

**DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DO
CAFEIRO: ANATOMIA DE VASOS DO XILEMA E
DINÂMICA DE CARBOIDRATOS**

JOÃO PETERSON PEREIRA GARDIN

2006

JOÃO PETERSON PEREIRA GARDIN

**DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DO
CAFEIEIRO: ANATOMIA DE VASOS DO XILEMA E
DINÂMICA DE CARBOIDRATOS**

**Tese apresentada à Universidade Federal
de Lavras como parte das exigências do
curso de doutorado em Agronomia, área
de concentração em Fisiologia Vegetal,
para a obtenção do título de “Doutor”.**

**Orientadora
Professora Angela Maria Soares**

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2006**

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

Gardin, João Peterson Pereira.

Desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro: anatomia de vasos do xilema e dinâmica de carboidratos / João Peterson Pereira Gardin. -- Lavras : UFLA, 2006.

105 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2006.

Orientador: Angela Maria Soares.

Bibliografia.

1. Café. 2. Desenvolvimento reprodutivo. 3. Anatomia do xilema. 4. Metabolismo de carboidratos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 583.520416

JOÃO PETERSON PEREIRA GARDIN

**DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DO
CAFEIEIRO: ANATOMIA DE VASOS DO XILEMA E
DINÂMICA DE CARBOIDRATOS**

**Tese apresentada à Universidade Federal
de Lavras como parte das exigências do
curso de doutorado em Agronomia, área
de concentração em Fisiologia Vegetal,
para a obtenção do título de “Doutor”.**

APROVADA em 7 de dezembro de 2006.

Dr. Alessandro Carlos MesquitaUFLA

Prof. Dr. Fábio Akira Mori UFLA

Dra. Fátima Conceição RezendeUFLA

Prof. Dr. Nelson Delú Filho FAFIBE

**Professora Angela Maria Soares
DBI/UFLA
(Orientadora)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL**

A meus pais, Darcy Gardin e Neiva Pereira Gardin,
A minha irmã, Nilva Gardin Martins e meu cunhado Cláudio Martins,
A minha esposa, Josy Alvarenga Carvalho Gardin

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me iluminar nos caminhos mais difíceis e por nunca deixar que eu desista dos meus objetivos.

Agradeço a minha família, que é o meu pilar de sustentação, com tecnologia japonesa resistente a terremotos.

Agradeço a sogra, sogro, Ju e Ju, por serem minha família em Lavras.

Agradeço a minha esposa, Josy, pelo amor, carinho e compreensão em todos os momentos.

Agradeço a minha orientadora, Angela Soares, pessoa fantástica, exemplo de profissional, excelente caráter, simplicidade, honestidade, enfim, esta página é pequena para falar bem de você.

Agradeço pelos novos amigos que fiz nesta caminhada, os quais contribuíram muito para o meu crescimento, em especial os amigos da Fisiologia Vegetal.

Agradeço a todos os professores e funcionários da UFLA, em especial os da Fisiologia Vegetal, pelo crescimento proporcionado neste período.

Agradeço ao professor Júlio Sílvio de Sousa Bueno Filho, pela realização da análise estatística da tese e por despertar o meu interesse para fazer minhas próprias análises.

Agradeço aos professores Evaristo Mauro de Castro e Fábio Akira Mori, por terem proporcionado a realização dos estudos de anatomia.

À Fapemig, pela concessão da bolsa sem a qual não seria possível este trabalho.

À Embrapa/PNP&D/Café, pelo apoio financeiro à pesquisa.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1. O cafeeiro: a cultura e alguns aspectos fenológicos	3
2.2. Desenvolvimento do cafeeiro: uma abordagem hidráulica.....	7
2.2.1. Aspectos hidráulicos do ramo	7
2.2.2. Aspectos hidráulicos do fruto.....	9
2.3. Desenvolvimento do fruto: uma abordagem bioquímica.....	12
2.3.1. Invertases.....	15
2.3.2. SUSY.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Área do estudo	20
3.2. Características avaliadas	21
3.2.1. Experimento I: Efeito da irrigação e da posição na planta nas características anatômicas dos ramos e dos frutos do cafeeiro	21
3.2.2. Experimento II: Caracterização do sistema vascular de frutos em crescimento	23
3.2.3. Experimento III: Aspectos bioquímicos associados a eventos reprodutivos do cafeeiro	24
3.3. Análise estatística	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Experimento I: Efeito da irrigação e posição na planta nas características anatômicas dos ramos e dos frutos do cafeeiro.....	33
4.1.1. Características dos ramos	33
4.1.2. Características dos frutos.....	39

4.2.	Experimento II: Caracterização do sistema vascular de frutos em crescimento	52
4.3.	Experimento III: Aspectos bioquímicos associados a eventos reprodutivos do cafeeiro	61
4.3.1.	Metabolismo de carboidratos em folhas, ramos, gemas e frutos de café arábica: análise do conteúdo nos tecidos.....	61
4.3.2.	Metabolismo de carboidratos em folhas, ramos, gemas e frutos de café arábica: análise da atividade enzimática nos tecidos.....	72
5.	CONCLUSÕES	81
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
7.	ANEXOS	93
7.1.	Experimento I	93
7.2.	Experimento II	95
7.3.	Experimento III.....	97

RESUMO

GARDIN, João Peterson Pereira. **Desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro: anatomia de vasos do xilema e dinâmica de carboidratos**. 2006. 104p. Tese Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

O cafeeiro é uma espécie de grande importância econômica para o Brasil e a constante melhoria das condições de cultivo e dos conhecimentos sobre esta cultura não dispensa estudos. Muitos aspectos anatômicos do xilema de ramos e frutos e metabólicos relacionados ao desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro ainda são pouco estudados. Em hipótese, o desenvolvimento diferencial do xilema nas gemas poderia refletir em desuniformidade do florescimento e um desenvolvimento desigual do xilema no pedúnculo do fruto. Isso possivelmente afetaria o crescimento dos frutos, proporcionando tempos diferentes para que este atinja seu tamanho potencial, gerando pequena uniformidade de crescimento o que acarretaria uma desuniformidade de maturação. O metabolismo dos carboidratos em ramos, folhas, gemas e frutos, estudado em conjunto durante o período reprodutivo do cafeeiro, serve de auxílio na compreensão do florescimento. Neste contexto, foram realizados experimentos que permitiram abordar diferentes aspectos do desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro, cujos objetivos foram: Experimento I - verificar a influência da irrigação e da posição na planta, no desenvolvimento do xilema em ramos e em frutos do cafeeiro; Experimento II - verificar a influência do número e do diâmetro de vasos do xilema no crescimento dos frutos e Experimento III - estudar o metabolismo dos carboidratos em folhas, ramos e gemas, durante o desenvolvimento das gemas florais do cafeeiro. A maior área de parede celular e, conseqüentemente, de menor área de lúmen foi encontrada no tratamento não irrigado oeste, o qual apresentou também o maior número de vasos por milímetro quadrado. Já o tratamento irrigado leste apresentou maturação dos frutos mais rápida e mais uniforme que os demais tratamentos avaliados. Foi observado, em locais do ramo com vasos numerosos, que o diâmetro destes vasos é menor e que existe uma tendência de aumento do número e diminuição do diâmetro dos vasos do xilema do pedúnculo dos frutos, conforme aumenta o estágio de maturação desses frutos. Ainda, os maiores valores de número e diâmetro dos vasos no pedúnculo de frutos do cafeeiro proporcionam maior crescimento dos frutos e esta característica é definida antes da antese. Frutos oriundos de mesma florada no mesmo nó podem crescer diferencialmente, de acordo com as condições hidráulicas impostas pelo número e pelo diâmetro dos vasos do pedúnculo desses frutos. As reservas de amido da folha e da gema são importantes no crescimento das gemas, no entanto, a mobilização do amido do ramo no período

reprodutivo do cafeeiro não ocorre. Durante o desenvolvimento das gemas ocorre acúmulo de AST indicando alta atividade metabólica. No período próximo à abertura das flores, os principais carboidratos acumulados são glicose e frutose. As invertases e a SUSY são enzimas importantes no período de desenvolvimento das gemas do cafeeiro. Estas enzimas ajudam a manter a relação sacarose/(glicose+frutose) baixa na gema, para que ocorra um gradiente de sacarose em direção a este tecido dreno. O baixo conteúdo de sacarose na gema deve-se, principalmente, à atividade da INC. A IAPC e a SUSY são as principais enzimas de degradação de sacarose no fruto de cafeeiro em estágio de expansão. A atividade da INC em ramos de cafeeiro não foi detectada.

* Comitê orientador: Profa. Angela Maria Soares – DBI/UFLA (Orientadora); Prof. José Donizeti Alves – DBI/UFLA; Prof. Evaristo Mauro de Castro – DBI/UFLA; Prof. Júlio Sílvio de Sousa Bueno Filho – DEX/UFLA; Prof. Amauri Alves de Alvarenga – DBI/UFLA.

ABSTRACT

GARDIN, João Peterson Pereira. **Reproductive development of coffee shrub: vessel anatomy and carbohydrate dynamic.** 2006. 104p. Thesis (Doctorate in Plant Physiology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

The coffee tree is a species of great economic importance and its related hydraulic and metabolic aspects to the reproductive development of the coffee tree still little studied. In hypothesis, the differential development xylems in buds could reflect the unevenness in flowering and an uneven development of xylem in the pedicel of fruit. This will possibly affect the growth of fruits, providing different times so that it reaches its potential size, generating small uniformity of growth which would unevenness of maturation. The metabolism of carbohydrates in branches, leaves, buds and fruit, studied together during the reproductive period of coffee, serves as an aid in the understanding of flowering. Thus, the objectives of this work had been to verify the influence of the irrigation and branches positions in the plant, in the development of xylem in branches and fruits of the coffee tree; to verify the influence of the number and diameter of vases of xylem in the fruits in growth and, finally, to study the metabolism of the carbohydrates in levels, branches and buds, during the development of floral buds. The largest area of the cell wall and, consequently, a smaller area of lumem was found in the treatment not irrigated west, which also presented the largest number of vessels per square millimeter. Already the treatment irrigated east presented and fruit faster and more uniform than the other treatments assessed. It was observed in the local branches with numerous vessels, that the diameter of these vessels are smaller and there is a tendency to increase the number and decrease the diameter of the xylem vessels of the fruits pedicel, as increases the level of maturation of these fruits. Still, the highest numbers and diameter of vessels in fruit pedicels of coffee tree fruit provide further growth of fruit and this characteristic is defined before anthesis. Fruit from the same flowering same node can grow differentially, according to the hydraulic conditions imposed by the number and the vessel diameter in the fruits pedicel. The starch reserves of the leaf and the buds are important in phase 2, when the growth of buds occurs, however the starch mobilization in the branch does not occur. During the development of the buds occurs accumulation of AST indicating high metabolic ratio. In the period next the opening to the flowers the main accumulated carbohydrates is glucose and fructose. The

sucrose content in the buds decrease with the development and the main responsible enzyme for the degradation, in the bud, is the INC. Invertases acid of wall cells is important in addition sucrose in the fruits in expansion stadium. The INC does not have activity in coffee tree branches.

* Guidance Commettee: Profa. Angela Maria Soares – DBI/UFLA (Orientadora); Prof. José Donizeti Alves – DBI/UFLA; Prof. Evaristo Mauro de Castro – DBI/UFLA; Prof. Júlio Sílvio de Sousa Bueno Filho – DEX/UFLA; Prof. Amauri Alves de Alvarenga – DBI/UFLA.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento do cafeeiro, em muitas áreas de produção tropical e subtropical, é caracterizado pelo pequeno sincronismo do desenvolvimento floral e por um prolongado período de colheita. Durante o período seco, frutos maduros, grandes e pequenos frutos verdes, flores e gemas, em diferentes estádios de desenvolvimento, podem ser encontrados na mesma planta. Vários desses estádios podem ocorrer em um simples nó.

No Brasil, o amadurecimento dos frutos ocorre em um período de até quatro meses. Conseqüentemente, a colheita se estende por este período, pois uma colheita uniforme ainda não foi possível ser desenvolvida, sendo necessários avanços da pesquisa em busca da sincronização floral e a conseqüente sincronização da maturação dos frutos.

Existe uma diferença nos tecidos do xilema durante o desenvolvimento das gemas. Em alguns estádios, verifica-se somente presença de xilema primário enquanto que, em outros, já se observa o desenvolvimento de xilema secundário. Alguns autores afirmam que, em estádios em que o xilema está mais desenvolvido, as gemas são sensíveis ao déficit hídrico e podem ser induzidas ao florescimento. Em hipótese, o desenvolvimento diferencial do xilema nas gemas poderia refletir na desuniformidade do florescimento e em um desenvolvimento desigual do xilema no pedúnculo do fruto. Isso, possivelmente, afetaria o crescimento dos frutos, proporcionando tempos diferentes para que ele atinja seu tamanho potencial, gerando pequena uniformidade de crescimento, refletindo em desuniformidade de maturação.

De acordo com esta hipótese, o número e o diâmetro dos vasos do xilema afetam a condutividade hidráulica na planta, afetando o crescimento e o desenvolvimento dos frutos. Em outras espécies, tais como videira e tomate, têm

sido realizados estudos nesse sentido, nos quais se verificou que limitações hidráulicas podem ser substancialmente influenciadas pelo comprimento dos condutos do xilema, número e diâmetro.

Além dos aspectos anatômicos dos ramos, a produção do cafeeiro pode ser influenciada por alterações bioquímicas durante o desenvolvimento das gemas, tornando importante o estudo do metabolismo dos carboidratos nesta fase reprodutiva. As plantas produzem carboidratos na fotossíntese e, depois, os distribuem para tecidos dreno, tais como gemas e frutos. Na produção agrícola, os drenos são, quase sempre, as partes economicamente mais importantes da planta. As gemas e os frutos são definidos como drenos de alta prioridade em relação a drenos alternativos (folhas jovens), no contexto de competição por assimilados e são escassas as informações disponíveis sobre o metabolismo de carboidratos nesses tecidos.

Diante do exposto, foram desenvolvidos experimentos cujos objetivos foram: Experimento I - verificar a influência da irrigação e posição na planta, no desenvolvimento do xilema em ramos e frutos do cafeeiro; Experimento II - verificar a influência do número e do diâmetro de vasos do xilema no crescimento dos frutos e Experimento III - estudar o metabolismo dos carboidratos em folhas, ramos e gemas, durante o desenvolvimento das gemas florais do cafeeiro. Espera-se, assim, desenvolver conhecimentos que possam contribuir para o desenvolvimento de técnicas de manejo adequadas para uma maior produção ou com frutos de melhor qualidade.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. O cafeeiro: a cultura e alguns aspectos fenológicos

No mundo, existem cerca de 100 espécies de cafeeiros, das quais apenas duas são importantes economicamente, *Coffea arabica* L. (café arábica) e *Coffea canephora* Pierre (café robusta) e têm grande cotação no mercado internacional (Fazuoli, 1986). No Brasil, o café arábica representa 76,4% da produção total de 2006 (31,02 milhões de sacas) e o robusta, 23,6% (ou 9,60 milhões de sacas). Minas Gerais continua sendo o principal estado produtor, com 49,5% do total, praticamente só de café arábica.

O cafeeiro é uma planta de crescimento contínuo que apresenta ramos que crescem verticalmente, chamados de ortotrópicos, os quais dão origem a folhas, outros ramos ortotrópicos e ramos plagiotrópicos, os quais crescem horizontalmente, formando um ângulo de 45° a 90° com o ortotrópico e dão origem a folhas, outros plagiotrópicos (primários, secundários e de maior ordem), flores e frutos (Melo et al., 1998). Assim, os ramos plagiotrópicos produtivos são de grande importância e o conhecimento das características anatômicas, fenológicas e bioquímicas de todos os componentes deste ramo (folhas, flores, frutos e o próprio ramo) pode contribuir para o desenvolvimento de novas técnicas de manejo que o tornem mais produtivo ou com frutos de melhor qualidade.

O café arábica tem seu centro de origem na Etiópia, onde cresce permanentemente sob sombreamento em habitat de florestas tropicais (Kumar, 1979). Mas, no Brasil, o cafeeiro tem sido cultivado economicamente a pleno sol, o que acarreta problemas, como a superprodução e o conseqüente esgotamento das plantas durante os primeiros anos, até que o auto-sombreamento diminua esse efeito. Além disso, Soares et al. (2005) destacam

que outro problema da cultura é a falta de uniformidade da floração, que tem implicações diretas na uniformidade de maturação dos frutos de café e, por sua vez, terá grande influência na organização e na redução dos custos da colheita, bem como na qualidade final do produto. Dessa forma, esses autores afirmam que o conhecimento de técnicas viáveis de uniformização da floração é de fundamental importância para o cafeicultor, mas ainda são poucos e não conclusivos os estudos nesse sentido.

Alguns avanços foram obtidos por Crisosto & Grantz (1992) que classificaram fenologicamente as fases reprodutivas do cafeeiro em sete distintos estádios, como segue: E1=gema vegetativa, E2=botão floral indiferenciado de cor verde, E3=botões florais em desenvolvimento, sobressaindo às estípulas, E4=botões florais de cor verde-clara, no estágio de dormência, E5=Botões florais de cor branca, próximos à abertura, E6=flores e E7=pequenos frutos. Com isso, Crisosto et al. (1992) observaram a marcante distinção entre os estádios 3 e 4 em relação à suscetibilidade ao déficit hídrico. Mesmo que os estádios 3 e 4 aparecem no mesmo nó, isso indica que características anatômicas estão correlacionadas com estádios de desenvolvimento das gemas.

Estes mesmos autores, investigando esta possibilidade com referência particular à diferenciação do xilema em gemas, verificaram que, nos estádios 1 a 3 ocorria somente um desenvolvimento vascular primário e, nos estádios 4, 5 e 7 ocorria a formação de tecido vascular secundário. Dessa forma, verificaram uma clara distinção dos estádios 1, 2 e 3, em que a seca seguida de re-irrigação não foi efetiva ao estímulo ao florescimento e o estágio 4, no qual o estímulo foi observado. Neste estágio ocorreu paralelamente a diferenciação do tecido vascular secundário, o qual não ocorreu no estágio 3.

Contudo, gemas com tecido vascular formado apresentam resposta, sendo induzidas à floração pelas condições ambientais normalmente impostas

(déficit hídrico). No entanto, mais estudos são necessários para melhorar a compreensão dos mecanismos que expressam esta resposta de florescimento.

Plantas de cafeeiro florescem ao mesmo tempo numa determinada área geográfica, no entanto, ocorre um número variável de florações, desde umas poucas no Brasil, até várias ao longo do ano na Colômbia (Guimarães & Mendes, 1996). Na tentativa de explicar este fenômeno, diversos autores relatam a importância de um déficit hídrico para a quebra da dormência dos botões florais, destacando-se que o déficit deve ser contínuo e seguido de uma chuva para promover o crescimento desses botões e abertura floral. Outro fator importante destacado é a presença de folhas nos nós, próximo às gemas, pois são importantes para o desenvolvimento das mesmas. Nesse sentido, torna-se importante o estudo do metabolismo nas folhas e ramos próximos as gemas, para melhor compreender este fenômeno.

Em condições naturais, no período entre a quebra da dormência dos botões florais e a antese, transcorrem de 7 a 15 dias (Frederico & Maestri, 1970). Neste curto período, os elementos condutores do pedicelo floral são formados intensamente, ampliando o lúmen dos vasos do xilema (Astegiano, 1984). Este mesmo autor, estudando a movimentação da água e a quebra da dormência dos botões florais do cafeeiro, concluiu que a presença de folha aumenta o ingresso de água para os botões.

Nesse sentido, Barros et al. (1978) sugeriram que as condições que podem promover a abertura floral no cafeeiro são: queda rápida de temperatura, independentemente da ocorrência de déficit hídrico, chuvas abundantes ou irrigações após um longo período de seca e as quedas bruscas de temperatura, seguidas por suprimento de água, tanto sob a forma de chuvas quanto de irrigação, complementar ou sinergicamente.

Aparentemente, existe sinergismo entre os fatores climáticos, como precipitações, temperatura e déficit de vapor, agindo sobre o desenvolvimento

do botão floral, o que leva à antese quando estes se encontram no estágio 4 (Soares et al., 2005). Os mesmos pesquisadores ainda consideram que a adequação da aplicação do déficit hídrico aos estádios de desenvolvimento do botão floral pode vir a ser o fato crucial para obtenção de floradas uniformes, sem afetar a produtividade do cafeeiro e melhorando a qualidade dos grãos.

No gênero *Coffea*, o tamanho do grão é proporcional ao tamanho do fruto e o tempo para o desenvolvimento do fruto, entre a antese e o completo amadurecimento, varia de 10 a 12 semanas, em *C. racemosa*, a mais de um ano em *C. liberica*. Para as espécies de alto valor econômico, a *Coffea arabica* requer de 6 a 8 meses para o amadurecimento e a *C. canephora*, de 9 a 11 meses (Cannel, 1985). O crescimento dos frutos não é sincronizado durante o desenvolvimento, com diferentes proporções de vários tamanhos de frutos na mesma planta, embora possivelmente relacionado com vários eventos de florescimento que podem ocorrer em *C. arabica*, durante cada estação de produção (De Castro & Marraccini, 2006). A respeito do assincronismo no crescimento dos frutos e diferenças no comprimento do ciclo reprodutivo entre as espécies de café, o ponto chave do desenvolvimento do fruto parece ser idêntico, no mínimo entre as espécies comerciais (De Castro & Marraccini, 2006).

Sabe-se que o tamanho potencial do fruto depende do número de células e de seu volume. O número de células é dependente, principalmente, de fatores genéticos, enquanto o tamanho é altamente determinado por fatores ambientais e fisiológicos, que controlam a expansão das células. Geralmente, a taxa de expansão do fruto é proporcional ao fornecimento de assimilados (Ehret & Ho, 1986). Além disso, para o crescimento do fruto, é preciso que entre água na célula para que ocorra o alongamento celular, água transportada através dos vasos do xilema.

Visando à melhoria da qualidade dos frutos, a *International Coffee Organization* (ICO, 2002) implementou um programa com recomendações para países exportadores de café. Foram listadas algumas características indesejáveis e, entre elas, o tamanho do grão foi uma das essenciais do ponto de vista comercial, visto que grãos de uma mesma variedade podem ter preço menor, quando estes apresentam tamanhos reduzidos (Leroy et al., 2006).

Em cafeeiro, são escassos e pouco específicos os trabalhos que estudaram a importância do xilema no crescimento dos frutos, visando aumentar a qualidade do produto final. Em frutos de outras espécies, a maior participação do xilema ou do floema no transporte de água depende do estágio de desenvolvimento do fruto (Nobel & De La Barrera, 2000). Em alguns frutos jovens, o floema é a fonte dominante e, em outros frutos, tais como tomate (Ho et al., 1987), maçã (Drazeta et al., 2004), kiwi (Dichio, 2003), e uva (Greenspan et al., 1994), há clara redução na proporção de água que entra no fruto pelo xilema quando o fruto amadurece.

2.2. Desenvolvimento do cafeeiro: uma abordagem hidráulica

2.2.1. Aspectos hidráulicos do ramo

O fluxo de seiva do xilema permite o transporte de água, de nutrientes do solo e de hormônios para as folhas e frutos. O movimento da água das raízes para a atmosfera é controlado pela condutividade dos componentes desta rota hidráulica. As condutividades que afetam o fluxo hídrico na planta são a hidráulica (condutividade da raiz e do ramo) e a difusiva (condutância estomática). A condutividade pode mudar, mais ou menos rapidamente e reversivelmente, para se adaptar às mudanças nas condições ambientais e ao estresse. Em particular, a condutividade do ramo pode reagir ao estresse por um processo “rápido” – formação de embolismo que interrompe a coluna de água e

reduz a condutividade (Tyree & Sperry, 1989) – e por um processo “lento” – modificações do crescimento radial dos vasos e, como consequência, do tamanho dos vasos (de acordo com a equação de Hagen-Poiseuille) (Tyree & Ewers, 1991; Lovisolo & Schubert, 1998). Ambos os mecanismos podem, potencialmente, afetar o transporte hídrico por todo o xilema e mudar a disponibilidade de água (Tyree & Ewers, 1991), nutrientes e mensagens hormonais a partir da raiz para as folhas (Davies et al., 1994).

Em ramos plagiotrópicos produtivos de cafeeiro ocorre o desenvolvimento do xilema secundário, sendo este afetado por alguns fatores ambientais e hormonais. O impacto que o ambiente exerce sobre a atividade cambial reflete na diferenciação das células do xilema secundário, podendo modificar sua estrutura e suas propriedades. Fatores como seca, inundação, altitude, latitude e constituição do solo podem alterar significativamente a estrutura anatômica do xilema secundário. Os elementos de vaso, por exemplo, estão associados à eficácia e à garantia do transporte de água pela planta, sendo diretamente afetados pelas variações na disponibilidade de água. Estudos demonstram que os elementos de vaso são maiores e ocorrem em menor número nas plantas em que o suprimento hídrico é adequado. Já nos vegetais sujeitos ao déficit hídrico, os elementos de vaso são menores, mais agrupados e bastante numerosos (Costa et al., 2004).

Urbinati (2003) admite que a diferenciação dos elementos vasculares é controlada por um fluxo polar e basípeto de auxina, conforme afirmado por Zimmermann & Potter (1983) e Aloni (1995), os quais explicaram mudanças no tamanho e na frequência dos vasos ao longo do caule. Entre elas, podem-se citar: 1) a elevada frequência de vasos.mm² está associada à alta concentração de auxina, diminuindo do ápice para a base; 2) a interrupção no fluxo de auxina ao longo do caule causa aumento local em sua concentração, promovendo o aumento do número de vasos naquele local; 3) a duração da diferenciação de

vasos aumenta do ápice em direção à base da árvore; 4) o diâmetro dos vasos é regulado pela taxa de diferenciação: de uma rápida diferenciação resultam vasos estreitos e de uma diferenciação mais lenta resultam vasos largos.

2.2.2. Aspectos hidráulicos do fruto

Possivelmente, a água requerida para alongamento e transpiração dos frutos do cafeeiro, como na maioria dos órgãos de outras plantas, entra pelo xilema. Já em tomate foi verificado que, durante o desenvolvimento do fruto, 90% de toda água entra no fruto é via floema e que a água importada via xilema cessa quase completamente aproximadamente 20 dias após a antese (Ehret & Ho, 1986; Ho et al., 1987).

Conforme citado anteriormente, Crisosto et al. (1992) demonstram distinta diferença nos tecidos do xilema nos estádios 3 e 4 das gemas do cafeeiro e, neste caso, se não ocorrer uniformização do número e do tamanho dos vasos do xilema, pode refletir no tamanho dos frutos e também na uniformidade de maturação. Este fato justifica a importância de estudos que detectem as diferenças no número e no diâmetro de vasos, em frutos em crescimento na planta, inclusive em frutos do mesmo nó.

Esta diferença no número e no diâmetro dos vasos de xilema no pedúnculo dos frutos de cafeeiro, possivelmente influencia o fluxo na rota que leva ao fruto. A resistência hidráulica no xilema aumenta fortemente, dependendo do número e raio dos vasos do xilema ao longo da rota de transporte (Nijssse, et al., 2001). De acordo com a equação de Hagen-Poiseuille, a resistência hidráulica de um vaso individual é inversamente proporcional ao raio deste na quarta potência (Zwieniecki et al., 2004). Importante salientar que o diâmetro dos vasos, o comprimento finito dos vasos e o transporte concomitante de um vaso para o outro pode também influenciar fortemente a resistência hidráulica (Nijssse et al., 2001). Então, regiões com pequenos vasos aumentam

significativamente a resistência hidráulica no xilema. Ainda, o estresse hídrico durante o crescimento pode provocar aumento na resistência hidráulica do xilema pela indução do desenvolvimento de vasos do xilema com um diâmetro menor. De fato, em caules de milho (Abd El-Rahim et al., 1998) e videira (Lovisol & Schubert, 1998), a baixa disponibilidade de água na raiz resulta em elementos de xilema de menor diâmetro. O número e o diâmetro de vasos do xilema e seu efeito durante o crescimento do fruto do cafeeiro são desconhecidos.

Além das condições hormonais e fisiológicas que influenciam na maturação do fruto do cafeeiro, algumas características anatômicas possivelmente têm influência, mas são pouco estudadas. Hipoteticamente, um maior número de vasos de xilema poderia levar o fruto a atingir seu crescimento potencial mais rapidamente, antecipando o início do processo de maturação. É sabido que características, como número, diâmetro e comprimento dos vasos do xilema, influenciam na condutividade hidráulica na rota ramo-fruto (Tyerman et al., 2004).

Alguns estudos de condutividade hidráulica durante a maturação dos frutos têm sido realizados. Em videira, estimativas de fluxos hídricos através dos tecidos de xilema e floema foram produzidas, com base em medidas da mudança do volume diurno, em frutos intactos, com floema isolado e bagas incisadas. Estas estimativas indicam uma rápida troca de fluxo, predominantemente pelo xilema, mudando para um maior fluxo pelo floema próximo ao início da maturação (Greenspan et al., 1994, 1996) e um fluxo predominantemente do floema após a maturação (Lang & Thorpe, 1989; Rogiers et al., 2001). Estas evidências indicam que o uso da rota do xilema é substancialmente reduzida, mas não necessariamente implica que a redução é imposta por um bloqueio físico ou outra redução direta na condutividade hidráulica do xilema. Tyerman et al. (2004), fazendo medidas diretas da condutividade ao longo do caminho

pedúnculo-baga, em variedades de uva Shiraz e Chardonnay, concluíram que, para ambas as variedades, ocorre um progressivo declínio na condutividade entre o 65° e o 95° dia após o florescimento. Tyerman et al. (2004) sugerem que a redução observada na condutância pode ser uma combinação da restrição do xilema e reduzida presença ou atividade de aquaporinas.

Os processos de lignificação dos vasos do xilema dos frutos podem provocar a interrupção ou a redução do fluxo do xilema. Evidências indicam que células do xilema lignificadas de pedúnculos de videira na fase final do crescimento dos frutos interrompem o fluxo pela ruptura da continuidade do xilema (Lang & Düring, 1991; Coombe & McCarthy, 2000). Isso implica que, após o amadurecimento da baga da videira, o crescimento pode ser fisicamente restrito, até que outro aspecto (aumento da entrada de água via floema) permita que o desenvolvimento continue.

Bondada et al. (2005) demonstraram que os elementos condutores do xilema, tanto axial quanto periféricos, continuam intactos e aparentemente funcionais durante o desenvolvimento da baga da uva. No entanto, o consenso é de que o xilema pós-maturação não seja funcional. Estes pesquisadores ainda sugerem que, após a completa expansão dos frutos e maturação, a interrupção do fluxo pode ser devido à formação de embolia no xilema. Tyerman et al. (2004) sugerem que a diminuição do fluxo por ocasião da maturação pode ser resultado de um efeito conjunto do apoplasto (ruptura do xilema) e simplasto (aquaporina/condutividade hidráulica da membrana).

Devido à importância da água para a formação dos vasos de xilema, a abertura dos botões florais e para o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro como um todo, outro fator que vem sendo bastante estudado no intuito de uniformizar a floração e a maturação dos frutos é o uso da irrigação suplementar (Soares et al., 2005), a qual tem se mostrado vantajosa até em locais com períodos curtos de deficiência hídrica, mas que coincidem com as fases críticas

da cultura, sendo uma técnica em considerável expansão. Segundo Matiello & Almeida (1991), a deficiência hídrica é prejudicial ao cafeeiro, principalmente na fase de floração e frutificação, em que a irrigação torna-se necessária.

Uma freqüente irrigação para prevenir o florescimento, seguida por um déficit hídrico controlado e re-irrigação para estimular o florescimento, pode representar um método prático para sincronizar o florescimento e encurtar o período de colheita (Crisosto et al., 1992). No entanto, na região da Zona da Mata de Minas Gerais, Soares et al. (2005), estudando o efeito do estresse hídrico em cafeeiros irrigados, mostraram que não houve quebra da dormência dos botões florais pelo efeito do déficit aplicado, mesmo para potenciais de -0,8, -1,2 e -1,9 MPa, após 30, 63 e 90 dias, respectivamente. Relatam, ainda, que a quebra da dormência dos botões florais ocorreu somente em função da queda brusca de temperatura após a ocorrência de precipitações, mesmo com potencial da folha de 0,2MPa. Entretanto, ainda não se tem conhecimento fisiológico suficiente para aplicar o déficit hídrico ideal e na época correta para atingir esses objetivos sob condições de campo.

Tentando aprimorar este conhecimento, Karasawa et al. (2002), trabalhando com a cultivar Topázio MG-1190, concluíram que as irrigações realizadas de setembro a novembro anteciparam a maturação dos frutos, apresentando mais de 70% dos grãos no estágio passa e seco. Neste período de setembro a novembro, ocorre a expansão dos frutos desta cultivar e, como dito anteriormente, a irrigação suplementar nesta fase é necessária. Em hipótese, a água poderia contribuir para que o fruto atinja o seu crescimento potencial em menor tempo, dando início ao processo de maturação mais cedo.

2.3. Desenvolvimento do fruto: uma abordagem bioquímica

Para o desenvolvimento das gemas florais, alguns autores defendem a importância da atividade da planta no inverno (Barros & Maestri, 1974), no

entanto, para Melotto (1987), a principal fonte de carboidratos para os botões florais é a fotossíntese e não as reservas contidas nas folhas e ramos, o que, segundo Rena et al. (1996), sugerem elevado grau de dependência do estado nutricional da planta e da relação funcional entre folha e fruto. Assim, a importância de mais estudos dirigidos sobre o metabolismo dos carboidratos em órgãos reprodutivos do cafeeiro é evidente.

As plantas têm a capacidade fotossintética de reduzir CO₂ na presença de luz e fixar os carboidratos formados em tecidos fotossinteticamente ativos (tecidos fonte) e, depois, distribuir estes carboidratos para tecidos não fotossintéticos (tecidos dreno). Alguns órgãos das plantas são dotados da capacidade de exportar ou importar carboidratos e, de acordo com esta capacidade, o órgão assume o papel de fonte (exportador) ou dreno (importador). Na produção agrícola, os drenos são, quase sempre, as partes economicamente mais importantes da planta. As gemas e os frutos são definidos como drenos de alta prioridade, em relação a drenos alternativos (folhas jovens), no contexto de competição por assimilados. Em condições normais, a capacidade da fonte é limitada pela força dos drenos. Nesse aspecto, plantas com maior força de dreno são capazes de atingir maior produtividade nas mesmas condições que plantas com menor força de dreno.

Dessa forma, um fator importante que influencia diretamente na produção das plantas é o particionamento de carbono, em que cinco pontos são considerados cruciais: 1) a produção de assimilados nos cloroplastos; 2) a exportação destes para o citosol; 3) a síntese de sacarose nas células do mesófilo, o carregamento do floema e o transporte da sacarose a grandes distâncias; 4) o descarregamento do floema e 5) a utilização da sacarose nos órgãos-dreno (Sonnewald et al., 1994).

O estudo do metabolismo de carboidratos no cafeeiro é de vital importância. Os carboidratos solúveis (frutose, glicose e sacarose) têm

importância na regulação osmótica e transporte, enquanto os carboidratos insolúveis (amido) são importantes formas de reserva. O amido é tido como a mais difundida reserva de carbono armazenada em plantas, enquanto que a sacarose exerce um papel central no crescimento e no desenvolvimento de plantas, como uma forma primária de transporte de carbono e energia na maioria das espécies vegetais e também como um regulador da expressão de genes. Segundo Koch (2004), o metabolismo da sacarose pode ser considerado como o coração de um sistema sensível e auto-regulador do desenvolvimento de plantas.

A flor do cafeeiro é considerada um dreno prioritário na época de reprodução. Sendo assim, o aporte de carboidratos para as gemas e o consumo destes para o seu desenvolvimento são importantes para a produtividade da planta, o que confere às enzimas envolvidas no metabolismo de clivagem da sacarose um papel decisivo na compreensão dos mecanismos de sua regulação. Gardin et al. (2002), trabalhando com gemas de pereira japonesa, verificaram diminuição dos teores de amido e aumento dos açúcares solúveis, à medida que se aproximava a floração. Desde que Ho (1988) sugeriu que a taxa de clivagem de sacarose pode afetar a atividade de um dreno, alguns estudos têm se dedicado a investigar este aspecto, acreditando no papel regulador de enzimas chaves.

Na cultura do cafeeiro, para que se consiga melhorar a distribuição de carboidratos a favor dos drenos de interesse econômico, o conhecimento e a compreensão da atividade de enzimas chaves no metabolismo de carboidratos tomam grande importância. Alguns trabalhos têm sido realizados nesse sentido, mas com gemas ainda são escassos. Geromel et al. (2002), trabalhando com frutos de cafeeiro, verificaram que a atividade das enzimas SUSY (sintase da sacarose) e a sintase da sacarose fosfato (SPS) aumentaram com a maturação.

A hidrólise da sacarose em tecidos dreno pode ocorrer via invertases e ou SUSY. O comportamento diferencial dessas enzimas, associadas ao desenvolvimento do fruto, torna possível uma melhor compreensão do processo

de descarregamento do floema. Em relação a estas duas rotas alternativas, sabe-se que uma envolve a hidrólise irreversível de sacarose a glicose e frutose, via invertases, que são enzimas de baixo *K_m* para sacarose (7 a 15 mM). Após esta etapa, glicose e frutose são fosforiladas por várias hexoquinases e frutoquinases (Renz & Stitt, 1993), usando ATP ou UDP como doadores de energia. A outra rota sacarolítica, exclusiva de plantas, é catalisada pela SUSY e envolve uma clivagem de sacarose dependente de UDP, produzindo UDP-glicose e frutose. O *K_m* da SUSY para a sacarose é relativamente alto (40 a 200 mM) e a atividade da enzima é limitada pelas concentrações de sacarose e UDP no citosol.

As duas vias de degradação de sacarose a hexoses fosfatadas diferem em relação aos seus custos energéticos. Enquanto a clivagem de sacarose via invertases requer 2 moléculas de ATP, a clivagem via SUSY e UGPase (UDPglicose pirofosforilase) requer apenas uma molécula de PPi (Geigenberger, 2003). O custo total de energia da via SUSY é ainda menor se considerarmos que esta rota metabólica recicla PPi, que é produzido como um excedente em muitas reações biossintéticas (Bologa et al., 2003).

2.3.1. Invertases

As invertases podem ser classificadas de acordo com sua localização subcelular, seu pH ideal de atividade e respectivos pontos isoelétricos (Avigad, 1982). As invertases ácidas estão localizadas no vacúolo e na parede celular (Salzer & Hager, 1993), enquanto as invertases neutras ou alcalinas localizam-se no citosol das células vegetais (Sturm & Chrispeels, 1990). Segundo Sturm (1999), as funções específicas das diversas formas de invertase não são claras, mas parecem regular a entrada de sacarose nas suas diferentes vias de utilização. A maioria das espécies contém pelo menos duas isoformas de invertase vacuolar, que se acumulam como proteínas solúveis (invertases ácidas solúveis), no lúmen deste compartimento acidificado. De maneira similar, existem algumas

isoformas de invertase extracelular (invertases de parede celular), que são ionicamente ligadas à parede celular. Invertases de vacúolo e de parede celular promovem a clivagem de sacarose com maior eficiência quando submetidas a pH entre 4,5 e 5,0. Além disso, as plantas têm pelo menos duas isoformas de invertases citoplásmicas, cujo pH ótimo para a clivagem de sacarose situa-se próximo à neutralidade ou levemente alcalino. Muito provavelmente, as invertases convertem sacarose a hexoses, com o objetivo de prover as células com combustível para a respiração e com carbono e energia para a síntese de numerosos e diferentes compostos. A clivagem de sacarose à glicose e frutose pode aumentar significativamente a pressão osmótica das células, sugerindo uma possível função das invertases no alongamento celular e crescimento de plantas (Sturm, 1999).

Invertases solúveis são sempre intracelulares e diferem no seu pH ótimo: invertases ácidas, cujo pH ideal encontra-se na faixa de 3,5 a 5,1 e as invertases neutras ou alcalinas possuem pH ótimo entre 7,0 e 7,8 (Avigad, 1982).

As invertases fornecem hexoses para o metabolismo celular (Hubbard et al., 1989; Yelle et al, 1991), mas também participam no controle do crescimento, na diferenciação celular, além do desenvolvimento de sementes e embrião. São enzimas com potencial para agir fortemente como controladores de uma ampla variedade de processos, tais como biossíntese e percepção de hormônios, a exemplo do ácido abscísico. Além disso, tanto os sensores de açúcares como os de hormônios podem afetar a própria expressão dos genes que codificam as invertases e a SUSY (Koch, 1996; Trouverie et al., 2003). Além das invertases, a SUSY, que é uma glicosil transferase, tem sua ação enzimática associada à determinação da força de drenos (Zrenner et al., 1995) e tecidos vegetativos em desenvolvimento (Pfeiffer & Kutschera, 1995).

2.3.2. SUSY

A SUSY participa da conversão de sacarose a amido em numerosos tecidos (Pozueta-Romero et al., 1999), na síntese do precursor de celulose UDP-G (Chourey & Miller, 1995), na fixação biológica de nitrogênio em nódulos (Gordon et al., 1999) e é diretamente envolvida em alterações metabólicas causadas por estresse de frio e anaerobiose. Sua plasticidade funcional é, provavelmente, devido à sua capacidade de utilizar vários nucleosídeos, à sua reversibilidade catalítica e à sua compartimentalização celular diversa (Etxeberria & Gonzalez, 2003).

A SUSY tem seu papel reconhecido em vários processos metabólicos das plantas. Admite-se que a atividade da SUSY esteja relacionada predominantemente com a síntese de parede celular e de amido (Winter & Huber, 2000), mas também pode estar associada com a síntese de sacarose. Apesar de a reação catalisada pela SUSY ser reversível, existem evidências de que a principal ação desta enzima é no sentido da clivagem da sacarose, produzindo UDP-glicose (para síntese de parede) e frutose. De acordo com Kruger (1993), pelo menos três argumentos sustentam essas evidências. O primeiro argumento tem relação com a distribuição da SUSY em diferentes tecidos. A atividade da SUSY é, geralmente, baixa em células fotossintéticas e gliconeogênicas e é, muitas vezes, alta em tecidos com intensa atividade de crescimento, os quais dependem da sacarose como o seu substrato respiratório.

Em geral, a invertase ácida é relacionada ao desenvolvimento inicial e a SUSY à maturação e ao armazenamento. A persistência da atividade invertásica até determinados estádios pode retardar a diferenciação. Inversamente, a diferenciação pode ser induzida quando a atividade da invertase ácida decresce. As invertases estão presentes principalmente em tecidos nos quais ocorre intensa atividade de alongamento celular (Sung et al., 1988; Ranwala & Miller, 1998).

Em alguns tecidos, a atividade das invertases é muito menor que a da SUSY, mostrando-se insuficiente para catalisar a sacarose. Um bom exemplo disso é o tubérculo da batata, no qual as invertases ácida e alcalina têm atividades tão baixas que a SUSY parece assumir quase integralmente a clivagem da sacarose. Por fim, estudos realizados com mutantes de milho revelam que uma redução dos níveis de SUSY em endosperma em desenvolvimento restringe a capacidade desse tecido de metabolizar sacarose (Boyer, 1985).

Dos poucos trabalhos realizados em cafeeiro, Geromel (2006) verificou que a SUSY apresentou valores de atividades bem maiores que o das invertases ácidas (IAV). Ainda, a sacarose fosfato sintase (SPS) acompanhou o acúmulo de sacarose no estágio inicial no pericarpo de frutos de café. Foi mostrada a existência de duas isoformas de SUS, codificadas por dois genes chamados CaSUS1 e CaSUS2 em *C. arabica*, que possivelmente desempenham diferentes funções metabólicas nos diferentes tecidos do fruto de café.

O manejo da cultura do cafeeiro pode influenciar na atividade de enzimas chave no metabolismo dos carboidratos. Silva et al. (2003), trabalhando com aplicações de 0,5% e 1% de sacarose em plantas de cafeeiro, encontraram aumento da atividade das enzimas invertase neutra, ácida do vacúolo, da parede celular e SUSY em plantas depauperadas, quando comparadas com as testemunhas que receberam somente água. As invertases e a SUSY podem exercer papel fundamental no desenvolvimento de plantas de cafeeiro. As enzimas invertases e a sacarose sintase (SUSY) são citadas para outras espécies, por vários autores, como responsáveis pelo controle de fluxo e hidrólise de sacarose em tecidos-drenos (Zrenner et al., 1995; Isla et al., 1998; Sturm, 1999; Nguyen-Quoc & Foyer, 2001; Etxeberria & Gonzalez, 2003).

Rogers et al. (1999), ao estudarem os teores de açúcares no desenvolvimento dos grãos de café (*C. arabica* var. Caturra), observaram que os

teores de glicose no início do desenvolvimento do grão, no perisperma, são maiores que os de sacarose e, ao longo do desenvolvimento, o decréscimo nos teores de glicose é acompanhado pelo aumento no teor de sacarose, enquanto que, no endosperma, a sacarose é o açúcar predominante no início do desenvolvimento desse tecido. Esses autores sugerem, também, que os altos teores de hexoses no perisperma, pelo menos em certos estádios do crescimento do fruto, representam maior catabolismo de sacarose neste tecido, que é requerido pelo aumento do potencial osmótico, permitindo a expansão inicial e a função de dreno, seguida de uma nova síntese de sacarose exigida pelo endosperma.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área do estudo

Os experimentos foram conduzidos em uma plantação de café da cultivar Topázio MG-1190 (Croquis no anexo), localizada no campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, região Sul do estado de Minas Gerais, localizado a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W. A temperatura média anual do ar dessa região é de 19,4°C e as médias anuais de temperatura, máxima e mínima, são de 26,1°C e 14,8°C, respectivamente, com precipitação média anual de 1.530mm. Segundo a classificação climática de Köppen, o clima da região é do tipo Cwa, ou seja, clima temperado úmido, com inverno seco e verão quente.

A cultura utilizada durante o período experimental é da cultivar 'Topázio MG 1190', implantada com espaçamento 1,80 x 0,70m. A idade das plantas era de, aproximadamente, 9 anos à época de realização do experimento e elas foram submetidas a uma poda drástica (recepa) aos 65 meses de idade (em setembro de 2001), portanto, ficando a parte aérea com 3 anos após a recepa. Foram utilizadas plantas irrigadas e não irrigadas, sendo o sistema de irrigação o de gotejamento e a lâmina aplicada equivalente a 80% do balanço entre a evaporação do tanque classe A (ECA) e as precipitações ocorridas no período entre duas irrigações consecutivas (80% ECA – precipitação). Os dados da ECA e climatológicos foram obtidos na Estação Climatológica Principal de Lavras, situada no Campus da UFLA, localizada a aproximadamente 500 metros do experimento. As irrigações foram realizadas duas vezes por semana (terça-feira e sexta-feira), sendo o tratamento aplicado na lavoura desde os 28 meses de idade.

O solo da área em estudo é classificado como Latossolo Vermelho Distroférico, com textura muito argilosa, plano e uniforme (Embrapa, 1999). A lavoura foi implantada com um espaçamento de 1,80m entre linhas e 0,70m entre plantas. A adubação foi realizada com base na análise de fertilidade do solo e de acordo com o método da 5ª Aproximação da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. Foram aplicados uréia e cloreto de potássio, em quatro parcelamentos entre outubro e março.

3.2. Características avaliadas

Para atingir os objetivos propostos, foram desenvolvidos três experimentos independentes, cujas descrições são apresentadas a seguir.

3.2.1. Experimento I: Efeito da irrigação e da posição na planta nas características anatômicas dos ramos e dos frutos do cafeeiro

Foram coletados ramos plagiotrópicos de primeira ordem, em uma amostra constituída de 12 plantas irrigadas e 12 plantas não irrigadas no dia 7/7/2004 (Figura 1A do anexo). Em cada grupo de 12 plantas foram coletados 6 ramos na posição Leste de 6 plantas e 6 na posição Oeste das outras 6 plantas, sendo todos armazenados em álcool 70% (v/v) para estudo dos ramos. Os frutos presentes nestes ramos foram contados, separados por estágio de maturação e armazenados em álcool 70% (v/v) para estudo dos frutos. A data de coleta foi escolhida em função da presença de frutos em vários estádios de maturação no mesmo ramo.

3.2.1.1 Estudo dos ramos

Para o estudo dos ramos, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2^2 (IRRIGAÇÃO= irrigado e não irrigado X POSIÇÃO = Leste e Oeste) com seis repetições (plantas). As variáveis analisadas no ramo foram: número de frutos

(NF), área de parede celular (APC, %, 4 campos por repetição), área do lúmen dos vasos (ALV, %, 4 campos por repetição), diâmetro do ramo (DR, mm), número de vasos por mm² (NVmm⁻², 4 campos por repetição), diâmetro dos vasos do xilema (4 campos por repetição, leitura dos 10 maiores vasos e utilização da média).

Para tanto, foram realizados cortes anatômicos na base dos ramos, a um centímetro de distância da inserção no ramo ortotrópico, no sentido transversal, com auxílio de um micrótomo de deslizamento utilizando navalha de aço tipo C, do Laboratório de Anatomia de Madeira do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Em seguida, todos os cortes foram submetidos à coloração com safrablau (solução composta por dois tipos de corantes: o azul de astra, que cora paredes celulósicas em azul, e a safranina, que cora paredes lignificadas, suberificadas e cutinizadas em vermelho) (Kraus & Arduim, 1997).

3.2.1.2 Estudo dos frutos

Em relação aos frutos, uma vez coletados, foram realizados cortes anatômicos na seção transversal do pedúnculo. Os cortes foram efetuados à mão livre, com auxílio de lâminas de barbear e inclusão do material em pecíolo de imbaúba, sendo estes submetidos à clarificação em solução de hipoclorito de sódio a 20% de produto comercial, por um período de três a cinco minutos, seguido de três lavagens em água destilada. Posteriormente, foram submetidos à coloração com safrablau. Os cortes foram montados em lâminas semipermanentes com água glicerinada 50%.

Para o estudo dos frutos, o delineamento experimental foi em esquema fatorial com três fatores: irrigação (irrigado e não irrigado), posição (Leste e Oeste) e maturação (1=verde, 2=verde-cana, 3=cereja, 4=passa e 5=seco). As

variáveis analisadas foram: número de vasos do xilema (NV) e diâmetro de vasos do xilema (DV).

A variável DV foi constituída dos 10 maiores vasos do xilema e a variável NV foi constituída do total de vasos da seção transversal do pedúnculo do fruto, ambas obtidas dos pedúnculos de 3 frutos por planta, sendo 3 plantas para cada nível de cada fator.

As mensurações anatômicas, tanto dos ramos quanto frutos, foram realizadas no Laboratório de Anatomia de Madeira do Departamento de Ciências Florestais (UFLA), utilizando-se o sistema de concepção canadense WinCELL Pro 2001, desenvolvido pela Régent Instruments (2004) para o estudo de células do xilema, previamente calibrado de acordo com as recomendações do fabricante.

3.2.2. Experimento II: Caracterização do sistema vascular de frutos em crescimento

Para este estudo, foram marcados ramos completamente floridos de plantas não irrigadas, do surto de florescimento principal do ano de 2004 ocorrido no dia 28/09/04, para posterior acompanhamento do desenvolvimento do xilema do pedúnculo dos frutos durante o crescimento dos mesmos. Foram coletados frutos em cinco épocas, ou seja, dias após o florescimento (DAF), entre o estágio chumbinho e o estágio final de expansão dos frutos. De cada infrutescência foram separados o menor e o maior fruto, medido o diâmetro na seção transversal dos frutos, o diâmetro dos dez maiores vasos do xilema e contado o número de vasos no pedúnculo de cada fruto.

Assim, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com sete repetições e os tratamentos dispostos em esquema fatorial, com dois fatores: DAF, com cinco níveis (51, 64, 97, 128 e 155) e Tamanho, com dois níveis (maior e menor). O diâmetro dos frutos foi medido com paquímetro. Foram

escolhidos o maior e o menor fruto da infrutescência oriunda do mesmo surto de florescimento. No croqui (Figura 2A do anexo) são representadas apenas as plantas que continham os frutos coletados em cada época.

Os cortes anatômicos da seção transversal do pedúnculo dos frutos, bem como a instrumentação usada, foram os mesmos descritos para frutos no experimento I.

3.2.3. Experimento III: Aspectos bioquímicos associados a eventos reprodutivos do cafeeiro

Este estudo foi realizado em plantas não irrigadas nas quais foram avaliadas as seguintes características bioquímicas: Amido, açúcares solúveis (glicose, frutose, sacarose e açúcares solúveis totais (AST)), atividade de invertases (invertase neutra do citosol (INC), invertase ácida do vacúolo (IAV), invertase ácida da parede celular (IAPC) e sintase da sacarose (SUSY)).

Em cada uma das nove épocas foram coletados ramos de 5 plantas, separados as folhas, as gemas ou frutos (quando tinha) dos ramos, constituindo 3 estruturas a serem analisadas: ramo, folhas e gemas/frutos. O material vegetal foi coletado e rapidamente congelado em nitrogênio líquido para conservação da composição vegetal, sendo armazenado em ultrafreezer para posterior liofilização e moagem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições, sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial 3x9 (3 níveis de Estrutura – ramo, folha e gema/fruto e nove níveis de época – 1 a 9, explicadas abaixo).

As avaliações bioquímicas foram feitas em três fases distintas, as quais estão ilustradas na Figura 3. A Fase 1 é caracteriza-se pelo estado de dormência das gemas, pequeno tamanho, dificuldade de coleta de material para as análises de gemas. O tamanho das gemas era menor ou igual ao apresentado na Figura 3,

portanto não foram coletadas. Nesta fase foram avaliadas as Estruturas Ramo e Folhas nas épocas 25/05/04, 24/06/04 e 20/07/04 (correspondentes aos dias julianos 146, 176 e 202, respectivamente).

As avaliações nas gemas começaram na Fase 2, caracterizada pelo período de intenso crescimento das mesmas, que vai do início do entumescimento até o início da abertura de pétalas. Nesta fase foram feitas determinações nas três estruturas, nas épocas 20/08/04, 31/08/04, 07/09/04, 15/09/04 e 22/09/04 (correspondentes aos dias julianos, 233, 244, 251, 259 e 266, respectivamente).

A última época de avaliação foi 16/11/04 (correspondente ao dia juliano 321), a própria Fase 3, na qual o tecido reprodutivo avaliado já não foi mais gema e sim fruto (Figura 1).

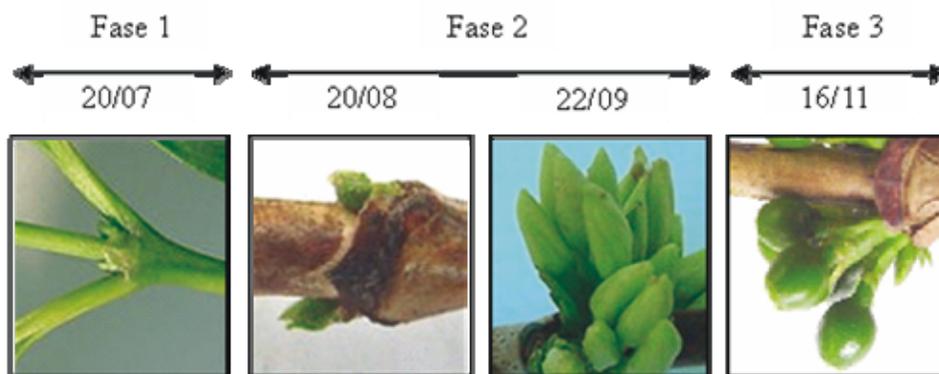


FIGURA 1: Estádio fenológico que se encontravam os tecidos reprodutivos avaliados no Experimento III. A Fase 1 abrange as épocas 146=25/05/04, 176=24/06/04 e 202=20/07/04 e as gemas estão no estágio dormente. Na Fase 2 as épocas 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259=15/09/04 e 266=22/09/04 as gemas iniciam entumescidas e culminam no estágio abotoado. Na Fase 3 compreende a época 321=16/11/04 que são frutos em estágio de expansão.

Na Figura 2 são apresentados os dados meteorológicos do período compreendido entre 15/05 a 26/11/04, no qual foram realizadas as coletas das amostras do Experimento III e medido o potencial hídrico (Ψ_w) das plantas. As barras dos dados de Ψ_w estão posicionadas nas datas de coletas deste

experimento. Nas três primeiras épocas, ocorreram um período de média amplitude térmica e chuvas esparsas. As quatro épocas seguintes (4, 5, 6, e7) foram acompanhadas por baixa precipitação e alta amplitude térmica. A época 8 foi precedida por chuva (30mm) e média amplitude térmica. Seis dias depois, ocorreu o principal surto de florescimento do ano (28/08), representado pelas setas. A época nove foi caracterizada por um período chuvoso e com baixa amplitude térmica. As observações do Ψ_w estão próximas de -0,8 MPa, ao longo de todo o período, o que não caracteriza níveis elevados de deficiência hídrica, pois os valores críticos para a cultura do cafeeiro são de -2,5MPa.

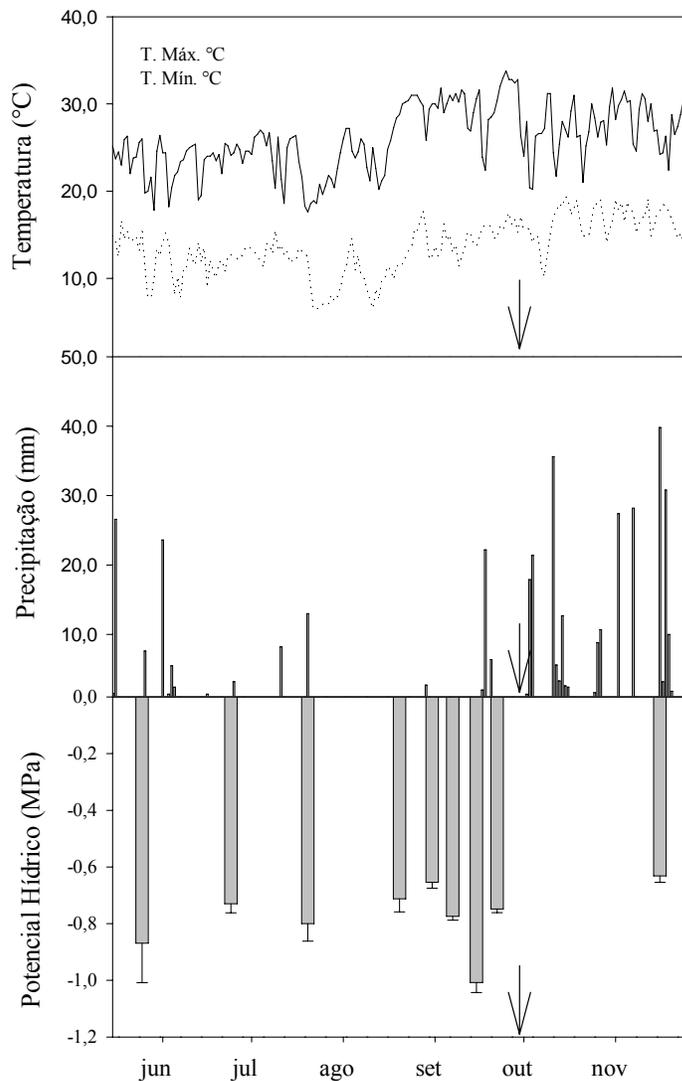


FIGURA 2: Temperatura máxima e mínima, precipitação e potencial hídrico das plantas utilizadas no Experimento III. As épocas avaliadas no experimento coincidem com as datas de avaliação do potencial hídrico, 1 a 9. A seta identifica o primeiro surto de florescimento (28/09/04) ocorrido na área estudada. A fonte dos dados meteorológicos foi Estação Climatológica Principal de Lavras, MG, 2004.

3.2.3.1 Açúcares solúveis

As análises de açúcares solúveis foram realizadas de acordo com a metodologia de Gardin et al. (2005) em cromatógrafo a gás da marca Shimadzu GC-14B, com uma coluna do tipo Packed Column J. K. de 3,2mm de diâmetro por 2m de comprimento, empacotada com Silicone SE-52 Uniport HP 80/100 mesh.

Utilizou-se o detector de ionização de chama (FID), ideal para análise de carboidratos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 200°C e a velocidade do gás de arraste (nitrogênio) de 5mm/min. O programa inicial de temperatura do forno foi de 160°C, permanecendo nesta temperatura por 1 minuto, posteriormente subindo a 200°C, numa taxa de 4°C por minuto; permaneceu nesta temperatura por 3 minutos, logo subindo para 280°C, numa taxa de 20°C por minuto, na qual permaneceu até o final da corrida, que ocorria após 25 minutos.

Para calibração do aparelho, após a injeção dos padrões com concentrações conhecidas, registrou-se o tempo de retenção de cada açúcar (padrão interno pentaeritritol 4'6'', frutose 10'5'', α -glicose 13'5'', β -glicose 15'6'', sacarose 22'0'') e corrigiram-se os valores lidos para as concentrações conhecidas injetadas no cromatógrafo.

Pesaram-se de 300 a 500mg de tecido seco e moído, incubou-se a 80-85°C, por 5 minutos, em 5mL de etanol 80% para a extração dos açúcares. Misturou-se o conteúdo e centrifugou-se por 10 minutos, a 3000rpm, separando-se o sobrenadante. Ressuspendeu-se novamente o precipitado em 10mL de etanol 80% e misturou-se, repetindo-se o processo de centrifugação, juntando-se ao sobrenadante da primeira centrifugação. Posteriormente, evaporou-se o sobrenadante a 45°C, em rotavapor R-114 da marca Büchi, até não existir mais álcool.

As amostras foram purificadas em resinas de troca iônica IR120 (catiônica H⁺), para eliminar aminoácidos e IR400 (aniônica OH⁻), para eliminar os ácidos orgânicos. Ainda, para precipitação e remoção de proteínas, as amostras foram adicionadas de 4,8mL de ZnSO₄ 0,5N (5%) e 5mL de Ba(OH)₂ 0,33N (5%), os quais têm um pH ácido e básico, respectivamente e, quando misturados, devem produzir um pH 7,0. Após decantar, filtrou-se o sobrenadante com papel filtro número 2 e completou-se o volume para 50mL.

Destes 50mL, foram retirados 20mL e colocados em cadinho de porcelana para secar em chapa quente, a 160°C. Quando estava quase todo evaporado, eram transferidos para vidros de injeção, adicionando-se 1mL de pentaeritritol (na concentração de 1mg/mL, açúcar padrão interno do cromatógrafo), retornando para a chapa quente (120°C) até a completa secagem, tendo o cuidado de não queimar os açúcares. Depois, conservou-se em local seco (dessecador com sílica gel) por, no mínimo, 24 horas.

Após a secagem, antes da injeção dos açúcares no cromatógrafo, foi realizada a derivatização dos açúcares pelo método do HMDS-TMCS. O método baseia-se na reação entre o grupo OH da molécula que se pretende derivatizar com uma mistura de HMDS (hexamethyldisilazane) e TMCS (trimethylchlorosilane) e um solvente apropriado (piridina). Os vidros de injeção contendo dos açúcares são dissolvidos acrescentando-se 1mL de piridina (dentro de uma capela, câmara de exaustão) e derivatizados com 200µl de HMDS e 100µl de TMCS. A reação produz um éter contendo o grupo trimetilsilil (TMS) e o radical originalmente preso ao grupo OH a ser derivatizado, e um sal (cloreto de amônio), o qual precipita e não interfere na reação ou na análise cromatográfica. Esperou-se decantar por 30 minutos e efetuou-se a injeção no cromatógrafo.

Injetam-se no cromatógrafo 2µl do analito e os açúcares são detectados nos FIDs, processados por um integrador e expressos em mg, conforme

cromatograma da Figura 1. Foi realizada a correção de diluição para que os resultados fossem expressos em miligramas por grama de matéria seca (mg.g MS⁻¹).

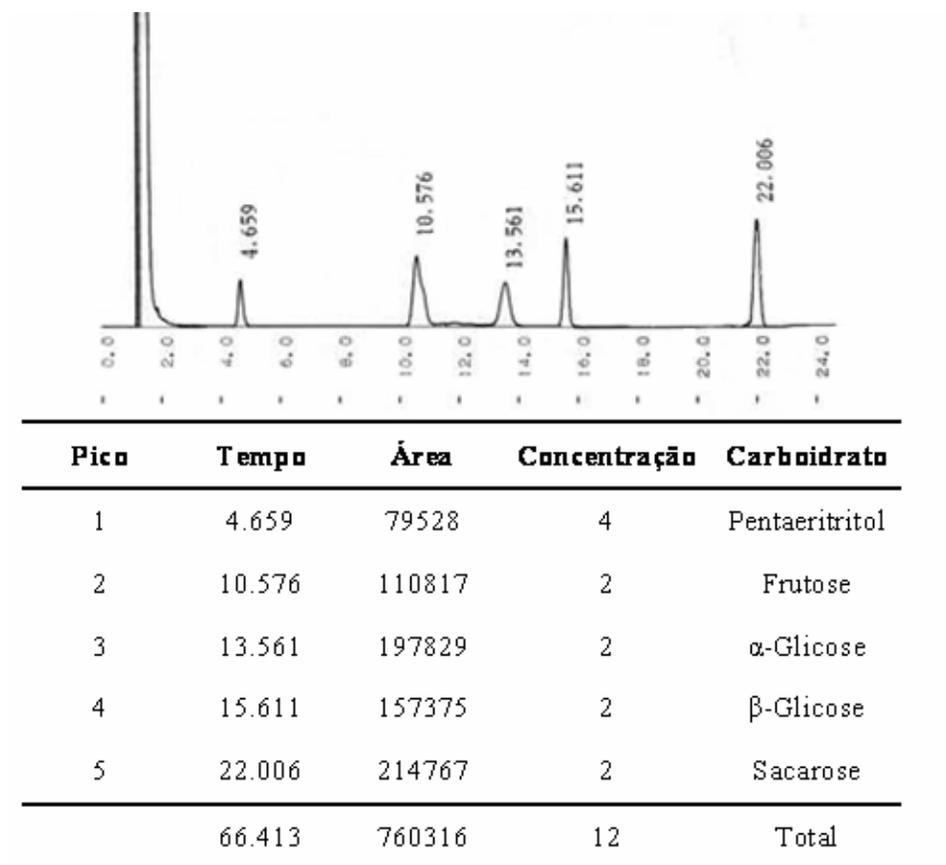


FIGURA 3: Cromatograma de análise de açúcares solúveis em tecido vegetal de cafeeiro. Os picos são: pentaeritritol, frutose, α-glicose, β-glicose, sacarose, respectivamente.

3.2.3.2 Amido

Os carboidratos solúveis foram extraídos pela homogeneização de 500mg tecido vegetal em 4 mL do seguinte tampão: fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, PVPP (polivinil poli pirrolidona) 1 mM, ácido ascórbico 20 mM e NaCl 200 mM, seguida de centrifugação, a 20.000 g, por 20 minutos, a 4°C e

coletado o sobrenadante. O processo era realizado mais duas vezes e os sobrenadantes combinados (do sobrenadante podem-se determinar os açúcares).

Para extração do amido, o pellet foi ressuscitado com 6mL do tampão acetato de potássio 200 mM, pH 5,5 e colocado em banho-maria (100°C), por 5 minutos.

Em seguida, foram adicionados 2mL do preparado da enzima amiloglucosidase, contendo 12,6 unidades, incubando-se em banho-maria, a 40°C, por 2 horas. Posteriormente, o material foi centrifugado a 20.000g por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e o volume completado para 10 mL e quantificado pelo método da antrona (Diche, 1962).

3.2.3.3 Invertases

A extração e a incubação das invertases solúveis (INC = invertase neutra do citosol, IAV = invertase ácida do vacúolo) foram realizadas conforme descrito por Zeng et al. (1999) e da invertase insolúvel (IAPC = invertase ácida da parede celular), segundo Cazetta et al. (1999), com algumas modificações.

A extração da invertase neutra do citosol (INC) e da invertase ácida do vacúolo (IAV) foi realizada com meio extrator constituído de tampão HEPES – 100 mM – ajustando-se o pH para 7,5, PMSF (*phenyl methyl sulfonyl fluoride*) – 1 mM, MgCl₂ – 10 mM, DTT (ditiotreitól) – 1 mM, ácido ascórbico – 100 mM, PVPP (polivinil pirrolidona) 10% p/v, 2-mercaptoetanol 3,2 mM e água. O material sólido (pellet) foi reservado para a extração da invertase da parede celular (IAPC), a qual foi realizada com tampão de extração constituído de tampão citrato de sódio – 200 mM – ajustando-se o pH para 4,8, PMSF – 1 mM, MgCl₂ – 10 mM, ditiotreitól (DTT) – 1 mM, ácido ascórbico – 100 mM, NaCl – 1 M e água.

Depois de proceder à extração das três enzimas invertases, o extrato foi adicionado a um meio de incubação. O meio de incubação da INC foi

constituído de tampão fosfato de potássio 100 mM – ajustado o pH para 7,5, MgCl₂ – 10 mM e sacarose – 200 mM. Já os meios da IAV e da IAPC foram constituídos de tampão citrato de sódio 200 mM – pH 4,8, MgCl₂ – 10 mM e sacarose – 200 mM. A temperatura de incubação foi de 37°C.

As amostras foram adicionadas de NaOH 1N, 150µL para INC e 300µL para IAV e IAPC, com a função de parar a reação enzimática. A quantificação da atividade das enzimas foi realizada pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959).

3.2.3.4 Sintase da sacarose (SUSY)

A sintase da sacarose foi avaliada no sentido da degradação da sacarose, considerando que a enzima exerce também a síntese. A extração foi realizada com meio extrator constituído de HEPES 50mM pH 7,0, MgCl₂ 5mM, DTT (ditiotreitól) 2mM, EDTA dissódico 1mM, ácido ascórbico 100 mM e PVPP 10% p/v. O meio de incubação foi constituído de tampão MES 100mM pH 6,0, UDP 5mM e sacarose 300mM. A incubação foi realizada por 40 minutos, à temperatura de 37°C. A atividade da SUSY foi quantificada pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959).

3.3. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas de acordo com o delineamento de cada experimento, com auxílio do Software R. Após a verificação da significância dos efeitos dos diferentes fatores, foram utilizadas, no caso de níveis quantitativos, análises de regressão e, para a comparação entre médias, quando havia mais de dois níveis para o fator qualitativo, foram construídos intervalos com 95% de confiança. As hipóteses de nulidade para os coeficientes de correlação foram testadas com o teste "t" de Student, conforme Steel e Torrie (1980).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento I: Efeito da irrigação e posição na planta nas características anatômicas dos ramos e dos frutos do cafeeiro

4.1.1. Características dos ramos

Na Figura 4 é apresentado um conjunto com quatro imagens do ramo, obtidas com o programa Wincell. As áreas pretas correspondem à área de parede celular e, em branco, a área de lúmen, as quais são expressas em porcentagem.

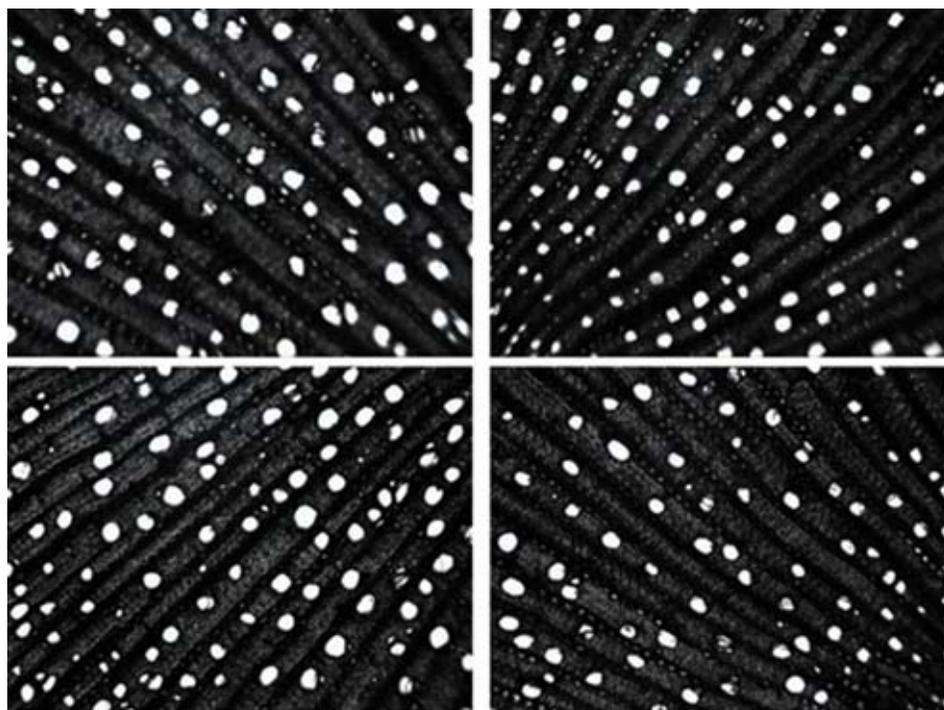


FIGURA 4: Imagens do ramo de cafeeiro, obtidas de lâminas microscópicas com o auxílio do software Wincell Pro 2001. Cada imagem corresponde a uma posição distinta do ramo.

Na Figura 5 é apresentada a associação entre as variáveis APC e ALV, assim como um histograma mostrando a distribuição de freqüência dos dados

para as duas variáveis. Observa-se que a APC varia entre 84% e 96% e que a ALV varia de 4% a 16% da área do ramo. A associação das variáveis só é afetada por algum evento que influencie nas características do ramo, tais como rachaduras e danos mecânicos, portanto, pode-se verificar a alta associação entre as variáveis.

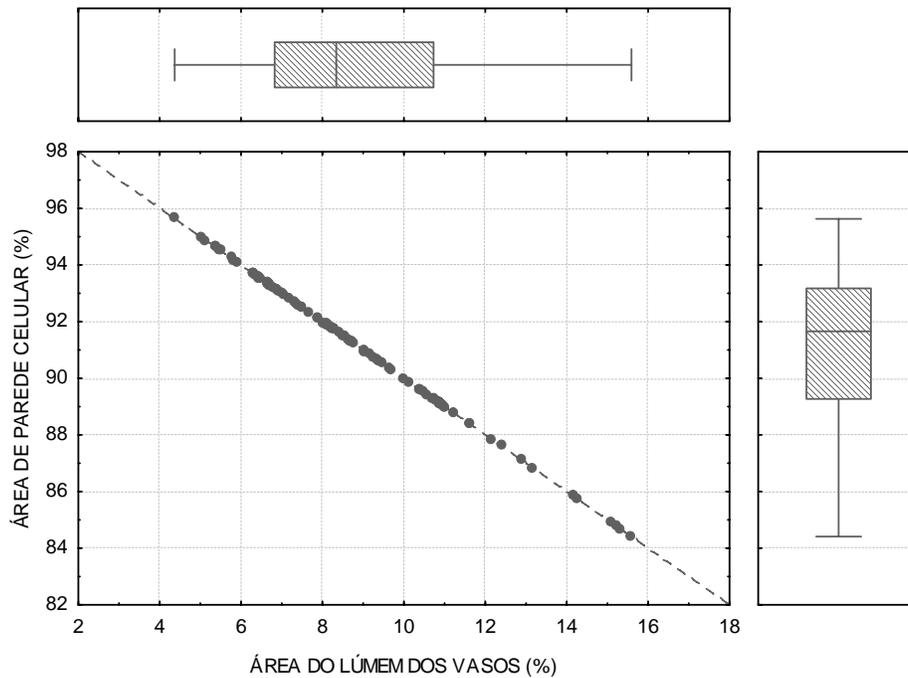


FIGURA 5: Relação entre a área de parede celular e a área do lúmem dos vasos (%).

Na Figura 6 é apresentado o resultado para a variável área de parede celular (APC) (efeito APC: $F(1, 92)=11,864$, $p=0,0008$). Observa-se um aumento significativo da APC na posição Leste, quando passa do nível irrigado para o não irrigado do fator Irrigação. A média, o mínimo, o máximo e o desvio padrão para a variável APC foram, respectivamente, 91, 84, 96 e 3%.

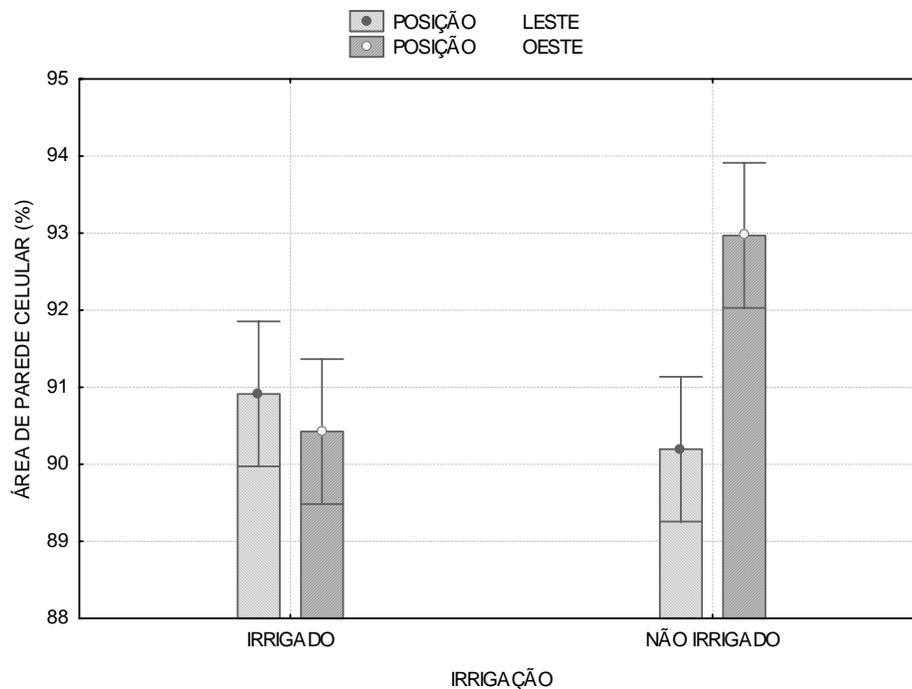


FIGURA 6: Efeito da interação irrigação vs posição, para a variável área de parede celular. As barras verticais representam o intervalo de 95% de confiança.

Na Figura 7 é apresentado o efeito da interação irrigação vs posição para a variável área do lúmen dos vasos (ALV) (efeito ALV: $F(1, 92)=11,864$, $p=0,00086$). Pode-se observar uma diminuição nas áreas dos lúmens dos vasos na posição oeste quando passa do nível irrigado para o não irrigado do fator irrigação. A média, o mínimo, o máximo e o desvio padrão para a variável ALV foram, respectivamente, 9, 4, 16 e 3%.

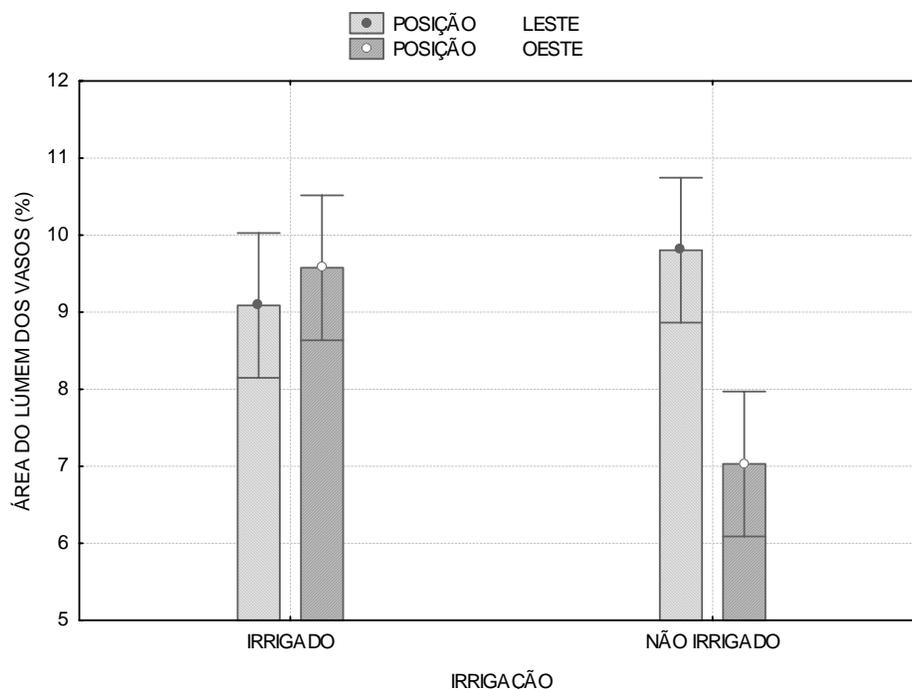


FIGURA 7: Efeito da interação irrigação vs posição para a variável área do lúmen dos vasos. As barras verticais representam o intervalos com 95% confiança.

Na Figura 8 são apresentados os resultados da interação irrigação vs posição referente à variável número de vasos. mm^{-2} (NVmm^{-2}) (efeito NVmm^{-2} : $F(1, 92)=4,5453$, $p=0,036$). Como se observar no nível irrigado do fator irrigação, ocorreu um aumento do NVmm^{-2} ao passar do nível leste para oeste do fator posição.

A média, o mínimo, o máximo e o desvio padrão para a variável NVmm^{-2} foram, respectivamente, 154, 34, 467 e 89 $\text{NV}.\text{mm}^{-2}$. Estes valores são classificados, segundo IAWA Committee (1989), como muito numerosos, ou seja, acima de 40 $\text{NV}.\text{mm}^{-2}$ para xilema secundário.

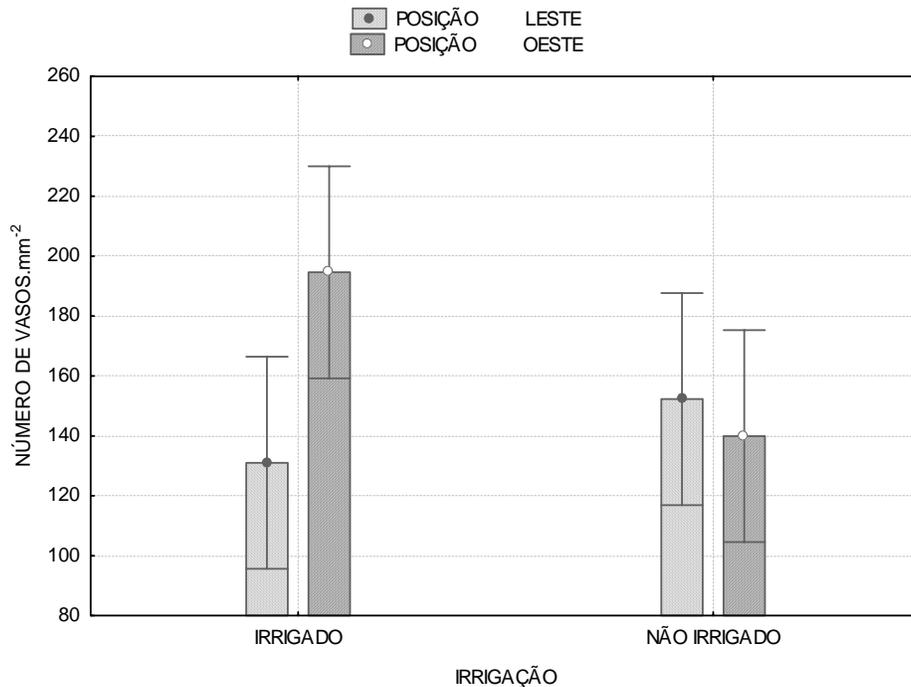


FIGURA 8: Efeito da interação irrigação vs posição para a variável número de vasos.mm⁻². As barras verticais representam o intervalo de 95% de confiança.

Na Figura 9 é apresentada a correlação negativa entre as variáveis NVmm⁻² e diâmetro de vasos (DV), a qual é explicada pela seguinte equação linear: $NVmm^{-2} = 366,56 - 7,94 * DV$ ($p < 0,000$, $r = -0,754$). Interpretando-se a equação, pode-se dizer que a cada micrômetro de aumento no diâmetro dos vasos do xilema do ramo ocorre um decréscimo de 7,94 vasos neste ramo. A média, o mínimo, o máximo e o desvio padrão para a variável diâmetro dos vasos foram, respectivamente, 23, 8, 55 e 7,5.

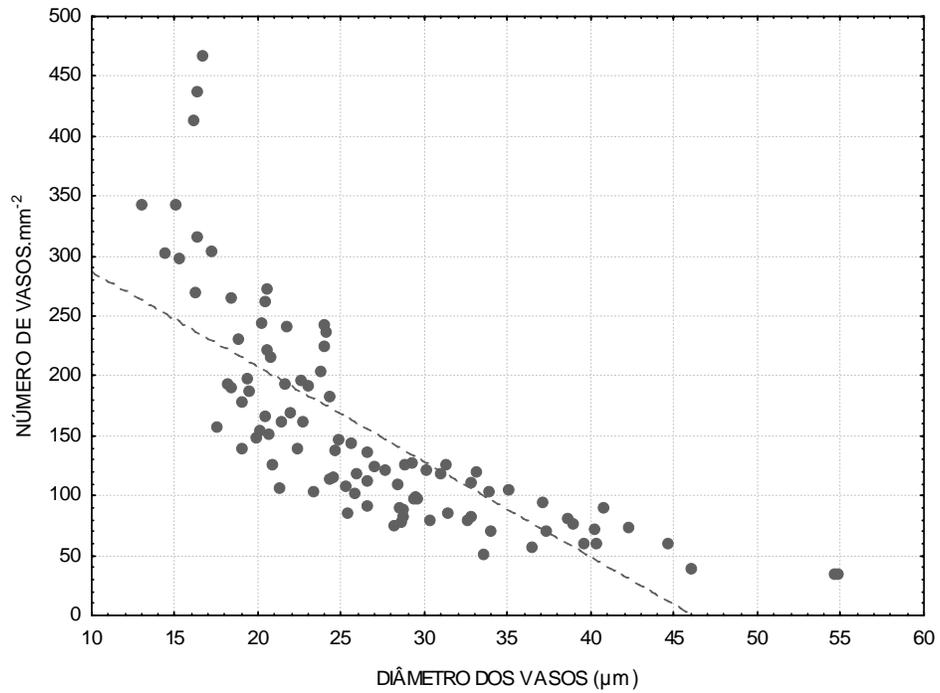


FIGURA 9: Relação entre o número de vasos.mm⁻² e o diâmetro de vasos do xilema de ramos de cafeeiro ($r = -0,754$, $p < 0,000$ pelo teste t de Student, $n = 96$).

4.1.2. Características dos frutos

Nas Figuras 10 e 11 são mostradas imagens de tecidos do cafeeiro, nas quais foram medidos os diâmetros e contados os vasos do xilema.

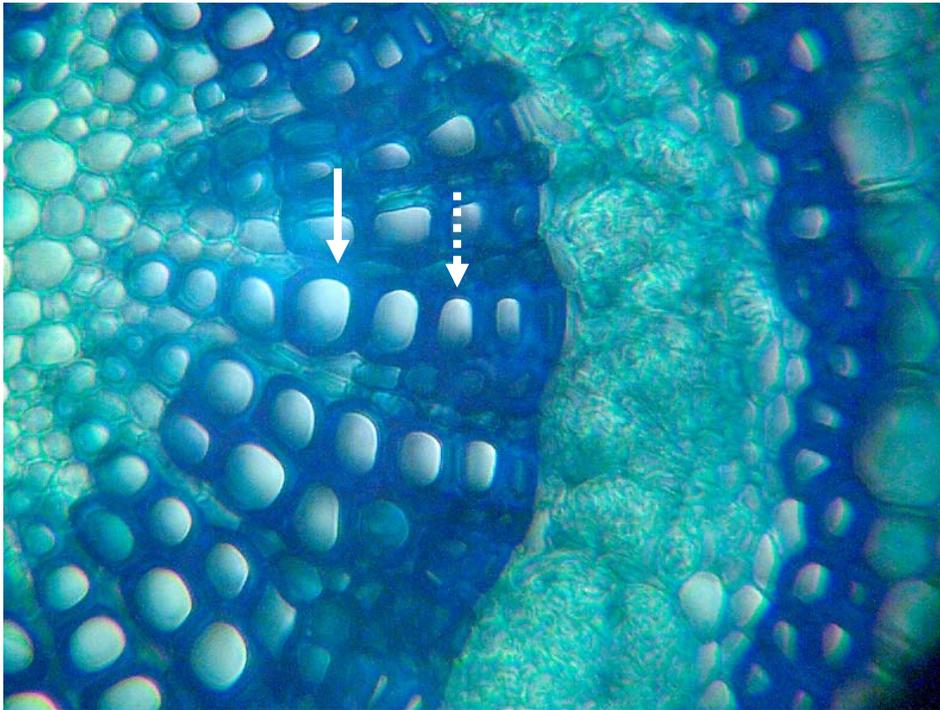


FIGURA 10: Vasos do xilema do pedúnculo de frutos de cafeeiro. A seta branca contínua aponta para um vaso com paredes celulares normais, enquanto que, a seta pontilhada, enfatiza o espessamento da parede celular pela deposição de parede secundária.

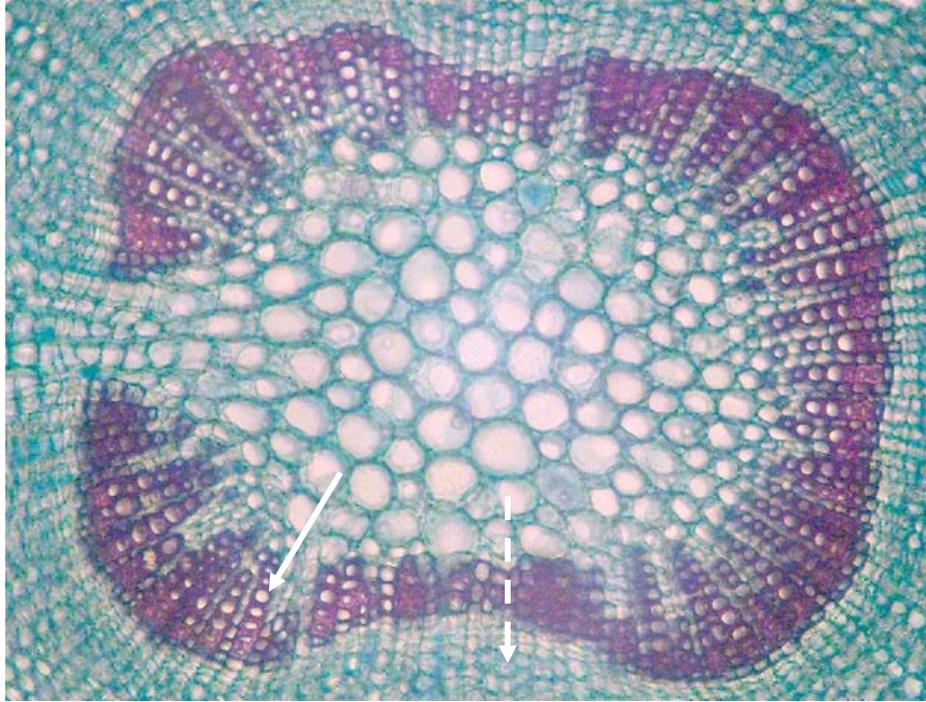


FIGURA 11: Disposição dos vasos do xilema (seta contínua) e de vasos do floema (seta pontilhada) de frutos de cafeeiro, cultivar Topázio.

Os resultados apresentados na Figura 12 mostram que os fatores irrigação e posição na planta não influenciaram no número de frutos (NF) por ramo. Não ocorreu diferença significativa, pelo teste de F, a 5% de probabilidade (efeito NF: $F(1,20)=3,6955$, $p=0,068$) (Tabela 8A do anexo). Como se pode observar, os tratamentos irrigado leste (IL), irrigado oeste (IO), não irrigado leste (NIL) e não irrigado oeste (NIO) apresentaram 18,66, 17,83, 14,83 e 19,83 frutos por ramo, respectivamente.

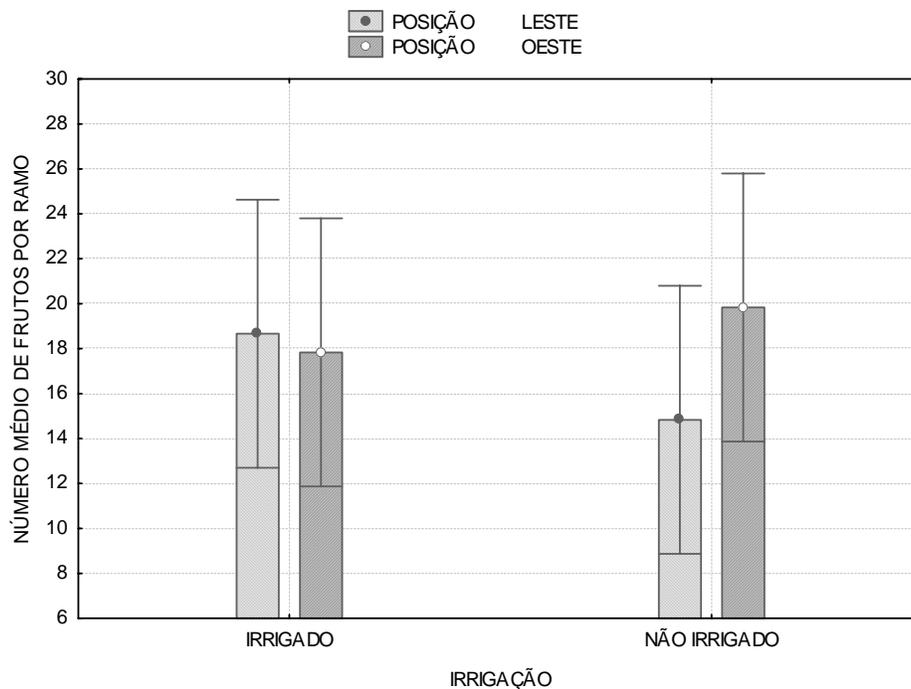


FIGURA 12: Interação irrigação vs posição para a variável número de frutos. As barras verticais representam intervalos de 95% de confiança.

Na Figura 13 é apresentada uma aproximação da distribuição normal do número de frutos (média de 6 repetições) por estágio de maturação nos diversos tratamentos. Pode-se observar, pela linha pontilhada da distribuição normal, que não houve influência da irrigação na maturação dos frutos, no entanto, a posição leste apresentou uma menor variação no grau de maturação. Esta variação pode ser quantificada atribuindo-se um valor para cada estágio de maturação, ou seja, 1 para verde, 2 para verde-cana, 3 para cereja, 4 para passa e 5 para seco e determinando-se uma medida de tendência central (média) e uma medida de variação (desvio padrão). A média daria uma medida do grau de maturação e, quanto maior, mais avançado estaria o estágio maturação dos frutos. O desvio padrão daria uma medida de variação ou uniformidade de maturação e, quanto

menor, mais uniforme estaria a maturação dos frutos. Dessa forma, os tratamentos teriam os seguintes valores:

Irrigado leste (IL): média = 4,02 e desvio padrão = 0,999

Irrigado oeste (IO): média = 3,62 e desvio padrão = 1,293

Não irrigado leste (NIL): média = 3,79 e desvio padrão = 1,13

Não irrigado oeste (NIO): média = 3,66, desvio padrão = 1,197

Os valores mencionados anteriormente permitem inferir que o tratamento IL apresenta maior grau de maturação, seguido pelos tratamentos NIL, NIO e IO e o tratamento IL apresenta maior uniformidade de maturação, seguido pelos tratamentos NIL, IO e NIO.

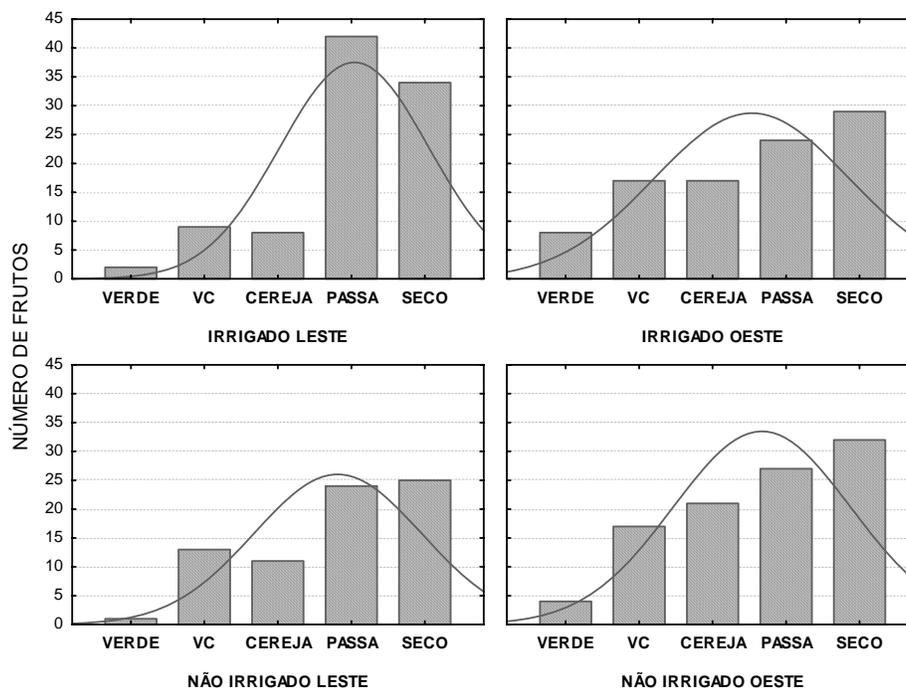


FIGURA 13: Distribuição de freqüência do número de frutos por estágio de maturação, nos diversos tratamentos. VC= estágio verde-cana.

Na Figura 14 são apresentados os dados referentes à variável número de vasos (NV) em função do estágio de maturação e condição de irrigação, a qual

mostra um aumento significativo do NV no pedúnculo dos frutos com o aumento do grau de maturação dos frutos (MF).

As equações exibidas abaixo resultaram da aplicação de um modelo linear em dados de número e diâmetro de vasos do xilema de frutos, coletados no campo, em condições experimentais, sujeitos aos diversos fatores bióticos e abióticos. Estes fatores proporcionam uma grande variação em diversas análises e muitas vezes torna difícil de explicar numericamente esta variação em fenômenos biológicos, pois diminuem o coeficiente de determinação quando se aplica uma regressão. No entanto, devido a grande quantidade de observações (180 para número de vasos e 600 para diâmetro de vasos) isto se torna desprezível. Portanto, será considerada a significância observada na análise de variância (colocada em anexo). Foram colocados as linhas dos modelos e não serão colocados os pontos de observações, devido ao grande número, o que tornaria o gráfico muito poluído.

As equações que explicam o modelo são:

$$\text{NV (Irrigado)} = 23,26 + 0,678 * \text{Estádio de Maturação}$$

$$\text{NV (Não Irrigado)} = 24,53 + 0,214 * \text{Estádio de Maturação}$$

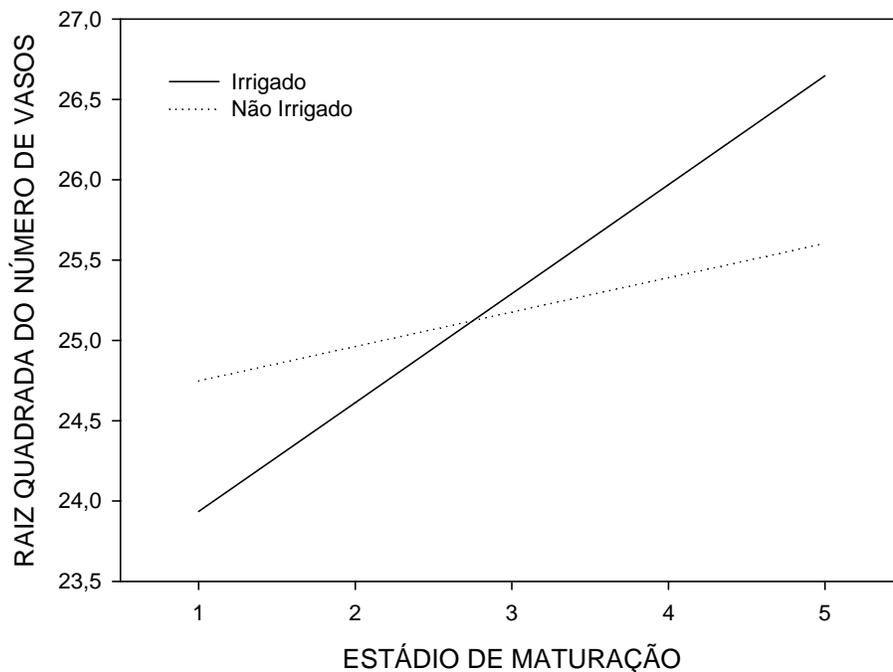


FIGURA 14: Número de vasos do xilema do pedúnculo dos frutos, por estágio de maturação. A representação numérica do eixo das abscissas corresponde aos estádios verde, verde-cana, cereja, passa e seco, respectivamente.

Na Figura 15 são apresentados os resultados referentes à variável diâmetro de vasos no pedúnculo dos frutos. Pode-se observar uma diminuição gradativa no diâmetro dos vasos do xilema com o aumento do grau de maturação dos frutos nos diversos tratamentos. As equações que explicam o modelo são:

$$DV (\text{Irrigado Leste}) = 14,172 - 0,3907 * \text{Estádio de Maturação}$$

$$DV (\text{Irrigado Oeste}) = 12,962 - 0,1274 * \text{Estádio de Maturação}$$

$$DV (\text{Não Irrigado Leste}) = 12,621 - 0,0684 * \text{Estádio de Maturação}$$

$$DV (\text{Não Irrigado Oeste}) = 12,6387 - 0,27 * \text{Estádio de Maturação}$$

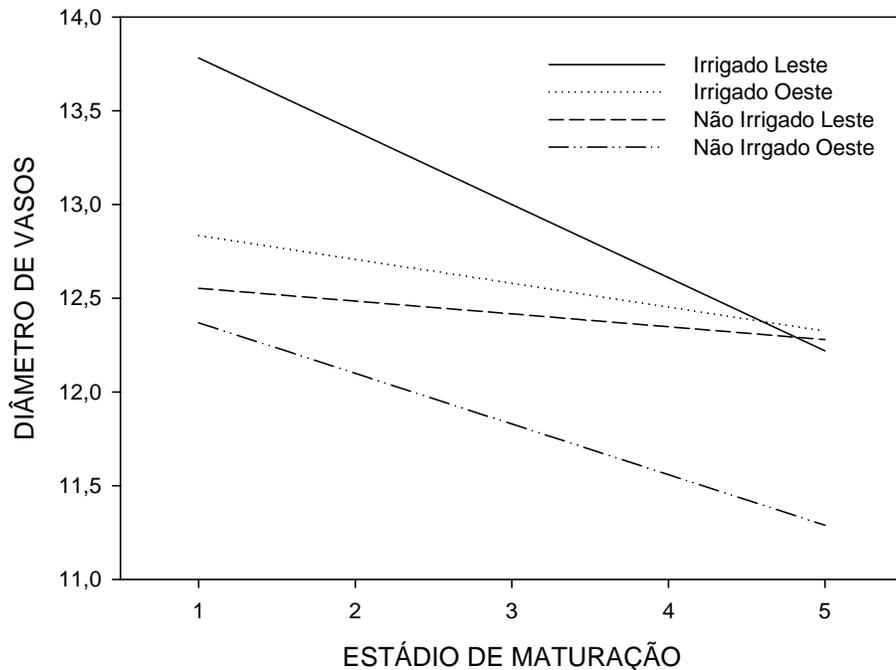


FIGURA 15: Diâmetro de vasos do xilema por estágio de maturação. A representação numérica do eixo das abscissas corresponde aos estádios verde, verde-cana, cereja, passa e seco, respectivamente.

Estes dados mostram que os frutos que estão em estádios mais avançados de maturação apresentam um maior número de vasos e esta característica pode ter sido determinante para que a maturação ocorresse mais rapidamente. Assim, frutos com um maior número de vasos atingem o seu tamanho potencial mais rapidamente, entrando em um processo de maturação mais cedo. O maior número de vasos proporciona maior fluxo hídrico para a expansão celular por ocasião do crescimento dos frutos. Tendo os frutos, chegado ao seu tamanho máximo, conferido geneticamente, entram no processo de amadurecimento. Posteriormente, com o aumento da espessura das paredes celulares que ocorre com o crescimento dos frutos, pode haver interrupção ou diminuição brusca no fluxo hídrico para os frutos, acarretando o seu secamento.

O ramo do cafeeiro, cultivar Topázio, nas condições experimentais, apresentou vasos do xilema numerosos e pequenos (de acordo com a classificação do AIWA Committe, (1989)). Essa condição, de tamanho reduzido de vasos, segundo Tyree & Sperry (1989), pode provocar uma redução da condutividade hidráulica do ramo.

Nesse sentido, Zimmermann & Jeje (1981) afirmam ser possível que vasos de comprimentos curtos, os quais são associados a pequenos diâmetros dos vasos, podem contribuir para reduzir a condutividade hidráulica e, com isso, reduzir o crescimento. A diminuição da condutividade do xilema pode ocorrer devido ao embolismo e, com isso, contribuir para reduzir o fluxo hídrico através do ramo (Schultz & Matthews, 1988). Ao mesmo tempo, pode induzir o fechamento estomático, com o objetivo de evitar o aparecimento de embolismo e limitar a transpiração (Sperry, 1986), diminuindo as taxas de crescimento da planta.

Sabe-se, atualmente, que o movimento da água das raízes para a atmosfera é também controlado pela condutância hidráulica dos ramos pertencentes a essa rota hídrica. Mas, tradicionalmente, a condutância estomática e a condutividade radicular têm sido consideradas as principais características controladoras do fluxo hídrico nas plantas. No entanto, a eficiência do sistema de transporte de água (dos vasos de xilema nas angiospermas) pode também afetar significativamente o movimento da água pela limitação da condutividade imposta (Tyree & Ewers, 1991) e, talvez, pela regulação da distribuição para as folhas de sinais químicos provenientes da raiz (Davies & Zhang, 1991; Davies et al., 1994). A condutividade no xilema é determinada pela estrutura e pelo tamanho dos seus vasos (Schults & Matthews, 1993; Tyree & Ewers, 1991) e pela sua eficiência em conduzir o fluxo, o qual pode ser afetado pela presença de embolismo (Tyrre & Sperry, 1989).

Em trabalhos com cafeeiros utilizando irrigação e avaliando o crescimento dos ramos, foi observado que, apesar de a região Sul de Minas ser considerada climatologicamente livre de déficit hídrico para o cafeeiro, a irrigação proporcionou um crescimento mais acentuado dos ramos plagiotrópicos e, com isso, maior diâmetro de copa, tanto nos sistemas adensados de plantio quanto em sistemas tradicionais (Carvalho et al., 2006).

Segundo Davies et al. (2000), existem consideráveis evidências na literatura de que o crescimento dos ramos e as trocas gasosas na planta podem ser limitados por sinais hidráulicos e químicos, como efeito da seca no solo. Nesse sentido, Lovisolo & Schubert (1998), trabalhando com videiras irrigadas e não irrigadas, verificaram maior crescimento dos ramos nas plantas irrigadas e, juntamente com estes resultados, mediram maior condutividade hidráulica nas plantas irrigadas e maior diâmetro de vasos do xilema nestes ramos. Ainda, a restrição no suprimento de água a partir do solo resulta em déficit hídrico no ramo e essa resposta pode limitar o seu crescimento e o seu funcionamento (Kramer, 1983). Portanto, condições que reduzem o crescimento da planta diminuem a condutividade hidráulica no ramo pela indução do desenvolvimento de vasos do xilema com diâmetro menor (Nijssen et al., 2001). Duas condições causam este comportamento: o sombreamento (Schultz & Matthews, 1993) e o estresse hídrico (Lovisolo & Schubert, 1998), os quais ocorrem no cafeeiro, principalmente o auto-sombreamento e o estresse na época de seca (abril a setembro).

Foi encontrada correlação negativa significativa ($r=-0,754$, $p=0,000$) entre o número de vasos. mm^{-2} e o diâmetro de vasos (Figura 9). Isso indica que quanto maior o número de vasos. mm^{-2} numa determinada área do xilema de um ramo de cafeeiro, menor é o diâmetro médio destes vasos.

Os diâmetros de vasos mais freqüentes medidos em ramos de cafeeiro estavam na faixa de 13 a 27 μm (Figura 15). Estas medidas caracterizam vasos

extremamente pequenos e as medidas de frequência comentadas anteriormente demonstram que são muito numerosos (acima de 40 vasos de xilema.mm²). Plantas com vasos de diâmetros pequenos, mesmo que sejam numerosos, implicam em menor condutividade, quando comparadas a plantas com vasos de diâmetros maiores. Confirmando esta afirmativa, a Lei de Hagen-Poiseuille demonstra que um conduto com 256 vasos com diâmetro de 1 unidade tem a mesma capacidade de fluxo que 1 vaso com diâmetro quatro vezes maior, ou seja de 4 unidades (Rice & McArthur, 2004).

Os resultados para número de vasos na seção transversal do pedúnculo dos frutos indicam tendência de aumento do número de vasos com o aumento do grau de maturação dos frutos, de verde para seco (Figura 14). Sabe-se que características, como o número, diâmetro e comprimento dos vasos do xilema, influenciam na condutividade hidráulica na rota ramo-fruto (Tyerman et al., 2004). Estes resultados indicam que o maior número de vasos poderia ter promovido um crescimento mais acelerado dos frutos (verificado no experimento II deste estudo), fazendo com que estes atingissem o seu crescimento potencial mais cedo e, com isso, possivelmente, iniciassem o processo natural de maturação mais cedo, quando comparados com frutos de menor número de vasos. Ainda, frutos oriundos de floradas diferentes poderiam atingir a maturação em momentos diferentes. Ou seja, frutos oriundos das primeiras floradas poderiam atingir o estágio seco mais cedo que frutos oriundos de floradas posteriores. Neste sentido, é possível afirmar que gemas em estágio mais avançado de desenvolvimento têm o tecido vascular do xilema mais desenvolvido que gemas em início de desenvolvimento, conforme demonstrado por Crisosto et al. (1992), em seu estudo com cafeeiro.

Em frutos ocorre desenvolvimento do xilema secundário, sendo este afetado por fatores ambientais e hormonais. O impacto que o ambiente exerce sobre a atividade cambial reflete na diferenciação das células do xilema

secundário, podendo modificar sua estrutura e suas propriedades (Costa et al., 2004). Os mesmos autores relatam que fatores como seca inundaçãõ, altitude, latitude e constituição do solo podem alterar significativamente a estrutura anatômica do xilema secundário. O período de seca em cafeeiro ocorre de abril a setembro e uma exposição diferenciada à seca poderia levar ao desenvolvimento diferencial do xilema.

Diante do exposto, foram verificadas evidências da contribuição do xilema no desenvolvimento assincronico dos frutos do cafeeiro e que as diferenças na constituição do xilema dos frutos se formam nas primeiras fases do desenvolvimento das gemas do cafeeiro.

Ainda, a diminuição do diâmetro do lúmen dos vasos verificada neste estudo, devido ao processo de formação de parede secundária, pode limitar o fluxo do xilema. Mas, por que os cafeeiros interromperiam ou diminuiriam o fluxo para os frutos? Possivelmente, este aumento de espessura da parede secundária afetaria o secamento dos frutos por ocasião da maturação. Em apoio a esta hipótese, Lang & Düring (1991) relatam que os processos de lignificação dos vasos do xilema dos frutos podem provocar a interrupção ou a redução do fluxo do xilema (Lang & Düring, 1991). Evidências indicam que células do xilema lignificadas de pedúnculos de videira na fase final do crescimento dos frutos interrompem o fluxo pela ruptura da continuidade do xilema (Coombe & McCarthy, 2000). Isso implica que, após o amadurecimento da baga da videira, o crescimento pode ser fisicamente restrito, até que outro aspecto permita que o desenvolvimento continue. Este processo observado em frutos de cafeeiro necessita ser sistematicamente estudado.

Em hipótese, o período de baixa disponibilidade de água que ocorre nos meses de abril a setembro pode induzir embolismo nos vasos do xilema, induzindo os frutos à maturação. Nesse sentido, Tyerman et al. (2004) realizaram medidas diretas da condutividade ao longo do caminho pedúnculo-

baga, em variedades de uva Shiraz e Chardonnay. Estes autores concluíram que, para ambas as variedades, ocorre um progressivo declínio na condutividade entre o 65° e o 95° dia após o florescimento e sugerem que a redução observada na condutância pode ser uma combinação da restrição do xilema e reduzida presença ou atividade de aquaporinas.

Sinais da raiz podem ser enviados para os frutos, influenciando o seu desenvolvimento. Mudanças desenvolvidas na conexão hidráulica e, conseqüentemente, química entre o ramo e o fruto são ainda pouco estudadas (Davies et al., 2000). Recentemente, porém, a arquitetura hidráulica neste local tem sido elucidada e as idéias de sinais transmitidos da raiz para o ramo estão sendo estendidas para uma consideração de mecanismos sinalizando de ramo para fruto (Davies et al., 2000). A capacidade de sinais transmitidos pela raiz restringir o crescimento de frutos, de forma como no resto da planta, pode depender de um número de fatores, como a capacidade deste sinal de penetrar no local de ação nos frutos. Para o desenvolvimento completo do fruto do tomate, é necessário que este receba um grande suprimento de água via floema. Pois, sinais transmitidos via xilema podem chegar ao fruto somente no início do desenvolvimento (mas podem não penetrar) e, então, serem percebidos mais tarde. Isso potencialmente explica o reduzido efeito no tamanho do fruto e produção, relativa às partes vegetativas da planta (Davies et al., 2000). O mesmo autor ainda relata que a seca parcial da raiz tem sido bem sucedida em videira e em tomate porque os frutos dessas plantas podem ser particularmente isolados do xilema do resto da planta. Exemplo disso pode ser o restrito encolhimento ou o inchaço do fruto quando o estado hídrico da planta é manipulado.

São necessários mais estudos no intuito de evidenciar os motivos que afetam o crescimento e a maturação diferencial dos frutos do cafeeiro. Bondada et al. (2005) demonstram que os elementos condutores do xilema, tanto axial quanto periféricos, continuam intactos e aparentemente funcionais durante o

desenvolvimento da baga da uva. No entanto, o consenso é que o xilema pós-maturação não seja funcional. Estes pesquisadores ainda sugerem que, após a completa expansão dos frutos e maturação, a interrupção do fluxo pode ser devido à formação de embolia no xilema. Tyerman e seus colegas de trabalho sugerem que a diminuição do fluxo por ocasião da maturação pode ser resultado de um efeito conjunto do apoplasto (ruptura do xilema) e simplasto (aquaporina/condutividade hidráulica da membrana) (Tyerman et al., 2004).

4.2. Experimento II: Caracterização do sistema vascular de frutos em crescimento

Na Figura 16 são apresentadas às curvas de crescimento dos frutos em função dos dias após o florescimento (DAF), nos dois tipos de frutos (maior e menor). Nos frutos do grupo “maior”, o máximo crescimento (10,5 cm de diâmetro) foi atingido aos 130 DAF enquanto que, nos frutos do grupo “menor” (8,5 cm de diâmetro), aos 127 DAF.

Como esperado, o tamanho “menor” mostrou uma curva com diâmetros de frutos significativamente menores que o tamanho “maior” (anova em anexo) mas, como a antese desses frutos foi no mesmo dia, o que proporcionou este crescimento diferenciado em frutos de mesma infrutescência? A diferença no número de vasos dos seus pedúnculos? A diferença no diâmetro de vasos nos seus pedúnculos? Estas duas variáveis atuando de forma conjunta?

As equações que definem o modelo de crescimento dos diâmetros dos frutos (DF) em função dos DAF estão descritas a seguir:

$$DF \text{ “maior”} = -8,1583 + 0,2865 * DAF - 0,0011 * DAF^2; R^2 = 0,941$$

$$DF \text{ “menor”} = -10,9647 + 0,3057 * DAF - 0,0012 * DAF^2; R^2 = 0,936$$

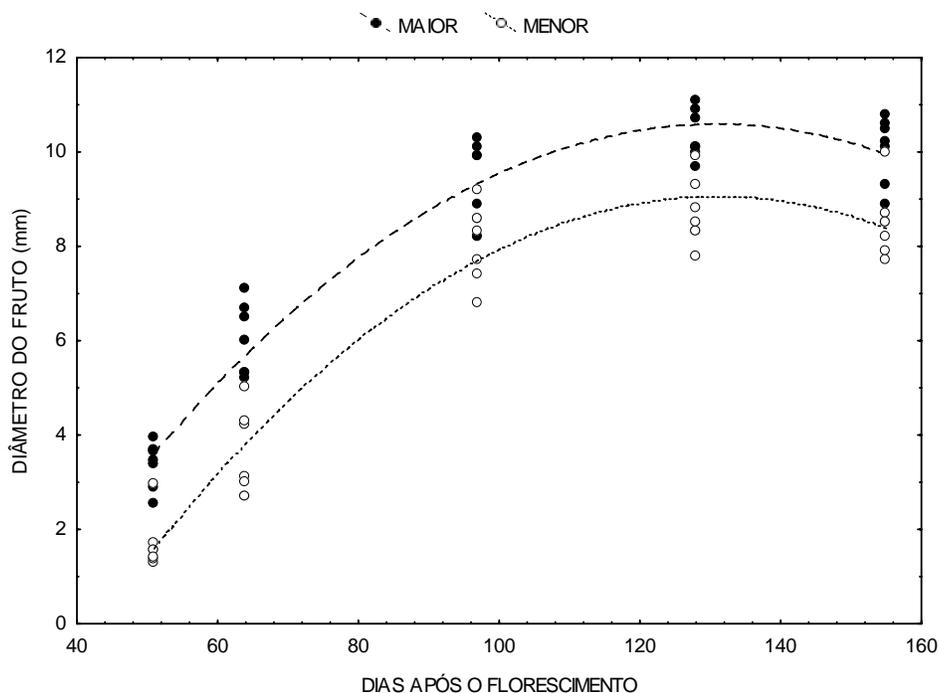


FIGURA 16: Crescimento em diâmetro dos frutos de café, dias após o florescimento (DAF).

Na Figura 17 são apresentados os resultados para a variável número de vasos de xilema na seção transversal do pedúnculo dos frutos, por tamanho e DAF. Observa-se que, para ambos os tamanhos (maior e menor), houve um aumento progressivo no número de vasos no pedúnculo destes frutos, à medida que estes foram se expandindo. As equações que expressam este comportamento são mostradas a seguir:

$$NV \text{ "maior"} = -11,7831 + 2,69 * DAF; R^2 = 0,78.$$

$$NV \text{ "menor"} = -29,472 + 2,36 * DAF; R^2 = 0,68.$$

Observa-se que o número de vasos aumenta com o tamanho dos frutos e, para os frutos “menor”, atinge o ponto máximo aos 160 DAF, com 310 vasos no seu pedúnculo. Os frutos “maior” aos 160 dias, apresentam 419 vasos no pedúnculo. Esta quantidade de vasos, sem dúvida, permite melhor condição de

aporte hídrico para os frutos “maior”, na mesma infrutescência, quando comparados aos frutos “menor”. Os frutos “maior” apresentaram maior número de vasos que os frutos “menor”, durante todo o período de análise.

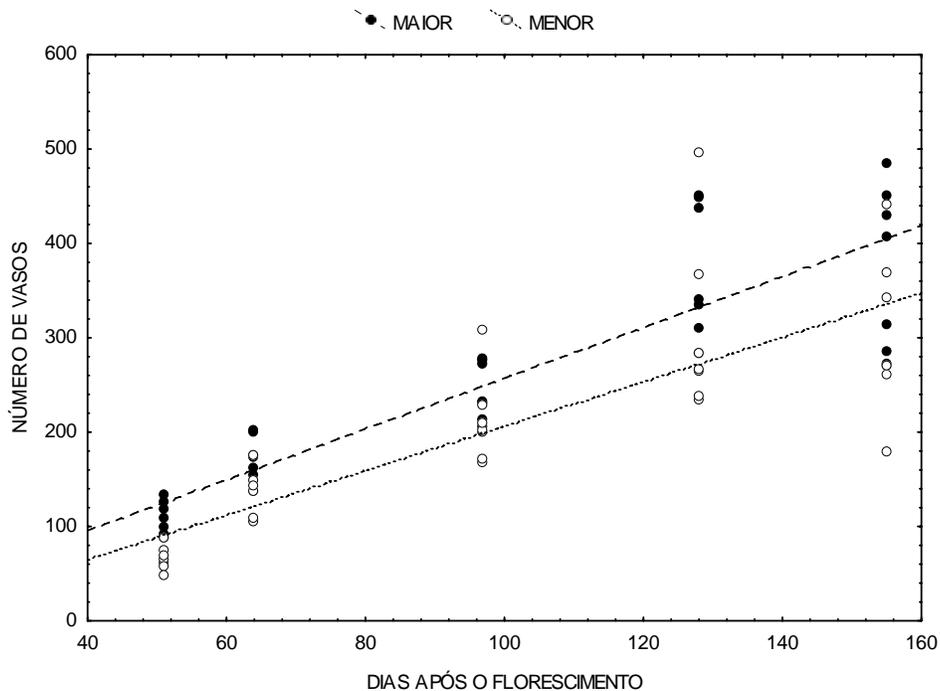


FIGURA 17: Número de vasos do xilema na seção transversal do pedúnculo dos frutos de café, dias após o florescimento.

Na Figura 18 são apresentados os resultados para a variável diâmetro de vasos do pedúnculo dos frutos (DV), em função dos DAF, os quais estão representados pelas seguintes equações de regressão:

$$DV \text{ “maior”} = -2,4995 + 0,2357 * DAF - 0,001x DAF^2; R^2=0,803$$

$$DV \text{ “menor”} = -3,6172 + 0,2445 * DAF - 0,001 x DAF^2; R^2=0,745$$

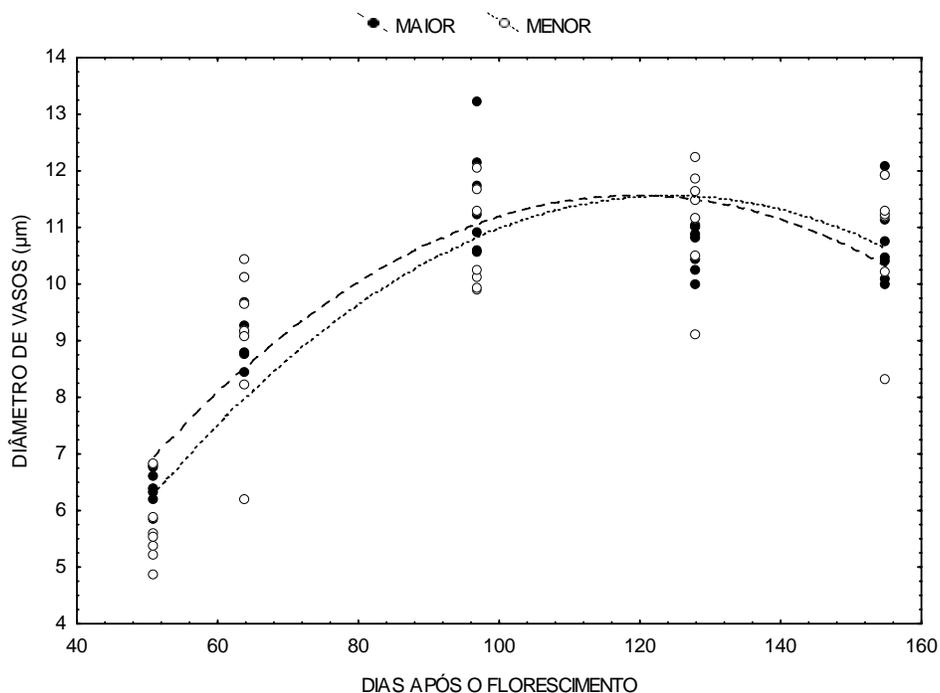


FIGURA 18: Diâmetro de vasos do xilema da seção transversal do pedúnculo dos frutos, dias após o florescimento.

Os frutos de tamanho “maior” na infrutescência atingem o máximo de diâmetro aos 117,8 DAF, enquanto os frutos “menor” atingem o máximo de diâmetro aos 122,2 DAF (Figura 16). Após atingirem o pico, observa-se uma tendência à diminuição no diâmetro dos vasos nos dois tamanhos de frutos. Esta diminuição no diâmetro pode provocar uma restrição no aporte de água aos frutos.

Na Figura 19 observa-se que foi encontrada correlação positiva ($r=0,82$) entre o diâmetro dos frutos e o diâmetro de vasos (DV), de acordo com a seguinte equação linear abaixo:

$$DF = -4,2849 + 1,1767 * \text{diâmetro de vasos}$$

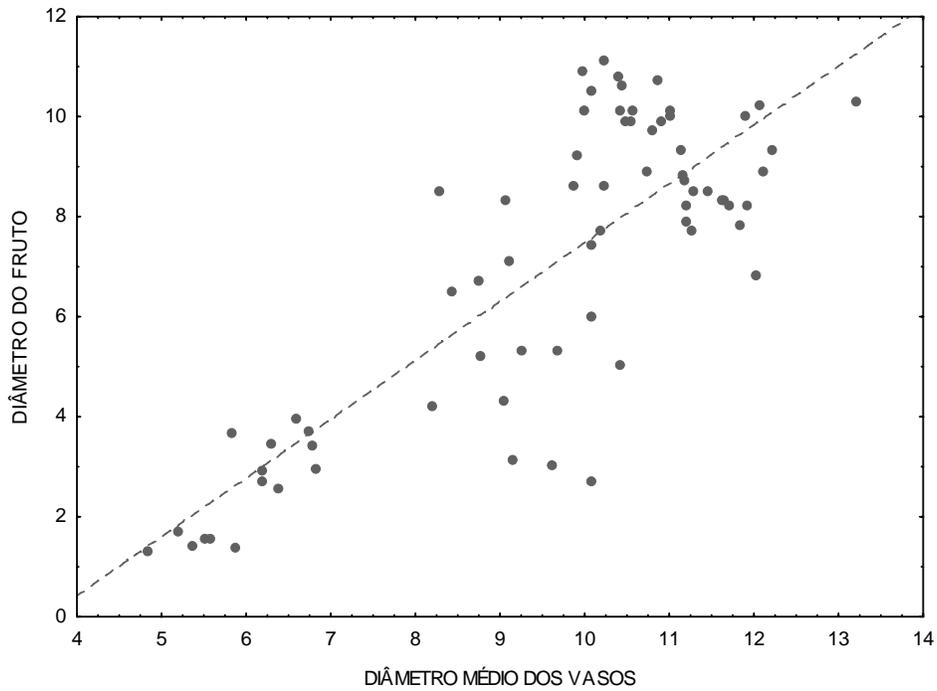


FIGURA 19: Correlação entre o diâmetro do fruto (mm) e o diâmetro de vasos (μm) do pedúnculo dos frutos de cafeeiro ($r= 0,82$, $p<0,000$ pelo teste t de Student, $n=70$).

Da mesma forma, foi encontrada correlação positiva ($r=0,84$) entre o diâmetro do fruto e o número de vasos do xilema do pedúnculo dos frutos, de acordo com a equação linear abaixo:

$$DF = 1,9805 + 0,0218 * \text{número de vasos}$$

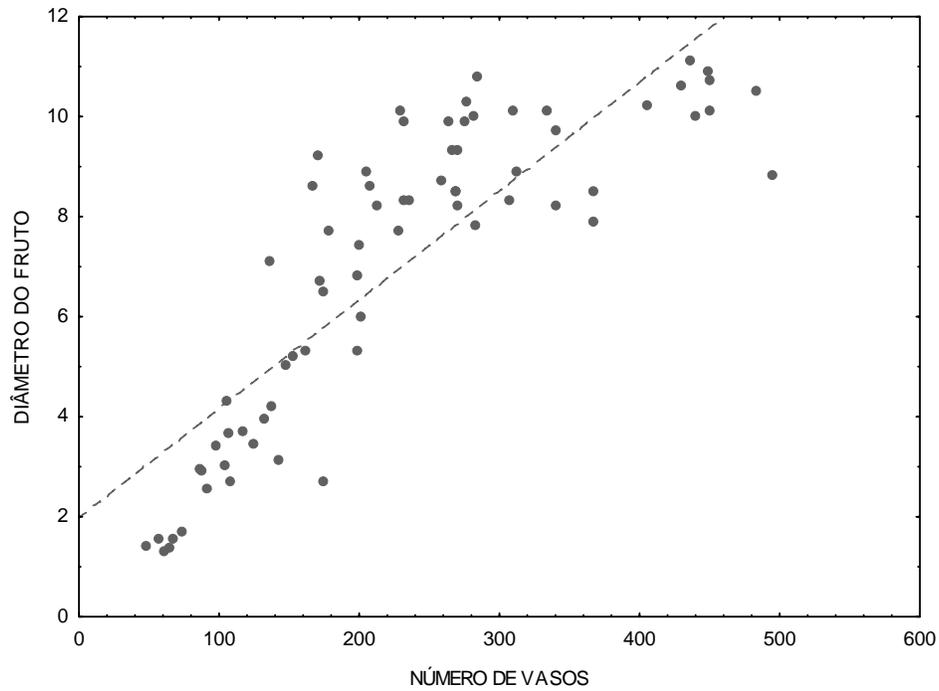


FIGURA 20: Correlação entre diâmetro de vasos da seção transversal do pedúnculo dos frutos (μm) e diâmetro de frutos (mm) cafeeiro ($r= 0,84$, $p<0,000$ pelo teste t de Student, $n=70$).

Na Figura 21 é mostrada a correlação entre número de vasos e o diâmetro dos vasos da seção transversal do pedúnculo dos frutos do cafeeiro. Esta correlação é positiva e explicada pela seguinte equação:

$$\text{Número de vasos} = -144 + 39,02 * \text{diâmetro do vaso}, r=0,70.$$

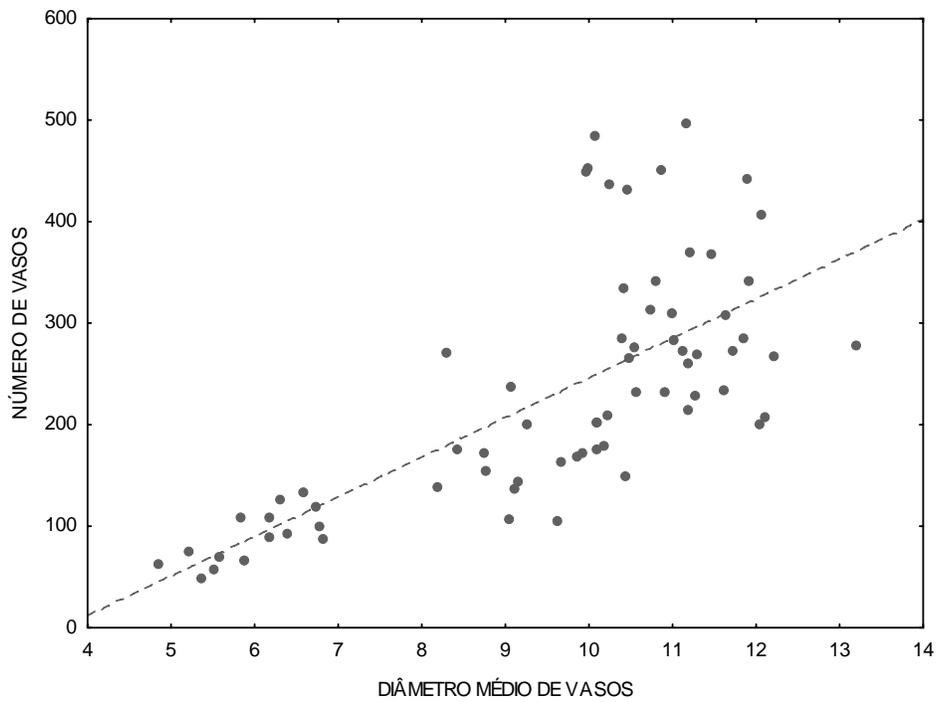


FIGURA 21: Correlação entre número de vasos e o diâmetro dos vasos (μm) da seção transversal do pedúnculo dos frutos ($r= 0,70$, $p<0,000$ pelo teste t de Student, $n=70$).

Resultados distintos foram encontrados para número e diâmetro de vasos durante o crescimento dos frutos de cafeeiro. Para ambos os tamanhos de frutos foram verificados aumento progressivo do número de vasos, mas o mesmo não aconteceu com o diâmetro, o qual estabilizou o aumento durante o crescimento dos frutos. O crescimento dos frutos e da planta como um todo se dá por divisão e alongamento celular e a água está diretamente envolvida nesses dois processos. Rogiers et al. (2001) relatam que a água necessária ao alongamento e a transpiração da maioria dos órgãos entra geralmente pelo xilema. No entanto, em frutos carnosos, xilema e floema participam do transporte de água e alternam sua participação dependendo do estágio de desenvolvimento do fruto. Em alguns frutos jovens, o floema é a fonte dominante e em outros frutos, tais como

tomate, maçã, kiwi e uva, há uma clara redução na proporção de água que entra no fruto pelo xilema quando o fruto amadurece (Rogiers et al., 2001).

As correlações positivas encontradas (Figuras 19 e 20) entre o diâmetro de vasos e o diâmetro de frutos e entre o número de vasos e o diâmetro dos frutos evidenciam a importância dessas duas características do xilema para o crescimento dos frutos do cafeeiro.

Possivelmente, as diferenças no sistema vascular do xilema já ocorrem em estádios de desenvolvimento anteriores à primeira época utilizada neste trabalho, tornando importante o estudo dos fatores não genéticos, que influenciam efetivamente no número e diâmetro de vasos do xilema, no intuito de melhorar o crescimento desses frutos. Crisosto et al. (1992) demonstraram distinta diferença nos tecidos do xilema nos estádios 3 e 4 das gemas do cafeeiro. Neste caso, se não ocorrer uniformização do número e tamanho dos vasos do xilema, isso pode refletir no tamanho dos frutos e também na uniformidade de maturação.

Esta diferença no número e no diâmetro dos vasos de xilema no pedúnculo dos frutos de cafeeiro certamente influencia o fluxo na rota que leva ao fruto. A resistência hidráulica no xilema aumenta fortemente, dependendo do número e raio dos vasos do xilema ao longo da rota de transporte (Nobel, 1983). De acordo com a Lei de Hagen-Poiseuille, a resistência hidráulica de um vaso individual é inversamente proporcional ao raio deste na quarta potência (Zwieniecki et al., 2004). Importante salientar que o diâmetro dos vasos, o comprimento finito dos vasos e o transporte concomitante de um vaso para o outro pode também influenciar fortemente a resistência hidráulica (Nijssen et al., 2001). Então, regiões com pequenos vasos aumentam significativamente a resistência hidráulica no xilema.

Um déficit hídrico é prejudicial durante o crescimento dos frutos (Rena & Maestri, 2000). Alguns autores afirmam que o estresse hídrico durante o

crescimento pode provocar aumento na resistência hidráulica do xilema pela indução do desenvolvimento de vasos do xilema com um diâmetro menor. De fato, em caules de milho (Abd EL-Rahim et al., 1998) e videira (Lovisoló & Schubert, 1998), a baixa disponibilidade de água na raiz resulta em elementos de xilema de menor diâmetro.

Outros fatores podem influenciar na condutividade na rota solo-fruto. A redução da condutividade pode ser causada pela cavitação no xilema (Tyree & Sperry, 1989) ou uma redução no número ou tamanho dos vasos (Tyree & Ewers, 1991). Zimmermann & Jeje (1981) afirmam ser possível que vasos de pequeno comprimento, os quais são associados a pequeno diâmetro, podem contribuir para reduzir a condutividade. Além disso, o diâmetro de vaso e a condutividade hidráulica podem ser afetados pela baixa disponibilidade de luz e pelo estresse hídrico (Schultz & Matthews, 1993).

Fatores hormonais podem influenciar no desenvolvimento do xilema em plantas. Altas concentrações de etileno inibem o desenvolvimento do xilema, mas auxina é crucial para diferenciação precoce do xilema (Sugiyama & Komamine, 1990) e isso possivelmente ocorreu devido à inibição do etileno pelo transporte polar de auxina (Beyer & Morgan, 1971).

Estudos relatam que maior produtividade de uma cultura, bem como frutos de maiores tamanhos, pode ser alcançada com a manipulação da relação fonte-dreno, tornando importante o estudo dos aspectos bioquímicos associados aos eventos reprodutivos do cafeeiro.

4.3. Experimento III: Aspectos bioquímicos associados a eventos reprodutivos do cafeeiro

O metabolismo dos carboidratos em cafeeiro foi estudado determinando-se o teor de carboidratos e a atividade enzimática degradante destes, em folhas, ramos, gemas e frutos de cafeeiro. Os resultados para gema e fruto serão apresentados nos mesmos gráficos, sendo que a última época (dia 321) refere-se a fruto e as anteriores às gemas. Serão abordados, inicialmente, os resultados de teor de carboidratos e, posteriormente, os de atividade enzimática. As coletas para análises dos carboidratos e enzimas foram realizadas nas datas correspondentes aos dias julianos a seguir: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04). Os dados estão exibidos com os modelos de regressão ou com as médias, quando significativos ou não, respectivamente.

4.3.1. Metabolismo de carboidratos em folhas, ramos, gemas e frutos de café arábica: análise do conteúdo nos tecidos

Na Figura 22 são apresentados os resultados de teor de amido em folhas, ramos e gemas em diferentes épocas durante o período reprodutivo do cafeeiro. A análise de variância para estes dados encontra-se na Tabela 17A dos anexos. Pode-se observar, a partir do dia 200 (18/07/04), um declínio nos teores de amido nas folhas e, posteriormente, nas gemas, enquanto que no ramo o conteúdo permanece constante. Esta diminuição do amido nas folhas deve-se, possivelmente, à transformação do amido em açúcares solúveis para serem transportados às gemas e servirem de energia e esqueletos carbônicos para crescimento destes órgãos. O conteúdo de amido na folha foi maior que no ramo até aproximadamente o dia 230, quando começou a diminuir e depois se tornar menor. O conteúdo de amido na gema estava alto no dia 233 (20/08/04) e posteriormente diminuiu progressivamente, até que no fruto atingiu $2,5\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. O

conteúdo de amido nos ramos não apresentou muita variação nas épocas analisadas, indicando que a mobilização deste carboidrato não ocorre no período reprodutivo.

As equações dos modelos que melhor se ajustam aos dados de amido (anovas em anexo) são as seguintes:

Amido na folha= $0,4025+0,2612X-0,00074X^2$, $R^2=0,8456$, $Pr(>F)=0,000$

Amido na gema= $169,7-1,008X+0,001518X^2$, $R^2=0,9039$, $Pr(>F)=0,000$

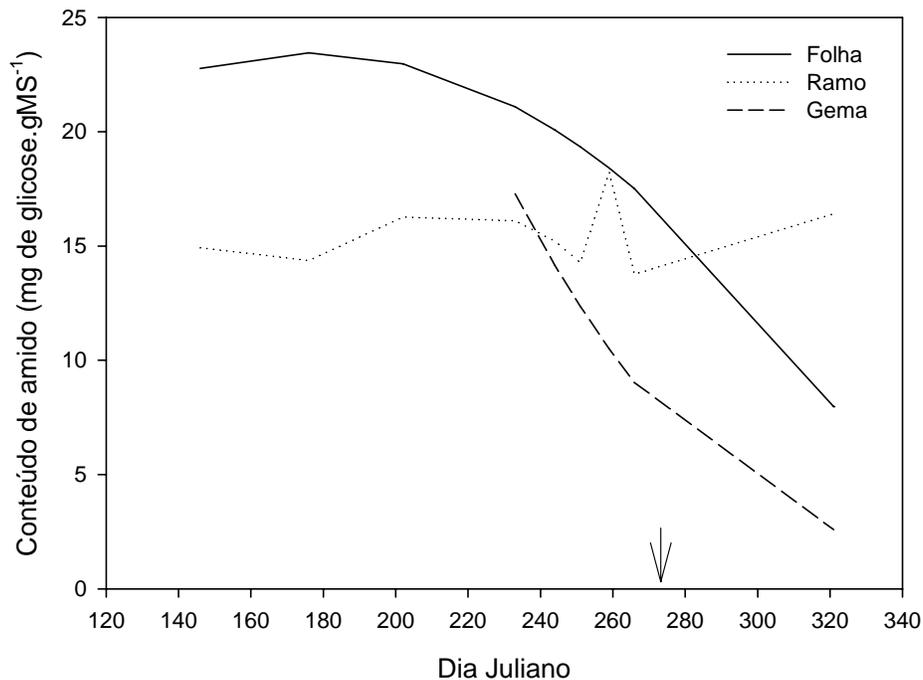


FIGURA 22: Conteúdo de amido em folhas ramos e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Os resultados encontrados neste trabalho confirmam a afirmação de Barros & Maestri (1974), os quais relatam que, para o desenvolvimento das gemas florais, é importante a atividade metabólica da planta no inverno (Barros & Maestri, 1974). Ainda, Melotto (1987) afirma que a principal fonte de carboidratos para os botões florais é oriunda do processo fotossintético e não das reservas contidas nos ramos, o que, segundo Rena et al. (1996), sugere elevado grau de dependência do estado nutricional da planta e da relação funcional entre folha e fruto.

A partir dos resultados anteriormente apresentados, verificou-se que o amido no ramo não foi consumido durante o crescimento das gemas florais (Figura 22) o que mostra, para o cafeeiro, uma baixa capacidade de mobilização dos carboidratos armazenados no ramo. Talvez este motivo contribua para que a poda em cafeeiro não apresente resultados semelhantes às espécies de clima temperado, como a macieira, em resposta a este manejo.

O conteúdo de amido diminuiu, nas gemas e nas folhas, nas épocas em que ocorria a expansão celular das gemas (do dia 233 ao 266), possivelmente para um fornecimento de reservas carbônicas necessárias para o crescimento deste tecido neste período.

Em resumo, a fotossíntese é importante durante o desenvolvimento das gemas e o amido acumulado na folha (e não no ramo) durante o inverno pode ser mobilizado e utilizado nos períodos de maior crescimento. O amido, não sendo mobilizado do ramo para os órgãos em crescimento (gemas e frutos), torna a poda uma prática pouco usada em cafeeiro. Isso difere de plantas frutíferas de clima temperado, as quais exibem altas taxas de mobilização de reservas e a prática da poda é indispensável.

A degradação do amido na folha pode ter duas funções: a primeira é a formação de sacarose para exportar aos órgãos dreno e a segunda é o consumo de açúcares pela própria folha na respiração. A degradação de amido na gema,

provavelmente, é para utilizar na respiração ou para ser usada na síntese de parede celular durante o crescimento deste órgão.

O amido é tido como a mais difundida reserva de carbono armazenada em plantas, enquanto a sacarose exerce papel central no crescimento e no desenvolvimento das plantas, como uma forma primária de transporte de carbono e energia na maioria das espécies vegetais e também como um regulador da expressão de genes.

Na Figura 23 são apresentados os resultados dos conteúdos de açúcares solúveis totais (AST) em folhas, ramos e gemas de cafeeiro. Observou-se, nas folhas um aumento progressivo dos AST, indicando um aumento da atividade metabólica nas folhas, principalmente no dia 321, época em que os frutos encontravam-se no estágio de chumbinho, exigindo um bom aporte de assimilados provenientes das folhas. Este aumento dos AST pode ter sido proporcionado pela degradação do amido existente nas folhas. Nos ramos foi observado um aumento dos AST do dia 146 ao dia 176 e posteriormente ocorreu uma diminuição destes AST em épocas que as gemas estão iniciando o seu crescimento, no período de 220 até 250 dias. Nas gemas foi observado um aumento dos AST por ocasião do seu crescimento. No período de 240 a 266 dias foi observado um grande aumento, indicando uma intensa atividade metabólica nas gemas, plenamente explicado, pois nesta fase inicia o entumescimento das gemas e culmina com o surto principal de florescimento, aos 272 dias (28 de setembro). De maneira geral, os AST apresentaram valores menores no ramo, quando comparados com folhas e gemas (anova em anexo). O aumento dos AST na gema pode ser de carbono vindo das folhas ou da degradação do amido das próprias gemas, já que não se observou a degradação do amido nos ramos.

Os modelos que melhor se ajustam aos dados são os seguintes:

$$\text{AST na folha} = -2,52 + 0,0595X, R^2=0,4736, \text{Pr}(>F)=0,041.$$

$$\text{AST no ramo} = 34,00 - 0,259X - 0,00056X^2, R^2=0,5403, \text{Pr}(>F)=0,020.$$

AST na gema = $1,18E^4 - 1,334E^2X + 4,986E^{-1}X^2 - 6,146E^{-4}X^3$, $R^2=0,8521$,
 $Pr(>F)=0,000$.

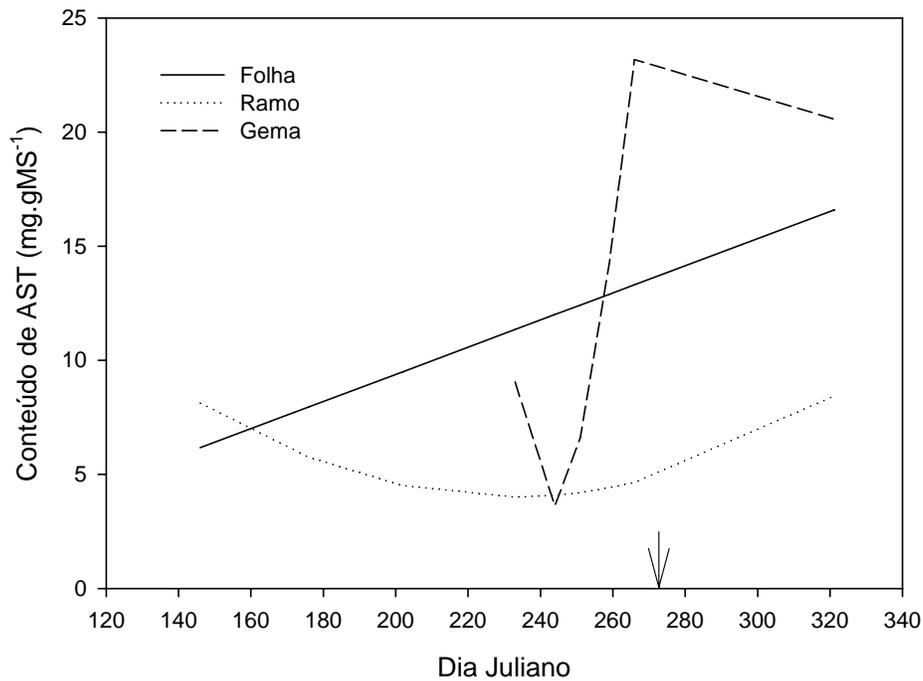


FIGURA 23: Conteúdo de açúcares solúveis totais em folhas, ramos e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Na Figura 24 é apresentado o conteúdo de frutose nas folhas, ramos e gemas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Nas folhas e nos ramos o conteúdo de frutose se manteve abaixo de 2 mg.gMS^{-1} durante todo o período analisado, provavelmente mantendo somente o conteúdo usado na respiração. Já nas gemas, o conteúdo foi muito baixo do início do entumescimento (233 dias = 20/08/04) até início do abotoamento das gemas (dia 266 = 22/09/04, ver Figura 1), e após aumentou o conteúdo de frutose para 13

mg.gMS⁻¹, indicando uma alta atividade metabólica, sendo que 7 dias depois ocorre o principal surto de florescimento.

Os modelos que melhor se ajustam aos dados são os seguintes:

Frutose no ramo = $-24,77 + 3,843E^{-1}X - 1,858E^{-3}X^2 + 2,874E^{-6}X^3$,
 $R^2 = 0,9934$, $Pr(>F) = 0,019$.

Frutose na gema = $-2,087E^5 + 3,2E^3X - 1,833E^1X^2 + 4,644E^{-2}X^3$, $R^2 = 0,7487$,
 $Pr(>F) = 0,000$.

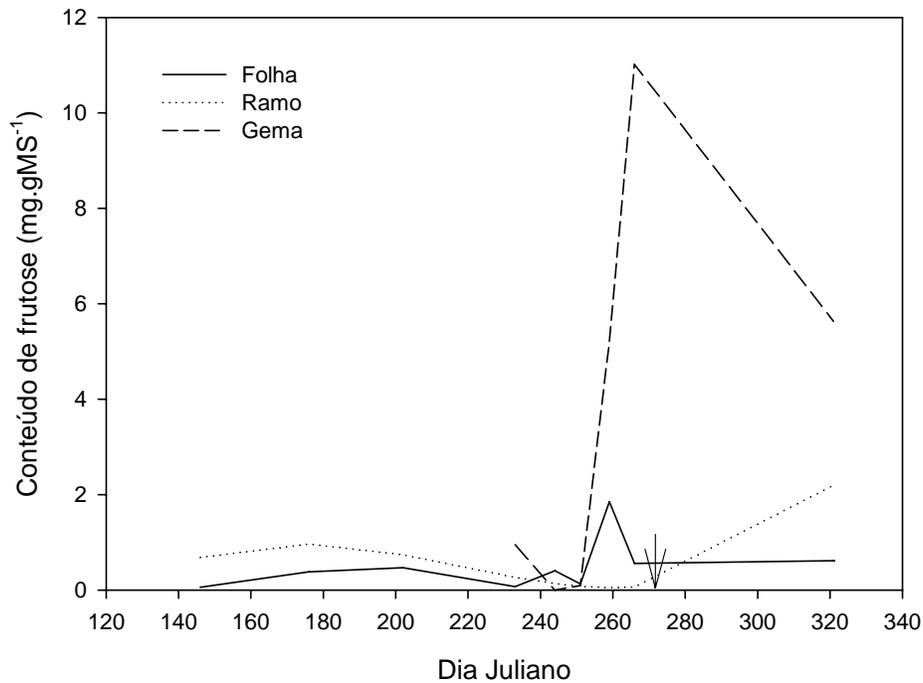


FIGURA 24: Conteúdo de frutose nas folhas em folhas, ramos e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Na Figura 25, apresenta-se o conteúdo de glicose em folhas, ramos e gemas do cafeeiro. Nos ramos o conteúdo de frutose manteve-se baixo durante todo o período analisado. Nas folhas, o conteúdo manteve-se em torno de 4

mg.gMS⁻¹, com pico no dia 266, anterior a antese. Nas gemas, o conteúdo de glicose apresentou um pico no dia 266 e manteve-se até o dia 321. Importante salientar os dois picos, de frutose e de glicose que ocorreram 7 dias antes do florescimento. Este aumento significativo da glicose durante o período de desenvolvimento visível das gemas (dias 233 a 266), é muito importante na síntese de parede celular e na formação das cadeias de celulose para a expansão celular e o crescimento da gema. Os modelos que melhor se ajustam aos dados são os seguintes: Glicose na folha e no ramo não foi significativo. Glicose na gema= $3873-43,82X+0,164X^2-2,022E^{-4}X^3$, $R^2=0,9047$, $Pr(>F)=0,000$.

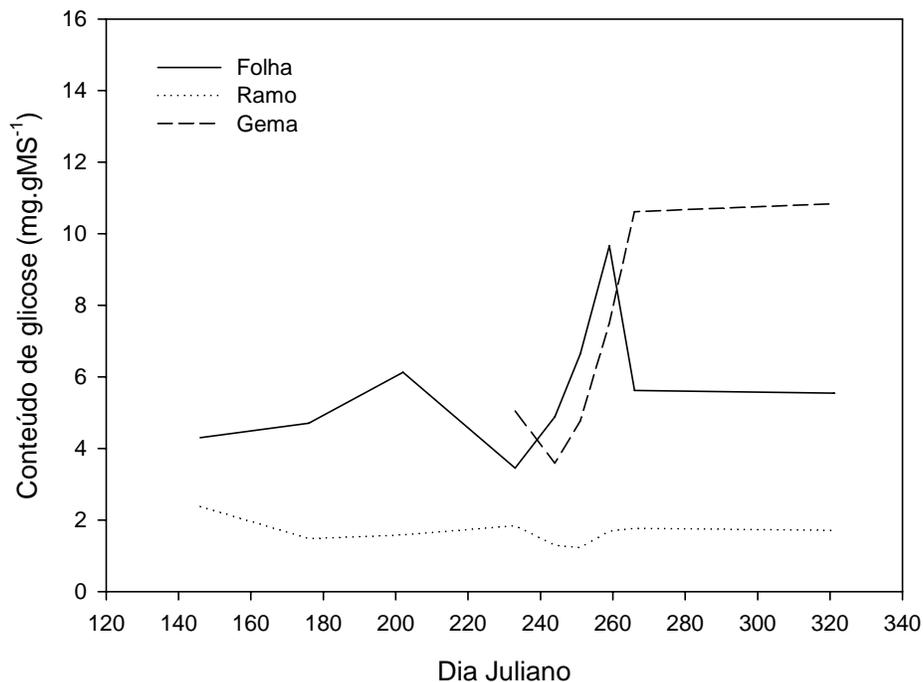


FIGURA 25: Conteúdo de glicose em folhas, ramos e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Na Figura 26 é mostrado o conteúdo de sacarose em folhas, ramos e gemas, durante o período reprodutivo do cafeeiro. Observou-se no ramo e na folha um pico de sacarose por volta do dia 276, época em que o dreno das gemas ainda é muito fraco, pois as mesmas encontram-se em estágio dormente. Ainda no ramo, pode-se observar que a sacarose foi geralmente baixa, mas, em termos relativos, percebe-se a grande contribuição deste carboidrato na constituição dos AST. Nas gemas, a sacarose esteve sempre baixa, o que mostra que os principais açúcares acumulados neste tecido dreno são hexoses, facilmente explicável devido à necessidade de manter um gradiente de sacarose favorável às gemas e também a quebra de sacarose para impulsionar o crescimento das gemas.

Os modelos que melhor se ajustam aos dados são os seguintes:

Sacarose na folha= $-4,99+0,044X$, $R^2=0,4467$, $\Pr(>F)=0,031$.

Sacarose no ramo= $-85,65+1,3X-0,006029X^2+8,937E^{-6}X^3$, $R^2=0,8056$,
 $\Pr(>F)=0,017$.

Sacarose na gema = $80,48-0,5838X+0,0011X^2$, $R^2=0,6940$,
 $\Pr(>F)=0,000$.

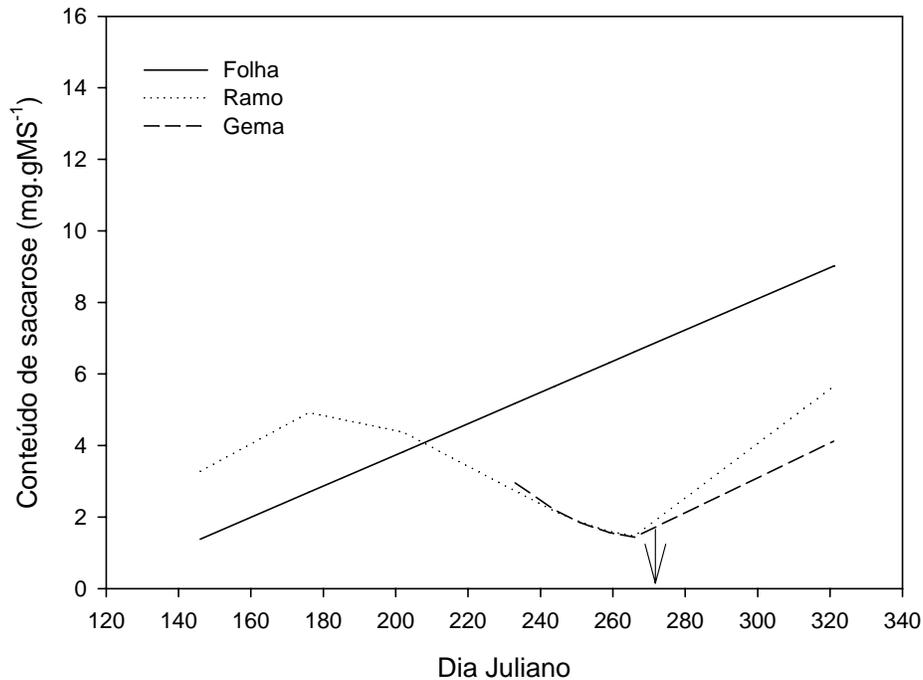


FIGURA 26: Conteúdo de sacarose em folhas, ramos e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Na Figura 27 é mostrada a relação sacarose/(glicose+frutose) (S/G+F) nos diversos tecidos, durante o período reprodutivo do cafeeiro. Uma relação S/G+F de 2 indica que o conteúdo de sacarose é o dobro que a soma de glicose e frutose. Na folha, esta relação foi maior do que 1 somente no dia 270, dois dias antes do florescimento, conforme mostrado pelo modelo na figura 27. No ramo, a relação fica próxima de 2 nas três primeiras épocas, caracterizadas pela dormência das gemas por ser um período de baixa disponibilidade hídrica. A relação S/G+F diminuiu até o dia 251 (07/09/04) e tornou a aumentar a partir deste dia, até o dia 321, no fruto ficar novamente próxima de 2.

Nas gemas a relação S/G+F foi sempre menor que 0,7, durante a fase 2, ou seja, o período compreendido entre o dia 233 e o dia 266. Nesta fase as gemas estão em pleno desenvolvimento, crescendo rapidamente, sendo necessário que se mantenha uma relação baixa, até que ocorra o florescimento, no dia 272. Os modelos que melhor se ajustam aos dados são os seguintes:

$$S/G+F \text{ na folha} = 2,412 - 0,0216X + 6,02E^{-5}X^2, R^2=0,7758, Pr(>F)=0,094.$$

$$S/G+F \text{ no ramo} = -0,3067 + 0,4646X - 0,00213X^2 + 3,116E^{-6}X^3, R^2=0,7943, Pr(>F)=0,005.$$

$$S/G+F \text{ na gema} = 16,27 - 0,1125X + 0,000195X^2, R^2=0,7467, Pr(>F)=0,000.$$

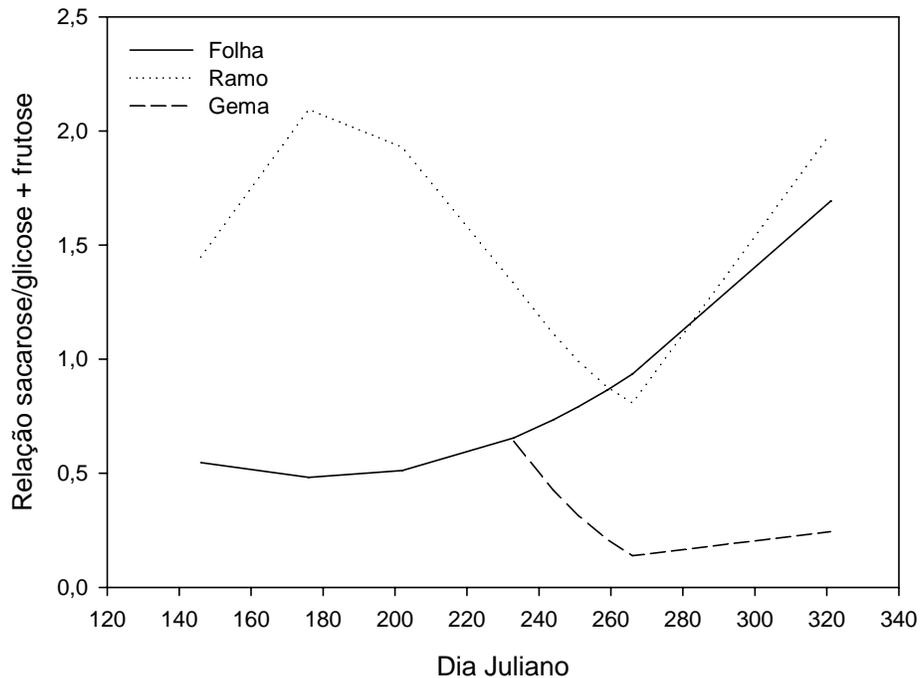


FIGURA 27: Relação entre sacarose e glicose+frutose, nas estruturas folha, ramo e gema, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

A maior relação S/G+F nos ramos indica que este tecido é importante no transporte de carboidratos da fonte (folhas) aos drenos (gemas), durante o desenvolvimento reprodutivo. Também é possível observar (Figura 26) a ocorrência, a partir de 31/08, do estabelecimento de um gradiente de sacarose, com maior conteúdo na folha, depois no ramo e, por último, na gema, possivelmente devido ao transporte deste carboidrato para o dreno (gema). Pode-se perceber também o aumento do teor de glicose+frutose na gema nestas épocas, possivelmente resultado da degradação da sacarose.

Ward et al. (1998) relatam que os carboidratos solúveis (frutose, glicose e sacarose) têm importância na regulação osmótica e no transporte. Ainda, as propriedades físico-químicas da sacarose, incluindo a sua baixa viscosidade em soluções concentradas e a sua estabilidade química, na condição de um dissacarídeo não redutor, são propriedades chaves que fazem desse açúcar um composto ideal para o transporte a longa distância (Ward et al., 1998).

O alto teor de AST encontrado na gema (Figura 23, dia 266 = 22/09/04) e no fruto (dia 321 = 16/11/04) deve-se ao teor de glicose+frutose, enquanto que, na folha, deve-se à sacarose, indicando um alto metabolismo respiratório na gema e no fruto e alta síntese de sacarose na folha para suprir de carboidratos as gemas. De acordo com a hipótese de que as hexoses favorecem a divisão e a expansão celular, enzimas do metabolismo dos carboidratos, como as invertases, servem de indicador para iniciação e expansão de novas estruturas de drenos (Koch, 2004).

A sacarose desempenha um importante papel no crescimento e no desenvolvimento das plantas, pois é uma molécula essencial na distribuição de fotoassimilados, como fonte de carbono para manter o metabolismo da célula e o crescimento da planta e também como um regulador da expressão de genes. Assim, a demanda por produtos de sua degradação é um fator importante para vários processos biológicos e é controlada por enzimas de degradação (Winter &

Huber, 2000). Nesse sentido, Koch (2004) afirma que o metabolismo da sacarose pode ser considerado como o coração de um sistema sensível e auto-regulador do desenvolvimento de plantas.

Em tecidos vegetais, o processo inicial para a utilização da sacarose é a sua clivagem por meio das enzimas invertases ou SUSY, resultando na produção de hexoses – glicose ou UDP-glicose, respectivamente –, que são essenciais como fontes de energia, produto primário para a síntese de diferentes produtos de reserva e para atender à demanda de crescimento dos tecidos. Embora invertases e SUSY sejam envolvidas na clivagem de sacarose, a participação de cada uma dessas enzimas no crescimento e no desenvolvimento de plantas é diferenciada (Winter & Huber, 2000).

Geromel et al. (2006) afirmam que, em órgãos dreno da maioria das espécies de plantas, essas diferenças são controladas por enzimas que degradam e (re)sintetizam a sacarose, respectivamente como as invertases e as sacaroses sintases (susys) e sacarose fosfato sintase (SPS).

4.3.2. Metabolismo de carboidratos em folhas, ramos, gemas e frutos de café arábica: análise da atividade enzimática nos tecidos.

Na Figura 28 são apresentados os resultados da atividade da enzima invertase neutra do citosol (INC) na gema e na folha. Pôde-se observar alta atividade da INC durante o período de desenvolvimento da gema, principalmente no período que antecede o florescimento, indicado pela seta. Na folha observou-se um aumento da atividade da INC a medida que o florescimento se aproximava, chegando ao máximo no dia 265 e decrescendo no período de expansão dos frutos. A alta atividade da INC na gema foi acompanhada por baixos teores de sacarose neste tecido e altos conteúdos de hexoses, indicando uma alta atividade metabólica. A INC não apresentou atividade nos ramos.

O único modelo que obteve ajuste significativo para a INC foi:

$$\text{INC na gema} = -1,251E^4 + 97,48X - 0,1799X^2, R^2=0,5668, \text{Pr}(>F)=0,014.$$

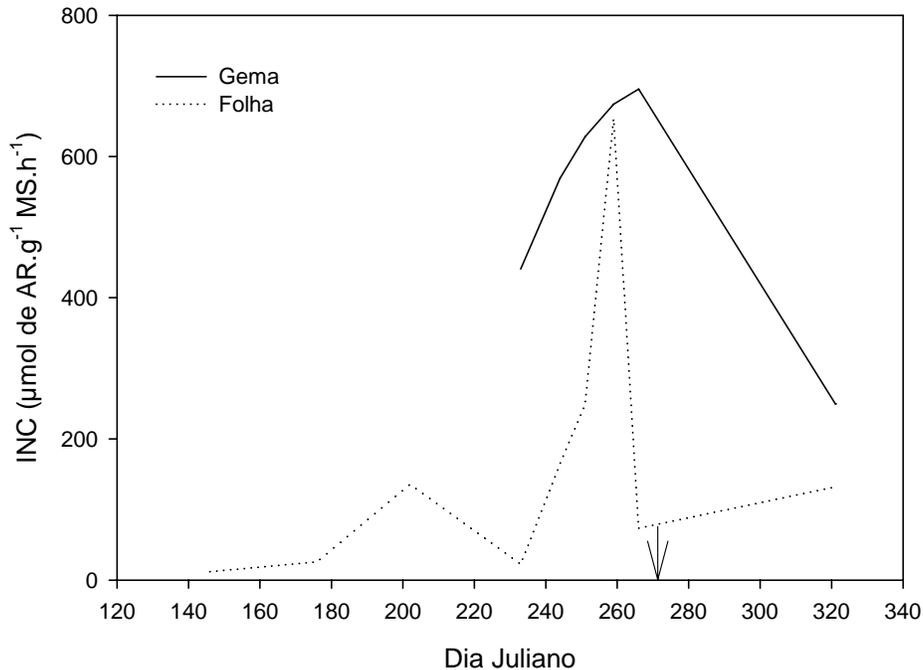


FIGURA 28: Atividade da invertase neutra do citosol (INC) em folhas e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Na Figura 29 são mostrados os resultados de atividade da enzima IAV no período reprodutivo do cafeeiro, em folhas, ramos e gemas. Constatou-se que a IAV apresentou, da mesma forma que a INC, um pico de atividade na gema, no período que antecede o florescimento. A atividade média da IAV variou entre 100 e 400 $\mu\text{mol de AR g}^{-1} \text{MS.h}^{-1}$, considerando todas as estruturas. Já na folha, observou-se alta atividade desta enzima no período de dormência das gemas (de junho a agosto). A possível explicação para isso é o fato de que, não ocorrendo

nesta data uma intensa translocação da sacarose para os drenos (gemas), por estarem dormentes, esta sacarose foi novamente transformada em hexoses, para serem usadas na síntese de amido na folha ou para serem metabolizadas na respiração e a principal enzima neste papel é a IAV. Ao encontro desta hipótese verifica-se o aumento do amido e dos AST nas folhas, nesta mesma época (Figuras 22 e 23, respectivamente). Nos ramos observou-se um aumento gradual da atividade da IAV, sendo que no dia 321 atingiu o ápice, juntamente com alta atividade da IAV nos frutos, com atividades em torno de $350 \mu\text{mol de AR.g}^{-1} \text{MS.h}^{-1}$. O único modelo que se ajustou aos dados foi:

$$\text{IAV no ramo} = -192,5 + 1,50X, R^2=0,6231, \text{Pr}(>F)=0,000.$$

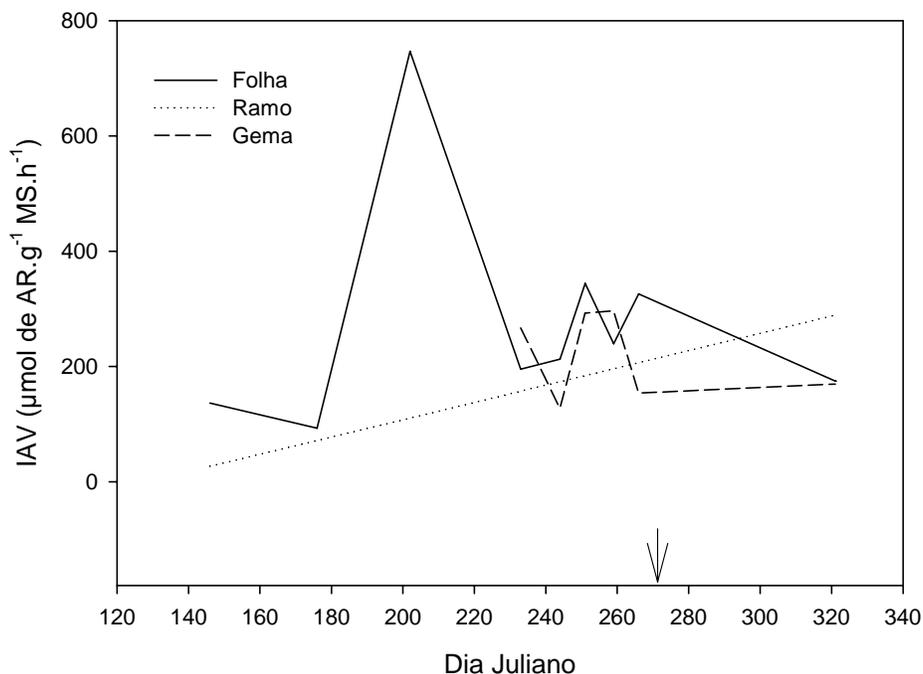


FIGURA 29: Atividade da invertase ácida do vacúolo em folhas, ramos e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04,

266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Na Figura 30 são apresentados os resultados referentes à atividade da enzima IAPC, que apresentou atividade média variando entre 100 e 550 $\mu\text{mol de AR.g}^{-1}\text{MS.h}^{-1}$, durante o período analisado nas diversas estruturas. Observou-se, na gema uma atividade moderada, quando comparada com a INC e a IAV, mas no fruto (dia 321) ficou evidenciada a importante atividade desta enzima neste tecido. Observou-se uma tendência gradual de aumento da atividade desta enzima após o florescimento até o período de expansão dos frutos (dia 321), o mesmo aconteceu no ramo. Neste tecido, observou-se atividade desta enzima no período de dormência indicando a importância desta para a manutenção da atividade celular neste tecido. No fruto em expansão, a IAPC tem se mostrado a principal enzima de degradação da sacarose.

Os ajuste dos modelos para os dados de atividade de IAPC são:

IAPC na folha= $-684+9,59X-2,25E^{-2}X^2$, $R^2=0,4179$, $\text{Pr}(>F)=0,008$.

IAPC no ramo= $-199,9+9,59X$, $R^2=0,5393$, $\text{Pr}(>F)=0,000$.

IAPC na gema = $-396,2+2,397X$, $R^2=0,4890$, $\text{Pr}(>F)=0,037$.

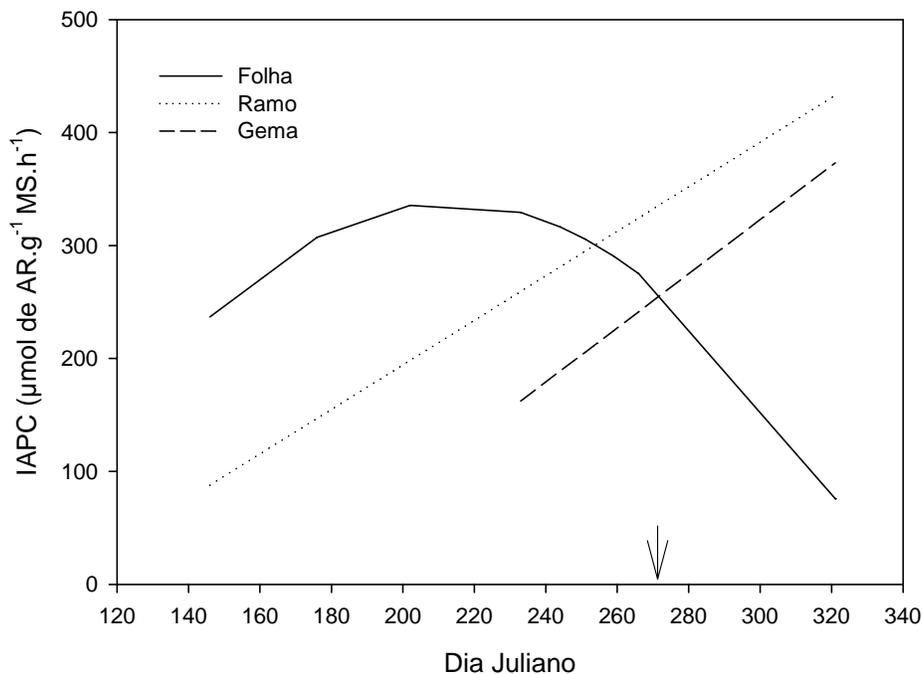


FIGURA 30: Atividade da invertase ácida da parede celular em folhas, ramos e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Na Figura 31 foi apresentada a atividade da sacarose sintase (SUSY) a qual foi medida no sentido de degradação da sacarose, pois esta enzima, ao contrário das outras apresentadas anteriormente, também trabalha no sentido de síntese da sacarose. Na folha a atividade da SUSY praticamente não variou durante o período analisado, mantendo-se em torno de 180 $\mu\text{mol de AR g}^{-1} \text{MS.h}^{-1}$. Já nas folhas observou-se uma baixa atividade no período anterior ao florescimento e um mínimo de atividade aos 170 dias. No entanto, após o florescimento a atividade da SUSY aumentou na folha até atingir o máximo no período de expansão dos frutos (dia 321). Nas gemas a atividade estava baixa

antes do florescimento, mas após o mesmo cresceu linearmente até atingir o máximo no dia 321. A SUSY parece ser uma enzima importante no período de expansão dos frutos.

Em drenos, a sacarose que é degradada pela SUSY é usualmente associada com a biossíntese de amido ou com a parede celular (dependendo do tecido analisado, se tubérculo ou gema, respectivamente); já a sacarose degradada pelas invertases fornece hexoses, supostamente utilizadas para divisão celular nos estádios iniciais do desenvolvimento dos tecidos dreno (Carlson et al., 2002). Em geral, as hexoses caracterizam mais as fases de divisão e expansão celular, enquanto que altos teores de sacarose caracterizam as fases de diferenciação e maturação (Borisjuk et al., 2003). Geromel encontrou alta atividade de SUSY, 150 dias após o florescimento (Geromel, 2006).

Os modelos que se ajustaram aos dados de atividade de Susy são:

$$\text{SUSY no ramo} = -38,64 + 0,849X, R^2 = 0,4827, \text{Pr}(> F) = 0,007.$$

$$\text{SUSY na gema} = -348,3 + 2,026X, R^2 = 0,9081, \text{Pr}(> F) = 0,025.$$

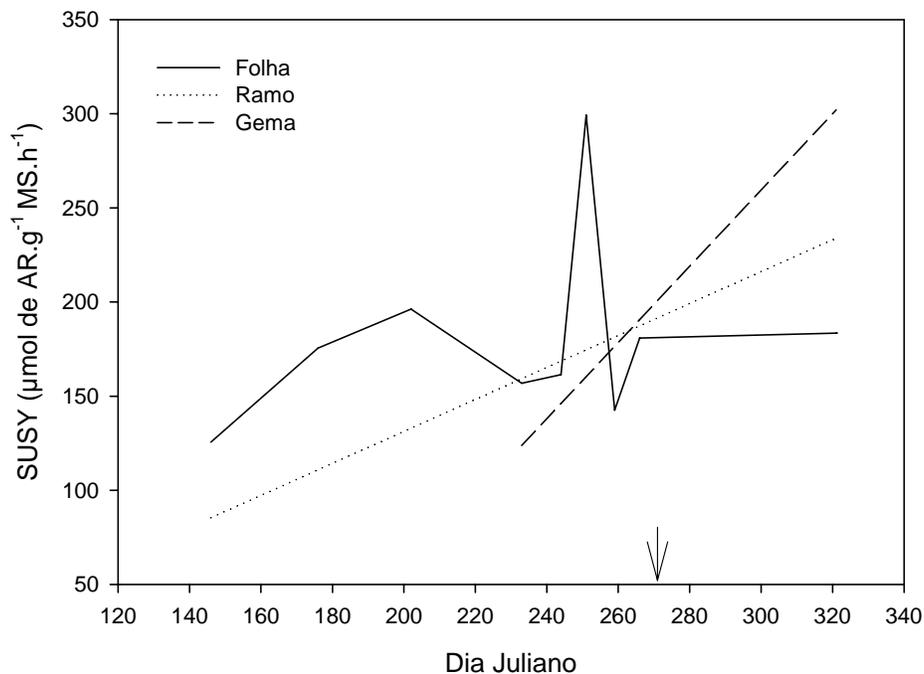


FIGURA 31: Atividade da sintase da sacarose em folhas, ramos e gemas, em diferentes épocas, durante o desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. Dias julianos correspondem as datas: 146=25/05/04, 176=24/06/04, 202=20/07/04, 233=20/08/04, 244=31/08/04, 251=07/09/04, 259= 15/09/04, 266=22/09/04 e 321=16/11/04. A seta indica o dia do surto principal de florescimento.

Estas invertases, em outras espécies, fornecem hexoses para o metabolismo celular (Hubbard et al., 1989; Yelle et al, 1991), mas também participam no controle do crescimento e da diferenciação celular.

Provavelmente, a maior quantidade de sacarose que chega à gema ocorre via simplasto, demonstrada pela maior atividade de uma enzima citossólica, a INC. No entanto, no fruto foi verificada maior atividade da IAPC, demonstrando ser importante à rota apoplástica. A crescente atividade da INC na folha, possivelmente, está ligada ao fornecimento de energia (respiração) para os processos metabólicos de síntese de sacarose e manutenção celular. De acordo com a hipótese acima, a INC é considerada uma enzima de manutenção,

envolvida na degradação de sacarose quando as atividades da invertase ácida da parede celular e SUSY são baixas (Copeland, 1990). Neste trabalho, foi verificada alta atividade de INC nas gemas, maior atividade entre as invertases, durante o período de crescimento intenso das gemas.

As enzimas invertases e sacarose sintase (SUSY) são citadas, por vários autores, como responsáveis pelo controle de fluxo e hidrólise de sacarose em tecidos-drenos (Zrenner et al., 1995; Isla et al., 1998; Sturm, 1999; Nguyen-Quoc & Foyer, 2001; Etxeberria & Gonzalez, 2003). Assim, a demanda por produtos da degradação da sacarose são fatores importantes para vários processos biológicos e são controlados pelas enzimas de degradação (INC, IAV, IAPC e SUSY) e de síntese, tais como a sintase da sacarose fosfato (SPS) (Winter & Huber, 2000).

Neste trabalho, a IAV apresentou maior atividade no fruto, e esta enzima parece controlar a rota primária de clivagem da sacarose em tecidos em expansão (Winter & Huber, 2000) e em tecidos maduros (Copeland, 1990) e contribui para o fluxo de hexoses através do tonoplasto e para a entrada de hexoses no metabolismo citoplasmático. O controle temporal de ambos os processos é facilitado pela compartimentalização, a qual pode integrar uma função importante e sinalizadora da invertase ácida vacuolar com seu papel osmótico na expansão (Kock, 2004).

A SUSY é uma enzima da qual são conhecidas duas isoformas, uma solúvel no citosol e outra associada à plasmalema (Barrat et al., 2001). A forma citosólica parece fornecer produtos para o metabolismo geral, enquanto a forma associada à plasmalema parece fornecer UDPG (produto da degradação da sacarose) diretamente para a síntese de celulose (Amor et al., 1995) e para a formação de amido (Asano et al., 2002) e diversos polissacarídeos da parede celular. Neste trabalho com cafeeiro, a atividade da SUSY foi importante para o fruto, local onde apresentou atividade alta. A atividade da SUSY ocorreu

durante todo o desenvolvimento das gemas e em todos os tecidos estudados. No cafeeiro, a SUSY parece ter maior participação em frutos em estágio mais avançado de crescimento, conforme já estudado por Geromel (2006).

5. CONCLUSÕES

A maior área de parede celular e, conseqüentemente, também a menor área de lúmen foram encontradas no tratamento não irrigado oeste, o qual apresentou também o maior número de vasos por milímetro quadrado. Já o tratamento irrigado leste apresentou maturação dos frutos mais rápida e mais uniforme que os demais tratamentos avaliados.

Foi observado, em locais do ramo com vasos numerosos, que o diâmetro destes vasos é menor e que existe tendência de aumento do número e diminuição do diâmetro dos vasos do xilema do pedúnculo dos frutos, conforme aumenta o estágio de maturação destes frutos. Ainda, o maior número e diâmetro dos vasos no pedúnculo de frutos do cafeeiro proporcionam maior crescimento dos frutos e esta característica é definida antes da antese.

Frutos oriundos de mesma florada no mesmo nó podem crescer diferencialmente de acordo com as condições hidráulicas impostas pelo número e o diâmetro dos vasos do pedúnculo destes frutos.

As reservas de amido da folha e da gema são importantes no crescimento das gemas, no entanto, a mobilização do amido do ramo no período reprodutivo do cafeeiro não ocorre.

As invertases e a SUSY são enzimas importantes no período de desenvolvimento das gemas do cafeeiro. Estas enzimas ajudam a manter a relação sacarose/(glicose+frutose) baixa na gema, para que ocorra um gradiente de sacarose em direção a este tecido dreno. O baixo conteúdo de sacarose na gema deve-se, principalmente, à atividade da INC. Próximo à abertura das flores, os principais carboidratos acumulados são glicose e frutose. A IAPC e a SUSY são as principais enzimas de degradação de sacarose no fruto de cafeeiro

em estágio de expansão. A atividade da INC em ramos de cafeeiro não foi detectada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL-RAHIM, M.F.; FAHMY, G.M.; FAHMY, Z.M. Alterations in transpiration and stem vascular tissues of two maize cultivars under conditions of water stress and late wilt disease. **Plant Pathology**, v.47, p.216–223, 1998.

ALONI, R. The induction of vascular tissues by auxin and cytokinin. In: DAVIES, P.J. (Ed.). **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. 2.ed. Netherlands: Kluwer Academic, 1995. p.531-546.

AMOR, Y.; HAIGLER, C.H.; JOHNSON, S.; WAINSCOTT, M.; DELMER, D. A membrane associated form of sucrose synthase and its potential role in the synthesis of cellulose and callose in plants. **Proceedings National Academy Sciences of the United States of America**, v.92, p.9353-9357, 1995.

ASANO, T. et al. Rice SPK, a calmodulin-like domain kinase, is required for storage product accumulation during seed development: phosphorylation of sucrose synthase is a possible factor. **Plant Cell**, v.14, p. 619-628, 2002.

ASTEGIANO, E.D. **Movimentação de água e quebra da dormência dos botões florais de café (*Coffea arabica* L.)**. 1984. 42 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

AVIGAD, G. Sucrose and other disaccharides. In: LOEWUS, F.A.; TANNER, W. (Ed.). **Encyclopedia of plant physiology: new series**. New York: Springer-Verlag, 1982. p.216-347.

BARRAT, D.H.P.; BARBER, L.; KRUGER, N.J.; SMITH, A.M.; WANG, T.L.; MARTIN, E., Multiple, distinct isoforms of sucrose synthase in pea. **Plant Physiology**. v.127, 655-664, 2001.

BARROS, R.S.; MAESTRI, M. Influência dos fatores climáticos sobre a periodicidade de crescimento vegetativo do café (*Coffea arabica* L.). **Revista Ceres**, v.21, p.268-279, 1974.

BARROS, R.S.; MAESTRI, M.; COONS, P.M. The physiology of flowering in coffee: a review. **Journal of Coffee Research**, Balehonnur, v.8, p.29-73, 1978.

BEYER, E.M.; MORGAN, P.W. Abscission: the role of ethylene modification of auxin transport. **Plant Physiology**, v.48, p.208-212, 1971.

BOLOGA, K.L.; FERNIE, A.R.; LEISSE, A.; LOUREIRO, M.E.; GEIGENBERGER, P. A bypass of sucrose synthase leads to low internal oxygen and impaired metabolic performance in growing potato tubers. **Plant Physiology**, v.132, p.2058-2072, Aug. 2003.

BONDADA, B.R.; MATTHEWS, M.A.; SHACKEL, K.A. Functional xylem in the post-veraison grape berry. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n.421, p.2949-2957, 2005.

BORISJUK, L.; ROLLETSCHEK, H.; WOBUS, U.; WEBER, H. Differentiation of legume cotyledons as related to metabolic gradients and assimilate transport into seeds. **Journal Exp. Botanic**, v.54, p.503-512, 2003.

BOYER, C.D. Synthesis and breakdown of starch. In: NEYRA, C.A. **Biochemical basis of plant breeding**. Boca Raton: CRC, 1985. v.1, p.133-153.

CANNELL, M.G.R. Physiology of the coffee crop. In: CLIFFORD, M.N.; WILSON, K.C. **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage**. London: Croom Helm, 1985. p.108-134.

CARLSON, S.J.; CHOUREY, P.S.; HELENTJARIS, T.; DATTA, R. Gene expression studies on developing kernels of maize sucrose synthase (SuSy) mutants show evidence for a third SuSy gene. **Plant Molecular Biology**, v.49, p.15-29, 2002.

CARVALHO, C.H.M et al. Evolução do crescimento do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) irrigado e não irrigado em duas densidades de plantio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, p.243-250, mar./abr. 2006.

CAZETTA, J.O.; SEEBAUER, J.R.; BELOW, F.E. Sucrose and nitrogen supplies regulate growth of maize kernels. **Annals of Botany**, London, v.84, n.6, p.747-754, Dec. 1999.

CHOUREY, P.S.; MILLER, M.E. On the role of sucrose synthase in cellulose and callose biosynthesis in plants. In: PONTIS, H.G.; SALERNO, G.L.; ECHEVERRIA, E. **Sucrose metabolism, biochemistry, physiology and molecular biology**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1995. v.14, p.80-87.

COOMBE, B.G.; McCARTHY, M.G. Dynamics of berry growth and physiology of ripening. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.6, p.131-135, 2000.

COPELAND, L. Enzymes of sucrose metabolism. **Methods in Plant Biochemistry**, San Diego, v.3, p.73-83, 1990.

COSTA, C.G. et al. Xilema. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELO-GUERREIRO, A.M. **Anatomia vegetal**. Viçosa, MG: UFV, 2004. Cap.5.

CRISOSTO, C.H.; GRANTZ D.A.; MEINZER, F.C. Effects of water deficit on flower opening in coffee (*Coffea arabica* L.). **Three Physiology**, v.10, p.127-139, 1992.

DAVIES, C.; TARDIEU, F.; TREJO, C.L. How do chemical signals work in plants that grow in drying soil? **Plant physiology**, v.104, p.309-314, 1994.

DAVIES, W.J.; ZHANG, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, p.55-76, 1991.

DAVIES, W.J. et al. Regulation of leaf and fruit growth in plants growing in drying soil : exploitation of the plants' chemical signalling system and hydraulic architecture to increase the efficiency of water use in agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.1617-1626, 2000.

DE CASTRO, R.D.; MARRACCINI, P. Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. **Braz. Journal Plant Physiology**, v.18, n.1, p.175-199, 2006.

DICHE, Z. Genera color reactions. In: WHISTLER, R.L.; WOLFRAM, M.L. **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic, 1962. p.477-520.

- DICHIO, B.; REMORINI, D.; LANG, S. Developmental changes in xylem functionality in kiwifruit: implications for fruit calcium accumulation. **Acta Horticulturae**, v.610, p.191-195, 2003.
- DRAZETA, L.; LANG, A.; HALL, A.J.; VOLZ, R.K.; JAMESON, P.E. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. **Annals of Botany**, v.93, p.275-282, 2004.
- EHRET, D.L.; HO, L.C. The effects of salinity on dry matter partitioning and fruit growth in tomatoes grown in nutrient film culture. **Journal Horticultural Science**, v.61, p.361-367, 1986.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412p.
- ETXEBERRIA, E.; GONZALEZ, P. Evidence for a tonoplast-associated form of sucrose synthase and its potential involvement in sucrose mobilization from the vacuole. **Journal of Experimental Botany**, v.54, n.386, p.1407-1414, 2003.
- FAZUOLI, L.C. Genética e melhoramento do cafeeiro. In: RENA, A.B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (Ed.). **Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafos, 1986. p.87-106.
- FREDERICO, D.; MAESTRI, M. Ciclo de crescimento dos botões florais de café (*Coffea arabica* L.) **Revista Ceres**, Viçosa, v.27, p.171-181, 1970.
- GARDIN, J.P.P. Níveis de carboidratos em pereira, cv. Nijisseiki, durante as fases de outono/inverno, relacionados com o abortamento de gemas florais. 2002. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- GARDIN, J.P.P. et al. Metodologia de determinação de açúcares solúveis em tecido vegetal de cafeeiro por cromatografia gasosa. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4., 2005, Londrina. **Anais...** Londrina, PR, Embrapa Café, 2005.
- GEIGENBERGER, P. Regulation of sucrose to starch conversion in growing potato tubers. **Journal of Experimental Botany**, v.54, n.382, p.457-465, Jan. 2003.

GEROMEL, C. et al. Biochemical and genomic analysis of sucrose metabolism during coffee (*Coffea arabica*) fruit development **Journal of Experimental Botany**, v.57, n.12, p.3243–3258, 2006.

GEROMEL, C. **Atividade hidrolítica da sacarose associada ao desenvolvimento do fruto do cafeeiro**. 2002. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GORDON, A.J.; MINCHIN, F.R.; JAMES, C.L.; KOMINA, O. Sucrose synthase in legume nodules is essential for nitrogen fixation. **Plant Physiology**, v.120, p.867-877, 1999.

GORSUCH, D.M.; OBERBAUER, S.F.; FISHER, J.B. Comparative vessel anatomy of arctic deciduous and evergreen dicots. **American Journal of Botany**, v.88, n.9, p.1643-1649, 2001.

GREENSPAN, M.D.; SHACKEL, K.A.; MATTHEWS, M.A. Developmental changes in the diurnal water budget of the grape berry exposed to water deficits. **Plant, Cell and Environment**, v.17, p.811-820, 1994.

GREENSPAN, M.D.; SCHULTZ, H.R.; MATTHEWS, M.A. Field evaluation of water transport in grape berries during water deficits **Physiologia Plantarum**, v.97, p.55-62, 1996.

GUIMARAES, R. J.; MENDES, A. N. G. **Fisiologia do Cafeeiro**, Lavras: UFLA, 38p, 1996.

HO, L.C. Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. **Annual Review of Plant Physiology**, v.39, p.355-378, 1988.

HO, L.C.; GRANGE, R.I.; PICKEN, A.J. Analysis of the accumulation of water and dry matter in tomato fruit. **Plant, Cell and Environment**, v.10, p.157-162, 1987.

HUBBARD, N.; HUBER, S.; PHARR, D. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. **Plant Physiology**, v.91, p.1527-1534, 1989.

IAWA COMMITTEE. List of microscope features for hardwood identification. **IAWA Bulletin**, v.10, p.234-332, 1989.

ICO INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Coffee quality: improvement programme – implementation**. 2002. 3p. (ICC Resolution, 407), 1º de fevereiro de 2002.

ISLA, M.I.; VATTUONE, M.A.; SAMPIETRO, A.R. Hydrolysis of sucrose within isolated vacuoles from *Solanum tuberosum* L. tubers. **Planta**, v.205, p.601-605, 1998.

KARASAWA, S.; FARIA, M.A.; GUIMARÃES, R.J. Resposta do cafeeiro Cv. Topázio MG-1190 submetido a diferentes épocas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.6, n.1, p.28-34, 2002.

KOCH, K. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.47, p.509-540, 1996.

KOCH, K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. **Current Opinion in Plant Biology**, v.7, p.235-246, 2004.

KRAMER, P.J. **Water relations of plants**. New York: Academic, 1983. Cap.6, p.146-186. (Development of Root System).

KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 25p.

KRUGER, N.J. Carbohydrate synthesis and degradation. In: DENNIS, D.T.; TURPIN, D.H. **Plant physiology, biochemistry and molecular biology**. 2.ed. London: Longman Scientific & Technological, 1993. p.59-76.

KUMAR, D. Some aspects of the physiology of *Coffea arabica* L. A Review. **Kenya Coffee**, Nairobi, v.44, n.519, p.9-47, 1979.

LANG, A.; DÜRING, H. Partitioning control by water potential gradient: evidence for compartmentation breakdown in grape berries. **Journal of Experimental Botany**, v.42, p.1117-1122, 1991.

LANG, A.; THORPE, M.R. Xylem, phloem and transpiration flows in a grape: application of a technique for measuring the volume of attached fruits to high resolution using Archimedes' principle. **Journal of Experimental Botany**, v.40, p.1069-1078, 1989.

LEROY, T.; RIBEYRE, F.; BERTRAND, B.; CHARMETANT, P.; DUFOUR, M.; MONTAGNON, C.; MARRACCINI, P.; POT, D. Genetics of coffee quality. **Braz. Journal Plant Physiology**, v.18, p.229-242, 2006.

LOVISOLO, C.; SCHUBERT, A. Effects of water stress on vessel size and xylem hydraulic conductivity in *Vitis vinifera* L. **Journal of Experimental Botany**, v.49, n.321, p.693-700, 1998.

MATIELLO, J.B.; ALMEIDA, S.R. Sistemas de combinação de café com seringueira, no sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 17., 1991, Varginha. **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro: MARA/SNPA/EMBRAPA, 1991. p.112-114.

MELO, B.; BARTHOLO, G. F.; MENDES, A. N.G. Café: variedade e cultivares. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.19, n.193, p.92-96, 1998.

MELOTTO, E. **Mobilização de carboidratos pelos botões florais de café (*Coffea arabica* L.) em expansão**. 1987. 47f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MILLER, G.L. Use of dinitrifcation acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, p.426-428, Mar. 1959.

NGUYEN-QUOC; FOYER. A role for 'futile cycles' involving invertase and sucrose synthase in sucrose metabolism of tomato fruit. **Journal of Experimental Botany**, v.52, n.358, p.881-889, 2001.

NIJSSE, J. et al. Xylem hydraulic conductivity related to conduit dimensions along chrysanthemum stems **Journal of Experimental Botany**, v.52, n.355, p.319-327, 2001.

NOBEL, P.S. **Biophysical plant phyiology and ecology**. New York: Freeman, 1983.

NOBEL, P.S.; DE LA BARRERA, E. Carbon and water balances for young fruits of platyopunitas. **Physiologia Plantarum**, v.109, p.160-166, 2000.

PFEIFFER, I.; KUTSCHERA, U. Sucrose metabolism and cell elongation in developing sunflower hypocotyls. **Journal of Experimental Botany**, v.287, p.631-638, 1995.

POZUETA-ROMERO, J.; PERATA, P.; AKAZAWA, T. Sucrose-starch conversion in heterotrophic tissues of plants. **Critical Reviews in Plant Science**, v.18, p.489-525, 1999.

R DEVELOPMENT CORE TEAM R: **A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 21 de out. de 2005.

RANWALA, A.P.; MILLER, W.B. Sucrose-cleaving enzymes and carbohydrate pools in *Lilium longiflorum* floral organs. **Physiol. Plant.**, v.103, p.541-550, 1998.

RÉGENT INSTRUMENTS WINCELL PRO. **Introduction**. 2001. Disponível em: <http://regentinstruments.com/>. Acesso em: 25 nov. 2004.

RENA, A.B.; MAESTRI, M. Relações hídricas no cafeeiro. **ITEM**, Brasília, v.48, p.34-41, set. 2000.

RENA, A.B.; NACIF, A.P.; GONTIJO, P. de T.; PEREIRA, A.A. Fisiologia do cafeeiro em plantios adensados. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAFÉ ADENSADO, 1996, Londrina. **Anais...** Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 1996. p.73-85.

RENZ, A.; STITT, M. Substrate specificity and product inhibition of different forms of fructokinases and hexokinases in developing potato tubers. **Planta**, v.190, p.166-175, 1993.

RICE, S.A.; MCARTHUR, J. Water flow through xylem: an investigation of a fluid dynamics principle applied to plants. **The American Biology Teacher**, v.66, n.2, fev. 2004.

- ROGERS, W.J. et al. Biochemical and molecular characterization and expression of the 11S-type storage protein from *Coffea arabica* endosperm. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.37, p.261–272, 1999.
- ROGIERS, S.Y. et al Vascular function in berries of *Vitis vinifera* (L) cv. Shiraz. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.7, p.247-251, 2001.
- SALZER, P.; HAGER, A. Characterization of wall-bound invertase isoforms of *Picea abies* cells and regulation by ectomycorrhizal fungi. **Physiologia Plantarum**, v.88, n.1, p.52–59, 1993.
- SCHULTZ, H.R.; MATTHEWS, M.A. Resistance to water transport in shoots of *Vitis vinifera* L. **Plant Physiology**, v.88, 718–724, 1988.
- SCHULTZ, R.; MATTHEWS, M.A. Xylem development and hydraulic conductance in sun and shade shoots of grapevine (*Vitis vinifera* L) – evidence that low light uncouples water transport capacity from leaf area. **Planta**, n.190, p.393–406, 1993.
- SILVA, J.C. et al. Invertase and sucrose synthase activities in coffee plants sprayed with sucrose solution. **Scientia Agricola**, v.60, n.2, p.239-244, Apr./June 2003.
- SOARES, R.A. et al. Irrigação e fisiologia da floração em cafeeiros adultos na região da zona da mata de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.27, n.1, p.117-125, jan./mar. 2005.
- SONNEWALD, U.; LERCHL, J.; ZRENNER, R.; FROMMER, W. Manipulation of sink-source relations in transgenic plants. **Plant, Cell and Environment**, v.17, n.5, p.649-658, 1994.
- SPERRY, J.S. Relationship of xylem pressure potential, stomatal closure, and shoot morphology in the palm *Rhapis excelsa*. **Plant Physiology**, v.80, p.110-116, 1986.
- STEEL, G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 2. ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 633 p.

STURM, A. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. **Plant Physiology**, Rockville, v.121, n.1, p.1-7, Sept. 1999.

STURM, A.; CHRISPEELS, M.J. cDNA cloning of carrot extracellular b-fructosidase and its expression in response to wounding and bacterial infection. **Plant Cell**, v.2, p.1107-1119, 1990.

SUGIYAMA, M.; KOMAMINE, A. Transdifferentiation of quiescent parenchymatous cells into tracheary elements. **Cell Differentiation and Development**, v.31, p.77-87, 1990.

SUNG, S.J.; XU, D.P.; BLACK, C.C. A reassessment of glycolysis and gluconeogenesis in high plants. **Physiologia Plantarum**, v.72, p.650-654, 1988.

TROUVERIE, J.; THENENOL, C.; ROCHER, J.P.; SOTTA, B.; PRIOUL, J.L. The role of abscisic acid in the response of a specific vacuolar invertase to water stress in the adult maize leaf. **Journal of Experimental Botany**, v.54, p.2177-2188, 2003.

TYERMAN, S.D. et. al Direct measurements of hydraulic properties in developing berries of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz and Chardonnay. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.10, p.170-181, 2004.

TYREE, M.T.; EWERS, F.W. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. **New Phytologist**, n.119, p.345-360, 1991. (Tansley Review, 34).

TYREE, M.T.; SPERRY, J.S. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. **Annual Rev Plant Physiology Molecular. Biology**; v.40, p.19-38, 1989.

URBINATI, C.V. Variação estrutural quantitativa no lenho de *Terminalia ivorensis* A. CHEV., combretaceae. **Acta Botanica Brasilica**. v.17, n.3, p.421-437, 2003.

WARD, J. M.; KÜHN, C.; TEGEDER, M.; FROMMER, W.B. Sucrose transport in higher plants. **International Review of Cytology**, v.178, p.41-72, 1998.

WINTER, H.; HUBER, S.C. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v.35, n.4, p.253-289, 2000.

YELLE, S.; CHETELAT, R.T.; DORAIS, M.; DE VEME, J.W.; BENNETT, A.B. Sink metabolism in tomato fruit. IV. Genetic and biochemical analysis of sucrose accumulation. **Plant Physiology**, v.95, p.1026-1035, 1991.

ZENG, Y.; WU, Y.; AVIGNE, W.T.; KOCH, K.E. Rapid repression of maize invertases by low oxygen. Invertase/sucrose synthase balance, sugar signaling potential, and seedling survival. **Plant Physiology**, Rockville, v.121, n.2, p.599-608, Oct. 1999.

ZIMMERMANN, M.H.; POTTER, D. Vessel – length distribution in branches, stem and roots of *Acer rubrum* L. **IAWA Bulletin**, v.3, p.103-109, 1983.

ZIMMERMANN, M.J.; JEJE, A.A. Vessel-length distribution in stems of some American woody plants. **Canadian Journal Botanic**, v.59, p.1882-1892, 1981.

ZRENNER, R.; SALANOUBAT, M.; WILLMITZER, L.; SONNEWALD, U. Evidence of the crucial role of sucrose synthase for sink strength using transgenic potato plants. **The Plant Journal**, v.7, p.97-107, 1995.

ZWIENIECKI, M.A. et al. A potential role for xylem-phloem interactions in the hydraulic architecture of trees: effects of phloem girdling on xylem hydraulic conductance. **Tree Physiology**, v.24, p.911-917, 2004.

7. ANEXOS

7.1. Experimento I

TABELA 1A: Análise de variância para a variável número de vasos/mm² de ramo.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	P
IRRIGAÇÃO	1	6705	6705	0,8802	0,350
POSIÇÃO	1	15761	15761	2,0691	0,153
IRRIGAÇÃO*POSIÇÃO	1	34623	34623	4,5453	0,035
ERRO	92	700793	7617		
TOTAL	95	757881			

TABELA 2A: Análise de variância para a variável área de parede celular.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	P
IRRIGAÇÃO	1	20,075	20,075	3,725	0,056
POSIÇÃO	1	31,350	31,350	5,818	0,017
IRRIGAÇÃO*POSIÇÃO	1	63,929	63,929	11,864	0,000
ERRO	92	495,757	5,389		
TOTAL	95	611,111			

TABELA 3A: Análise de variância para a variável área de lúmen de vasos do xilema.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
IRRIGAÇÃO	1	20,075	20,075	3,725	0,056
POSIÇÃO	1	31,350	31,350	5,818	0,017
IRRIGAÇÃO*POSIÇÃO	1	63,929	63,929	11,864	0,000
ERRO	92	495,757	5,389		
TOTAL	95	611,111			

TABELA 4A: Análise de variância para a variável área de lúmem de vasos do xilema.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
IRRIGAÇÃO	1	293236	293236	0,2506	0,617
POSIÇÃO	1	388166	388166	0,3318	0,566
IRRIGAÇÃO*POSIÇÃO	1	2551104	2551104	2,1805	0,143
ERRO	92	107635029	1169946		
TOTAL	95	110867536			

TABELA 5A: Análise de variância para a variável diâmetro de vasos do xilema.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	P
IRRIGAÇÃO	1	35,45	35,45	0,4937	0,484
POSIÇÃO	1	167,42	167,42	2,3316	0,130
IRRIGAÇÃO*POSIÇÃO	1	16,58	16,58	0,2309	0,631
ERRO	92	6606,15	71,81		
TOTAL	95	6825,61			

TABELA 6A: Análise de variância para a variável número de vasos do xilema.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	P
IRRIGAÇÃO	1	565908	565908	3,1937	0,077
POSIÇÃO	1	423584	423584	2,3905	0,125
IRRIGAÇÃO*POSIÇÃO	1	39022	39022	0,2202	0,639
ERRO	92	16301988	177196		
TOTAL	95	17330502			

TABELA 7A: Análise de variância para a variável número de frutos por ramo.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	P
IRRIGAÇÃO	1	32,7	32,7	0,0269	0,871
POSIÇÃO	1	3504,2	3504,2	2,8888	0,104
IRRIGAÇÃO*POSIÇÃO	1	4482,7	4482,7	3,6955	0,068
ERRO	20	24260,3	1213,0		
TOTAL	23	32279,8			

TABELA 8A: Análise de variância para a variável diâmetro de ramo.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	P
IRRIGAÇÃO	1	0,0417	0,0417	0,093	0,763
POSIÇÃO	1	2,1004	2,1004	4,679	0,042
IRRIGAÇÃO*POSIÇÃO	1	1,0838	1,0838	2,414	0,135
ERRO	20	8,9775	0,4489		
TOTAL	23	12,2033			

TABELA 9A: Análise de variância para a variável número de vasos no pedúnculo dos frutos.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
IRRIGAÇÃO (I)	2	114610	57305	13609,7	0,0000
MATURAÇÃO (m)	1	72	72	17,014	0,0000
I:m	1	19	19	4,604	0,03327
ERRO	176	741	4		

TABELA 10A: Análise de variância para a variável diâmetro de vaso do pedúnculo dos frutos.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
TRATAMENTO (T)	4	93200	23300	9,3446	0,0000
MATURAÇÃO (m)	1	55,00	55,00	14,5496	0,0001
T:m	3	18,92	6,31	1,6687	0,1726
ERRO	592	2237,79	3,78		

7.2. Experimento II

TABELA 11A: Análise de variância para a variável diâmetro de fruto “maior”

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
LINEAR	1	78,2663	78,26631	156,2376	0,000
QUADRÁTICA	1	48,5259	48,52594	96,8690	0,000
ERRO	32	16,0302	0,50094		
TOTAL	34	273,0289			

TABELA 12A: Análise de variância para a variável diâmetro de vaso “maior”

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
LINEAR	1	52,9492	52,94924	69,01670	0,000
QUADRÁTICA	1	39,4674	39,46737	51,44376	0,000
ERRO	32	24,5502	0,76719		
TOTAL	34	125,0003			

TABELA 13A: Análise de variância para a variável número de vasos “maior”

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
LINEAR	1	28946,2	28946,20	9,581526	0,004
QUADRÁTICA	1	7724,1	7724,15	2,556781	0,119
ERRO	32	96673,4	3021,04		
TOTAL	34	484790,5			

TABELA 14A: Análise de variância para a variável diâmetro do fruto “menor”

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
LINEAR	1	89,0701	89,07012	143,3231	0,000
QUADRÁTICA	1	55,1197	55,11968	88,6933	0,000
ERRO	32	19,8868	0,62146		
TOTAL	34	313,8574			

TABELA 15A: Análise de variância para a variável diâmetro de vasos “menor”

EFEITO	GL	SQ	QM	F	p
LINEAR	1	56,9799	56,97987	38,50335	0,000
QUADRÁTICA	1	39,2381	39,23808	26,51458	0,000
ERRO	32	47,3558	1,47987		
TOTAL	34	185,8497			

TABELA 16A: Análise de variância para a variável número de vasos “menor”.

EFEITO	GL	SQ	QM	F	P
LINEAR	1	40027,1	40027,07	10,52861	0,002
QUADRÁTICA	1	16493,7	16493,73	4,33847	0,045
ERRO	32	121655,7	3801,74		
TOTAL	34	430522,4			

7.3. Experimento III

TABELA 17A: Análise de variância para a variável amido em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	682,53	0,000
QUADR. (Q)	1	212,0	0,000
TRATAMENTOS	8	1057,87	0,000
ERRO	36	250,7	

TABELA 18A: Análise de variância para a variável amido em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	5,852	0,265
QUADR. (Q)	1	0,001	0,989
TRATAMENTOS	8	77,138	0,014
ERRO	36	121,44	

TABELA 19A: Análise de variância para a variável amido em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	597,72	0,000
QUADR. (Q)	1	33,65	0,039
TRATAMENTOS	5	698,55	0,000
ERRO	24	127,26	

TABELA 20A: Análise de variância para a variável AST em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	385,1	0,041
TRATAMENTOS	8	813,1	0,3835
ERRO	36	3314,7	

TABELA 21A: Análise de variância para a variável AST em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	0,57	0,869
QUADR. (Q)	1	119,94	0,020
TRATAMENTOS	8	223,01	0,269
ERRO	36	765,01	

TABELA 22A: Análise de variância para a variável AST em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	732,67	0,000
QUADR. (Q)	1	175,82	0,000
CÚBICA (C)	1	626,94	0,000
TRATAMENTOS	5	1802	0,000
ERRO	24	143,78	

TABELA 23A: Análise de variância para a variável frutose em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	1,682	0,186
QUADR. (Q)	1	0,166	0,675
CÚBICA (C)	1	0,230	0,621
TRATAMENTOS	8	11,91	0,091
ERRO	36	28,24	

TABELA 24A: Análise de variância para a variável frutose em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	0,877	0,348
QUADR. (Q)	1	12,769	0,000
CÚBICA (C)	1	5,783	0,019
TRATAMENTOS	8	19,558	0,049
ERRO	36	39,777	

TABELA 25A: Análise de variância para a variável frutose em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	136,8	0,000
QUADR. (Q)	1	160,3	0,000
CÚBICA (C)	1	267,1	0,000
DESVIOS	1	172,6	0,000
TRATAMENTOS	5		0,000
ERRO	24	14,79	

TABELA 26A: Análise de variância para a variável glicose em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	15,57	0,3413
QUADR. (Q)	1	5,68	0,5642
CÚBICA (C)	1	5,93	0,5558
TRATAMENTOS	8	127,36	0,4718
ERRO	36	588,65	

TABELA 27A: Análise de variância para a variável glicose em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	0,638	0,5412
QUADR. (Q)	1	1,439	0,3602
CÚBICA (C)	1	0,646	0,5387
TRATAMENTOS	8	4,595	0,9579
ERRO	36	67,046	

TABELA 28A: Análise de variância para a variável glicose em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	152,185	0,000
QUADR. (Q)	1	22,225	0,003
CÚBICA (C)	1	67,878	0,000
TRATAMENTOS	5	267,804	0,000
ERRO	24	28,245	

TABELA 29A: Análise de variância para a variável sacarose em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	206,95	0,031
DESVIOS	1	59,90	0,2377
TRATAMENTOS	8	463,23	0,2564
ERRO	36	1556,97	

TABELA 30A: Análise de variância para a variável sacarose em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	0,79	0,769
QUADR. (Q)	1	38,16	0,047
CÚBICA (C)	1	55,94	0,017
DESVIOS	1	14,07	0,230
TRATAMENTOS	8	117,7	0,1944
ERRO	36	355,21	

TABELA 31A: Análise de variância para a variável sacarose em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	9,249	0,004
QUADR. (Q)	1	16,979	0,000
CÚBICA (C)	1	0,2109	0,644
TRATAMENTOS	5	37,79	0,000
ERRO	24	13,75	

TABELA 32A: Análise de variância para a variável sacarose/glicose+frutose em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	4,064	0,005
DESVIOS	2	1,7719	>0,05
TRATAMENTOS	8	7,042	0,1253
ERRO	36	18,337	

TABELA 33A: Análise de variância para a variável sacarose/glicose+frutose em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	0,6217	0,374
QUADR. (Q)	1	2,532	0,077
CÚBICA (C)	1	6,7989	0,005
DESVIOS	1	1,2183	0,216
TRATAMENTOS	8	12,534	0,088
ERRO	36	29,482	

TABELA 34A: Análise de variância para a variável sacarose/glicose+frutose em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	0,268	0,000
QUADR. (Q)	1	0,555	0,000
DESVIOS	1	0,0013	0,728
TRATAMENTOS	5	1,1026	0,000
ERRO	24	0,015	

TABELA 35A: Análise de variância para a variável INC em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	213135	0,056
DESVIOS	1	128571	0,136
TRATAMENTOS	8	1595353	0,000
ERRO	36	1078677	

TABELA 36A: Análise de variância para a variável INC em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	251277	0,066
QUADR. (Q)	1	472978	0,014
DESVIOS	1	4	0,993
TRATAMENTOS	5	1277895	0,002
ERRO	24	1231849	

TABELA 37A: Análise de variância para a variável IAV em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	19	0,987
QUADR. (Q)	1	234062	0,0897
TRATAMENTOS	8	151920	0,005
ERRO	36	1978391	

TABELA 38A: Análise de variância para a variável IAV em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	244433	0,000
DESVIOS	1	34868	0,131
TRATAMENTOS	8	392292	0,004
ERRO	36	504716	

TABELA 39A: Análise de variância para a variável IAV em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	62889	0,329
QUADR. (Q)	1	20549	0,574
CÚBICA (C)	1	1348	0,885
TRATAMENTOS	5	214236	0,6459
ERRO	24	1521645	

TABELA 40A: Análise de variância para a variável IAPC em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	62674	0,126
QUADR. (Q)	1	195720	0,008
TRATAMENTOS	8	618350	0,002
ERRO	36	723869	

TABELA 41A: Análise de variância para a variável IAPC em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	422342	0,000
TRATAMENTOS	8	783167	0,007
ERRO	36	1093711	

TABELA 42A: Análise de variância para a variável IAPC em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	137656	0,042
TRATAMENTOS	5	281503	0,1323
ERRO	24	712278	

TABELA 43A: Análise de variância para a variável SUSY em folhas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	7727	0,4598
QUADR. (Q)	1	7509	0,4661
CÚBICA (C)	1	2037	0,7036
TRATAMENTOS	8	98852	0,517
ERRO	36	487321	

TABELA 44A: Análise de variância para a variável SUSY em ramos.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	78384	0,007
TRATAMENTOS	8	162377	0,06
ERRO	36	345990	

TABELA 45A: Análise de variância para a variável SUSY em gemas.

EFEITO	GL	SQ	P
LINEAR (L)	1	98357	0,001
TRATAMENTOS	5	108310	0,050
ERRO	24	199277	

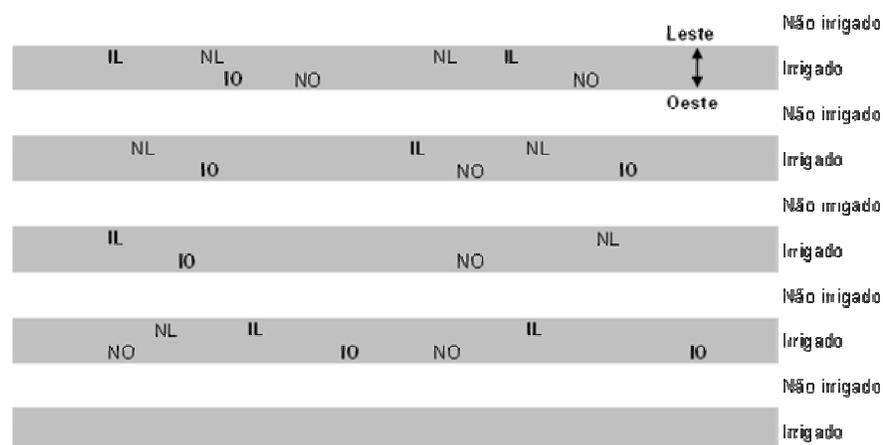


FIGURA 1A: Representação esquemática do Experimento I. As linhas brancas contêm plantas não irrigadas, enquanto as de coloração cinza são plantas irrigadas. As plantas utilizadas no experimento estão codificadas por: IL=irrigado leste, IO=irrigado oeste, NL= não irrigado leste e NO= não irrigado oeste.

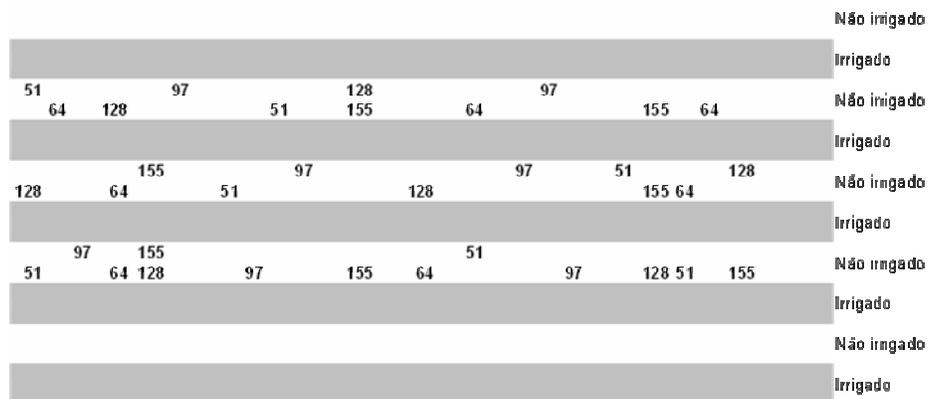


FIGURA 2A: Representação esquemática do Experimento II. As infrutescências foram coletadas somente de plantas não irrigadas, as quais estão codificadas pelo DAF (dias após o florescimento).

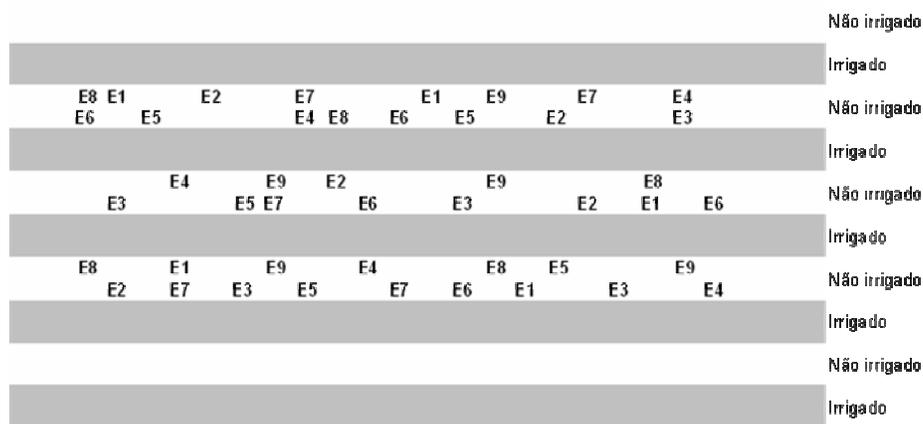


FIGURA 3A: Representação esquemática do Experimento III. As amostras foram coletadas nas nove épocas codificadas de E1 a E9. Foram coletados ramos com folhas e gemas ou frutos, os quais foram separados em laboratório para posteriores análises de conteúdo de carboidratos e atividade enzimática.