 11% maior comparada às plantas de sombra, em decorrência, principalmente, do aumento nas dimensões dos parênquimas paliçádico e lacunoso. A quantidade de tilacóides por granum, e o número de grana por cloroplasto, aumentaram consideravelmente nas folhas de plantas crescidas à sombra, e tal efeito foi acentuado pela maior disponibilidade de nitrogênio.

O teor de nitrogênio total por área foliar nas plantas suplementadas com nitrogênio e conduzidas a pleno sol foi 54% superior ao teor de folhas de plantas de sombra. Por outro lado, a relação clorofila total: nitrogênio total, por área foliar, foi cerca de duas vezes e meia maior nas plantas cultivadas à sombra, independente da disponibilidade de nitrogênio.

Os teores de clorofila (a, b e protoclorofila) foram maiores nas folhas de plantas crescidas à sombra e suplementadas com nitrogênio, contudo, a taxa fotossintética por unidade de peso de clorofila, por unidade de área, foi maior nas plantas cultivadas a pleno sol, sendo essa relação diminuída pelo fornecimento de nitrogênio.

As taxas fotossintéticas máximas alcançadas pelas plantas suplementadas com nitrogênio foi de 7,19 e 5,46 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ e, de 5,28 e 4,90 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ em plantas sem suplementação quando conduzidas a pleno sol e à sombra, respectivamente.

A saturação lumínica da taxa fotossintética nas plantas conduzidas a pleno sol ocorreu ao redor de 625 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, enquanto que nas plantas conduzidas à sombra a saturação foi alcançada ao redor de 331 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. A determinação da eficiência quântica aparente nas plantas conduzidas à sombra foi cerca de 24% superior à das plantas conduzidas a pleno sol, sendo pouco afetada pela disponibilidade de nitrogênio.

6. ABSTRACT

The rate of net photosynthesis of young coffee leaves was studied in greenhouse-grown plants.

Gas chromatographic measurements of CO₂ concentration in the ambient air showed a linear response in the range of 200 to 340 vpm, with precision of 1^o/oo.

Calculation of net photosynthesis of intact coffee leaves indicated that maximum rates were reached after two hours exposure to light, using an air flow of 1.20 cm.s⁻¹ in the CO₂ assimilation chamber.

Steady values of maximum photosynthetic rates were obtained in leaves previously acclimatized for two hours to the same light and temperature conditions established for the measurements, 15 minutes after the leaf was placed in the chamber.

During ontogeny lower photosynthetic rates were measured in expanding leaves (pair + 1), the maximum values observed immediately after expansion was completed (pair + 2), declining thereafter in mature leaves (pair + 3 and + 4).

Total leaf nitrogen and chlorophyll(a, b, and proto-chlorophyll) contents increased up to stage of full leaf expansion, and the values were maintained approximately constant in the mature leaves (pairs + 3 and + 4).

Nitrogen supplement to the plants caused increased height, leaf area, number of leaves, and leaf dry matter, this

pattern being independent of level of the incident irradiance during growth. However, fairly high values of specific leaf weight were observed in plants exposed to full sunlight compared to the low light intensity treatments (50% irradiance), independent of nitrogen availability.

Measurements of leaf width showed an 11% increase in plants under high light intensity, compared to shaded plants, due to larger leaf palisade and spongy parenchyma.

Electron microscopy evidenced the presence of a larger number of thylacoides per granum and a higher amount of grana per chloroplast in shaded leaves, the effect being strengthened by supplemental nitrogen to the plants.

A 54% increase of total plant nitrogen content, expressed on a leaf area basis, was observed for the high irradiance treatment. On the other hand, the total chlorophyll/nitrogen ratio per leaf area was two and half times higher in plants, under lower light intensity and the effect did not correlate with nitrogen availability.

The levels of chlorophyll a, b and protochlorophyll were higher in high nitrogen/low irradiance plants, while photosynthetic rate per gram of chlorophyll, per leaf area, showed higher values for full sunlight, which decreased in nitrogen supplied plants.

Maximum photosynthetic rates in nitrogen supplemented plants were 7.19 and 5.46 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, and 5.28 and 4.90 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ in the low nitrogen treatment, under high irradiance and shading, respectively.

Photosynthetic light saturation of full sunlight plants occurred at 625 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, and at 331 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ under low irradiance. Apparent quantum efficiencies calculated for

shade-grown plants was 24% higher than values obtained in full sunlight, nitrogen supplement having a minor effect.

7. LITERATURA CITADA

- ALVIM, P.T., 1959. Recent advances in our knowledge of coffee trees. 1. Physiology. In: Bernard, S. e Sydman, P.G.(eds). *Advances in coffee production tecnologia*, pp. 9-14.
- ANDERSON, J.M., 1986. Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoide membranes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 93-136.
- ARAUS, J.L.; L. ALEGRE; L. TAPIA; R. CALAFELL e M.D. SERRET, 1986. Relationships between photosynthetic capacity and leaf structure in several shade plants. *Amer. J. Bot.* 73 (12): 1760-1770.
- BAKER, M.R. e K. HARDWICK, 1973. Biochemical and physiological aspects of leaf development in cocoa (*Theobroma cacao*). *New Phytol.* 72: 1315-1324.
- BATAGLIA, O.C.; J.P.F. TEIXEIRA; A.M.C. FURLANI e J.R. GALLO, 1978. Métodos de análise química de plantas. Instituto Agrônômico. Circular 87, 31p.

- BIERHUIZEN, J.F.; M.A. NUNES e C. PLOEGMAN, 1969. Studies on the productivity of coffee. II. Effect of soil moisture on photosynthesis and transpiration of *Coffea arabica*. *Acta Bot. Neerl.* 18: 367-374.
- BJORKMAN, O., 1981. Responses to different quantum flux densities. In: Lange, O.L., P.S. Nobel, C.B. Osmond e H. Ziegler, (eds), *Encyclopedia of Plant Physiology. New Series*, Vol. 12A. pp.57-107.
- BOARDMAN, N.K., 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 28: 355-377.
- BOLTON, J.K. e R.H. BROWN, 1980. Photosynthesis of grass species differing in carbon dioxide fixation pathways. V. Response of *Panicum maximum*, *Panicum milioides*, and tall-fescue (*Festuca arundinacea*) to nitrogen nutrition. *Plant Physiol.* 66: 97-100.
- BOUMA, D., 1970. Effects of nitrogen nutrition on leaf expansion and photosynthesis of *Trifolium sustepreaneum* L. I. Comparison between different levels of nitrogen supply. *Ann. Bot.* 34: 1131-1142.
- BROWN, R.H., 1978. A difference in N use efficiency in C₃ and C₄ plants and its implications in adaptation and evolution. *Crop Sci.* 18: 93-98.
- BUTLER, D.R., 1977. Coffee leaf temperature in a tropical environment. *Acta Bot. Neerl.* 26: 129-140.

BUTTROSE, M.S., 1968. Some effects of light intensity and temperature on dry weight and shoot growth of grape vine. *Ann. Bot.* 42: 753-765.

CHAVES, M.M.C.C.F., 1986. Fotossíntese e repartição dos produtos de assimilação em *Vitis vinifera* (L.). Tese de doutorado. Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia, pp.220.

CHOW, W.S.; L. QUIAN, D.J. GOODCHILD e J.M. ANDERSON, 1988. Photosynthetic acclimatation of *Alocasia macrorrhiza* to growth irradiance: structure, function and composition of chloroplasts. In: Ecology of Photosynthesis in sun and shade (Eds.) Coemmeres, S. von, J.R. Evans e W.W. Adams. III, CSIRO, Melbourne, Aust. *J. Plant Physiol.*, 15.

CIOLA, C., 1973. Introdução à cromatografia em fase gasosa. Edgard Blucher, Ed. da Universidade de São Paulo, pp.231.

CONSTABLE, G.A. e H.M. RAWSON, 1980. Effect of leaf position, expansion and age on photosynthesis, transpiration and water use efficiency of cotton. *Aust. J. Plant Physiol.* 7: 89-100.

CREWS, C.E.; S.L. WILLIAMS e H.M. VINES, 1975. Characteristics of photosynthesis in peach leaves. *Planta* 126: 97-104.

CRITCHLEY, C., 1981. Studies on the mechanism of photoinhibition in higher plants. I. Effects of high light intensity on chlorophyll activities in cucumber adapted to low light. *Plant. Physiol.* 67: 1161-1165.

- DAVIS, S.D. e K.J. McCREE, 1978. Photosynthetic rate and diffusion conductance as a function of age in leaves of bean plants. *Crop.Sci.* 18: 280-282.
- DEJONG, T.M., 1982. Leaf nitrogen content and CO₂ assimilation capacity in peach. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107: 955-959.
- DEJONG, T.M., 1983. CO₂ assimilation characteristics of five *Prunus* tree fruit species. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108: 303-307.
- DRAPER, N. e H. SMITH, 1966. Applied regression analysis (eds) J.W. Ley e Sons, Inc. 407pp.
- EHLERINGER, J.R., 1978. Implications of quantum yield differences on the distribution of C₃ and C₄ grasses. *Oecologia* 31: 255-267.
- EHLERINGER, J. e O. BJORKMAN, 1977. Quantum yields for CO₂ uptake in C₃ and C₄ plants. *Plant Phisiol.* 59: 86-90.
- EVANS, J.R., 1983. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiol.* 72: 297-302.
- EVANS, J.R., 1986. The relationship between CO₂ - limited photosynthetic rate and RuBP carboxylase content in two nuclear-cytoplasm substitution lines of wheat and the coordination of RuBP carboxylation and electron transport capacities. *Planta* 167: 351-358.

- EVANS, J.R., 1987. The relationship between transport components and photosynthetic capacity in pea leaves grown at different irradiances. *Aust. J. Plant. Physiol.* 14: 157-170.
- EVANS, J.R. e J.R. SEEMANN, 1984. Differences between wheat genotypes in specific activity of RuBP carboxylase and the relationship to photosynthesis. *Plant Physiol.* 74: 759-765.
- EVANS, J.R. e I. TERASHIMA, 1988. Photosynthetic characteristics of spinach leaves grown with different nitrogen treatments. *Plant Cell Physiol.* 29(1): 157-165.
- FIELD, C., 1983. Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: Leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* 56: 341-347.
- FIELD, C. e H.A. MOONEY, 1983. Leaf age and seasonal effects on light, water and nitrogen use efficiency in a California shrub. *Oecologia* 56: 348-355.
- FORD, D.M. e R. SHIBLES, 1988. Photosynthesis and other traits in relation to chloroplast number during soybean leaf senescence. *Plant Physiol.* 86: 108-111.
- FREELAND, R.O., 1952. Effect of age of leaves upon the rate of photosynthesis in some conifers. *Plant Physiol.* 27: 685.
- FRIEDRICH, J.W. e R.C. HUFFAKER, 1980. Photosynthesis, leaf resistances and ribulose -1,5 -biphosphate carboxylase degradation in senescing barley leaves. *Plant Physiol.* 65: 1103-1107.

- FRISCHKNECHT, P.M.; B.M. ELLER e T.W. BAUMAN, 1982. Purine alkaloid formation and CO₂ gas exchange in dependence of development and of environmental factors in leaves of *Coffea arabica* L. *Planta* 156: 295-301.
- GABRIELSEN, E.K., 1948. Effects of different chlorophyll concentrations on photosynthesis in foliage leaves. *Physiol. Plant.* 1: 5-37.
- GOODCHILD, D.; H.R. HICKIN e N.K. BOARDMAN, 1986. The fine structure of chloroplasts in a barley mutant lacking chlorophyll **b**. *Exp. Cell. Res.* 43: 684-688.
- GULMON, S.L. e C.C. CHU, 1981. The effects of light and nitrogen on photosynthesis, leaf characteristics, and dry matter allocation in the chaparral shrub, *Diplacus aurantiacus*. *Oecologia* 49: 207-212.
- HALSE, N.J.; E.A.N. GREENWOOD; P. LAPINS e C.A.P. BOUNDY, 1969. An analysis of the effects of nitrogen deficiency on the growth and yield of a western Australian wheat crop. *Aust. J. Agric. Res.* 20: 987-998.
- HARDWICK, K.; M. WOOD e H.W. WOOLHOUSE, 1968. Photosynthesis and respiration in relation to leaf age in *Perilla frutescens* (L.). *Britt. New Physiol.* 67: 79-86.
- HOPKINSON, J.M., 1964. Studies on the expansion on the leaf, surface IV. The carbon and phosphorus economy of a leaf. *J. Exp. Bot.* 15: 125-137.

JARVIS, P.G., 1971. The estimation of resistances to carbon dioxide transfer. In: Z. SESTAK, J. CATSKY, and P.G. JARVIS (eds.). *Plant Photosynthetic production: Manual of methods*. Junk. The Hague, pp.566-631.

JOHANSEN, D.A., 1940. *Plant microtechnique* (eds). McGraw-Hill Book Company, Inc. 523pp.

KAPPEL, F. e J.A. FLORE, 1983. Effect of shade on photosynthesis, specific leaf weight, leaf chlorophyll and morphology of young peach trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108(4): 541-644.

KRAUSE, G.H., 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.* 74: 566-574.

KEYS, A.J.; E.V.S.B. SAMPAIO; M.J. CORNELIUS e I.F. BIRD, 1977. Effect of temperature on photosynthesis and photorespiration of wheat leaves. *J. Exp. Bot.* 28(104): 525-533.

KOO, R.C.J. e W. SIJES, 1956. Mineral composition of citrus leaves and fruit as associated with position on the tree. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 68: 245-252.

KOSKI, V.M.; C.S. FRENCH e J.H.C. SMITH, 1951. The action spectrum for the transformation of protochlorophyll to chlorophyll a in normal and albino corn seedlings. *Arch. Biochem. biophys.* 208: 466-486.

- KU, M.S.B.; M.R. SCHIMITT e G.E. EDWARDS, 1979. Quantitative determination of RuBP carboxylase-oxygenase protein in leaves of several C₃ and C₄ plants. *J. Exp. Bot.* 30: 89-98.
- KUMAR, D., 1979. Some aspects, of the physiology of *Coffea arabica* L. A review. *Kenya Coffee* 44(519): 9-47.
- KUMAR, D. e L.L. TIESZEN, 1980. Photosynthesis in *Coffea arabica* I. Effects of light and temperature. *Exp. Agr.* 16: 13-19.
- LAKSO, A.N. e E.J. SEELEY, 1978. Environmentally induced responses of apple tree photosynthesis. *Hortscience* 13: 646-650.
- LANGER, R.H.M. e F.K.Y. LIEW, 1973. Effect of varying nitrogen supply at different stages of the reproductive phase on spikelet and grain production and on grain nitrogen of wheat. *Aust. J. Agr. Res.* 24: 647-656.
- LIN, Z.F. e J. EHLERINGER, 1982. Effects of leaf age on photosynthesis and water use efficiency of papaya. *Photosynthetica* 16(4): 514-519.
- LUGG, D.G. e T.R. SINCLAIR, 1981. Seasonal changes in photosynthesis of field-grown soybean leaflets. 2. Relation to nitrogen content. *Photosynthetica* 15: 138-144.

- MAGGS, D.H., 1960. The stability of the growth pattern of young apple trees under four levels of illumination. *Ann. Bot.* 24: 434-450.
- MAKINO, A.; T. MAE e K. OHIRA, 1984. Changes in photosynthetic capacity in rice leaves from emergence through senescence. Analysis from ribulose-1,5-biphosphate carboxylase and leaf conductance. *Plant. Cell Physiol.* 25: 511-521.
- MAKINO, A. T. MAE e K. OHIRA, 1985. Photosynthesis and ribulose - 1,5 - biphosphate carboxylase / oxygenase in rice leaves from emergence through senescence. Quantitative analysis by carboxylation/oxygenation and regeneration of ribulose-1,5-biphosphate. *Planta* 166: 414-420.
- MORITA, K., 1980. Release of nitrogen from chloroplasts during leaf senescence in rice (*Oryza sativa* L.). *Ann. Bot.* 46: 297-302.
- MITCHELL, H.W., 1974. A study tour of coffee producing countries. Part I Brasil. *Kenya Coffee* 39: 24-32.
- NÁTR, L., 1972. Influence of mineral nutrition on photosynthesis of higher plants. *Photosynthetica* 6: 80-99.
- NEVINS, D.J. e R.S. LOOMIS, 1970. A method for determining net photosynthesis and transpiration of plant leaves. *Crop. Sci.* 10: 3-6.

- NOBEL, P.S. e D.B. WALKER, 1985. Structure of leaf photosynthesis and ribulose-1,5-biphosphate concentration in intact leaves of *Xanthium strumarium* L. *Plant Physiol.* 76: 968-971.
- NUNES, M.A.; J.F. BIERHUIZEN e C. PLOEGMAN, 1968. Studies on productivity of coffee. I. Effects of light, temperature and CO₂ concentration on photosynthesis of *Coffea arabica*. *Acta Bot. Neerl.* 17: 93-102.
- NUNES, M.A.; J.F. BIERHUIZEN e C. PLOEGMAN, 1969. Studies on productivity of coffee. III. Differences in photosynthesis between four varieties of coffee. *Acta Bot. Neerl.* 18: 420-424.
- NUTMAN, F.J., 1937. Studies of the physiology of *Coffea arabica* I. Photosynthesis of coffee leaves under natural conditions. *Ann. Bot.* 1: 353-367.
- OSBORNE, B.A. e M.K. GARRETT, 1983. Quantum yields for CO₂ uptake in some diploid and tetraploid plant species. *Plant Cell and Environ.* 6: 135-144.
- OSTENDORF, F.W., 1962. The coffee shade problem. A review article. *Trop. Abstr.* 17: 577-581.
- PAVLIK, B.M., 1983. Nutrient and productivity relations of the dune grasses, *Ammophila arenaria* and *Elymus mollis*. I. Blade photosynthesis and nitrogen use efficiency in the laboratory and field. *Oecologia* 57: 227-232.

- PEARMAN, I.; S.M. THOMAS e G.N. THORNE, 1977. Effects on nitrogen fertilizer on growth and yield of spring wheat. *Ann. Bot.* 41: 93-108.
- PIMENTEL GOMES, F., 1970. Curso de estatística experimental, 4ª edição. Livraria Nobel S.A. 480pp.
- POWLES, S. e O. BJORKMAN, 1982. Photoinhibition of photosynthesis effect on chlorophyll fluorescence at 77 K in intact leaves and in chloroplast membranes of *Nerium oleander*. *Planta* 156: 97-107.
- SAGE, R.F. e R.W. PEARCY, 1987. The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plants. II. Leaf nitrogen effects of the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). *Plant Physiol.* 84: 959-963.
- SARRUGE, J.R., 1975. Soluções nutritivas. *Summa Phytopath.* 1: 231-233.
- SEEMANN, J.R.; T.D. SHARKEY; J.L. WANG e C.B. OSMOND, 1987. Environmental effects on photosynthesis, nitrogen use efficiency, and metabolic pools in leaves of sun and shade plants. *Plant Physiol.* 84: 796-802.
- SESTAK, Z.; J. CATSKY e P.G. JARVIS, 1971. Plant photosynthetic production. *Manual of Methods*. W. Junk, The Hague, pp. 818.

- SMITH, W.K., 1980. Importance of aerodynamic resistances to water use efficiency in three conifers under field conditions. *Plant Physiol.* 65: 132-135.
- SMITH, J.M.C. e A. BENITZ, 1955. Chlorophyll: Analysis in plant materials. In: Paech e M.V. Tracey, (eds.). *Modern Methods of Plant Analysis*. Springer Berlin, IV. 142-196.
- SONDAHL, M.R.; O.J. CROCOMO e L. SODEK, 1976. Measurements of ^{14}C incorporation by illuminated intact leaves of coffee plants from gas mixtures containing $^{14}\text{CO}_2$. *J. Exp. Bot.* 27: 1187-1195.
- SYVERSTEN, J.P., 1984. Light acclimation in citrus leaves. II. CO_2 assimilation and light, water, and nitrogen use efficiency. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109(6): 812-817.
- SYVERSTEN, J.P. e M.L. SMITH Jr., 1983. An inexpensive leaf chamber for measuring on gas exchange. *Hortscience* 18 (5): 700-701.
- SYVERSTEN, J.P. e M.L. SMITH Jr., 1984. Light acclimation in citrus leaves. I. Changes in physical characteristics, chlorophyll and nitrogen content. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109(6): 807-812.
- TANADA, T., 1946. Utilization of nitrates by the coffee plant under different sunlight intensities. *J. Agr. Res.* 72(7): 245-258.

- TERASHIMA, I. e J.R. EVANS, 1988. Effects of light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in spinach. *Plant Cell Physiol.* 29: 143-155.
- TERASHIMA, I. e Y. INOUE, 1985. Palisade tissue chloroplast and spongy tissue chloroplasts in spinach: Biochemical and ultrastructural differences. *Plant Cell Physiol.* 26(1): 63-75.
- TESKEY, R.O. e R.B. SHRESTHA, 1985. A relationship between carbon dioxide, photosynthetic efficiency and shade tolerance. *Physiol. Plant* 63: 126-132.
- THORNBUR, J.P., 1975. Chlorophyll-proteins: Light-harvesting and reaction center components of plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 26: 127-158.
- TIÓ, M.A., 1962. Effect of light intensity on the rate of apparent photosynthesis in coffee leaves. *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, 46: 159-166.
- VEGA, J.; A.M.R. ALMEIDA e A.S. COSTA, 1981. Organismos tipo micoplasma associados ao superbrotamento do picão. *Fitopatologia Brasileira* 6: 29-33.
- YAMAGUCHI, T. e D.J.C. FRIEND, 19779. Effects of leaf age and irradiance on photosynthesis of *Coffea arabica*. *Photosynthetica* 13: 271-278.

- WALTERS, M.B. e C.B. FIELD, 1987. Photosynthetic light acclimation in two rainforest *Piper* species with different ecological amplitudes. *Oecologia* 72: 449-456.
- WATSON, D.J.; G.N. THORNE e S.A.W. FRENCH, 1958. Physiological causes of differences in grain yield in varieties of barley. *Ann. Bot.* 22: 321-352.
- WITTENBACH, V.A., 1979. Ribulose biphosphate carboxylase and proteolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence. *Plant Physiol.* 64: 884-887.
- WITTENBACH, V.A.; R.C. ACKERSON; F.T. GIAQUINTA e R.R. HERBERT, 1980. Changes in photosynthesis, ribulose biphosphate carboxilase, proteolytic activity, and ultrastructure of soybean leaves during senescence. *Crop. Sci.* 20: 255-231.
- WONG, S.C., 1979. Elevated atmospheric partial pressure of CO₂ and plant growth. I. Interactions of nitrogen nutrition and photosynthetic capacity in C₃ and C₄ plants. *Oecologia*, 44: 68-74.