

EFEITOS DA EXCLUSÃO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NOS PIGMENTOS FOLIARES DO CAFEIEIRO¹

Wallace de Paula Bernardo², Anne Reis Santos³, Weverton Pereira Rodrigues⁴, Rosana Maria dos Santos Nani de Miranda⁵, Katherine Fraga Ruas⁶, Danilo Força Baroni⁷, Benjamim Valentim da Silva⁸, Guilherme Augusto Rodrigues de Souza⁹, Deivisson Pelegrino de Abreu¹⁰, Larissa Crisóstomo de Souza Barcellos¹¹, Leticia Fernandes Tavares Barcelos¹², Thiago Amisthá Koppe¹³, José Altino Machado-Filho¹⁴, Diego Corona Baitelle¹⁵, Abrãao Carlos Verdin Filho¹⁶, Ricardo Bressan-Smith¹⁷, José Cochicho Ramalho¹⁸, Eliemar Campostrini¹⁹.

¹Trabalho financiado pela CAPES, CNPQ e FAPERJ

²Universidade Estadual do Norte Fluminense, wallace-bernardo@hotmail.com

³Universidade Estadual do Norte Fluminense, annersantos@outlook.com

⁴Universidade Estadual do Norte Fluminense, wevertonuef@hotmail.com

⁵Universidade Estadual do Norte Fluminense, ronani.uenf@gmail.com

⁶Universidade Estadual do Norte Fluminense, katherinefraga@yahoo.com.br

⁷Universidade Estadual do Norte Fluminense, baronidf@gmail.com

⁸Universidade Estadual do Norte Fluminense, benjamimvalentim.14@hotmail.com

⁹Universidade Estadual do Norte Fluminense, guilherme.rodrigues@edu.uniube.br

¹⁰Universidade Estadual do Norte Fluminense, deivissonpabreu.uenf@gmail.com

¹¹Universidade Estadual do Norte Fluminense, larissa_crisostomo@hotmail.com

¹²Universidade Estadual do Norte Fluminense, leticiaftbarcelos@gmail.com

¹³Universidade Estadual do Norte Fluminense, thiago.amistha@hotmail.com

¹⁴Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural, altino.incaper@gmail.com

¹⁵Universidade Estadual do Norte Fluminense, dg.corona@gmail.com

¹⁶Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural, verdin.abcfilho@gmail.com

¹⁷Universidade Estadual do Norte Fluminense, bressan@uenf.br

¹⁸LEAF, ISA, Universidade Lisboa, cochichor@mail.telepac.pt

¹⁸GeoBioTec, Universidade NOVA de Lisboa, cochichor@mail.telepac.pt

¹⁹Universidade Estadual do Norte Fluminense, campostenator@gmail.com

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo, verificar os efeitos da exclusão da radiação ultravioleta nos pigmentos foliares do cafeeiro, utilizando as espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. O experimento foi realizado em Campos dos Goytacazes, na Universidade Estadual do Norte Fluminense. Foram utilizadas 32 plantas, de maneira que 16 (oito de cada espécie) foram mantidas em uma mini casa de vegetação, sob placas de policarbonato que filtram radiação UV e as outras 16, em outra mini casa de vegetação, sob placas de vidro que não filtram a radiação UV. Foi feita a mensuração dos comprimentos de onda alcançado nas mini casas de vegetação. Foram determinados os teores de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofilas totais (CT) e carotenoides (Car). A partir dessas variáveis, foi possível obter a relação entre *a*: Chl *a*/Chl *b*. Ainda neste experimento, foi quantificado o teor de antocianinas. A exclusão de irradiação ultravioleta na mini casa de vegetação de policarbonato, foi de $\cong 70\%$. Ambos os genótipos avaliados não mostraram diferenças significativas entre si no conteúdo de clorofila *a*, porém houve uma tendência de menores valores para *C. canephora* no ambiente de exclusão do ultravioleta. Os padrões de clorofila *b* foram semelhantes aos de clorofila *a*, sem haver diferenças entre os ambientes e genótipos. Entretanto, em ambas as condições, *C. arabica* apresentou uma tendência de valores superiores em relação ao *C. canephora*. O teor de clorofila total não apresentou diferenças significativas entre os genótipos, porém foram observados menores valores para o *C. canephora* no ambiente de exclusão. Não houve diferença entre os genótipos para o teor de carotenoides, mas foi observada uma tendência de valores mais altos para ambos no ambiente com a presença de UV. Em relação ao teor de antocianinas, houve uma tendência de maiores valores para ambos os genótipos na presença de UV. Portanto, nossos resultados mostram que na maioria das variáveis avaliadas em *C. arabica* e *C. canephora*, não houve diferenças significativas entre os ambientes, o que demonstra a manutenção da concentração de pigmentos foliares em ambas as condições.

PALAVRAS-CHAVE: clorofila, *Coffea canephora*, *Coffea arabica*, estresse, UVB, UVA.

EFFECTS OF EXCLUDING ULTRAVIOLET RADIATION ON COFFEA sp. LEAF PIGMENTS

ABSTRACT: This work purpose was to assess the effects of excluding ultraviolet radiation on *Coffea* sp. leaf pigments, using the species *C. arabica* and *C. canephora*. The experiment was realized in Campos dos Goytacazes, at the State University of Northern Fluminense. 32 plants were used, so that 16 (eight of each species) were maintained in a mini greenhouse under polycarbonate plates that filter UV radiation and the others 16 plants were maintained in another mini greenhouse under glass plates that don't filter UV radiation. The wavelengths reached in the mini greenhouse were measured. Contents of chlorophyll *a* (Chl *a*), chlorophyll *b* (Chl *b*), total chlorophyll (CT) and

carotenoids (Car) was determined. From these variables, it was possible to obtain the relation between the: Chl *a*/Chl *b*. Still in this experiment, the content of anthocyanin was quantified. The exclusion of ultraviolet radiation in the polycarbonate mini greenhouse was $\cong 70\%$. Both genotypes evaluated showed no significant differences between each other in content of Chlorophyll *a*, but there was a tendency of lower values to *C. canephora* in the ultraviolet exclusion environment. The chlorophyll *b* patterns were similar to chlorophyll *a*, with no differences between environments or between genotypes. However, under both conditions, *C. arabica* tended to have higher values compared to *C. canephora*. The content of total chlorophyll showed no significant differences between genotypes, but lower values to *C. canephora* in the exclusion environment were observed. There wasn't difference between genotypes for content of carotenoids, but a tendency of higher values for both in the environment with presence of UV was observed. Regarding the content of anthocyanin, there was a tendency of higher values for both genotypes in the presence of UV. Therefore, our results show that in most variables evaluated in *C. arabica* and *C. canephora*, there wasn't significant differences between the environments, which demonstrates the maintenance of leaf pigments concentration in both conditions.

KEY WORDS: clorophyll, *Coffea canephora*, *Coffea arabica*, stress, UVB, UVA.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o cafeeiro é uma das principais commodities de interesse econômico, sendo o *Coffea arabica* L. (café Arábica) e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (café Robusta/Conilon), as duas espécies mais cultivadas e, na safra de 2018, responsáveis por produzir juntas cerca de 51 milhões de sacas beneficiadas (Conab, 2019). A cadeia produtiva do café é distribuída em 2 milhões de hectares com cerca de 300 mil produtores, predominando pequenos, em aproximadamente 1.900 municípios, distribuídos nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo, Bahia, Rondônia, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás, Mato Grosso, Amazonas e Pará, movimentando aproximadamente US\$ 5,2 bilhões ao ano (MAPA, 2018). Atualmente, muito já se sabe sobre o impacto das mudanças climáticas na cafeicultura, gerando impactos negativos por meio das previsões do zoneamento agroclimático do café no Brasil, com perdas de áreas cultiváveis (Assad et al., 2004). Adicionalmente, é previsto um impacto na variabilidade do café arábica (Camargo et al., 2010), redução na produtividade no México (Gay et al., 2006) e a extinção de populações selvagens de *C. arabica* na Etiópia (Davis et al., 2012). Apesar de o Protocolo de Montreal (1987), o qual definiu a recuperação da camada de ozônio a partir da proibição do uso de substâncias que reagem com ozônio, a superfície da terra recebe aproximadamente 2 e 14 kJ m⁻² por dia de raios UVB, um aumento de 6 e 14% desde o ano de 1980 (Forster et al., 2011). Além disso, é previsto que estes valores tripliquem até o ano de 2065 (Aucamp, et al., 2011). Neste aspecto, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos para verificar os efeitos do aumento da radiação UV (Lidon et al., 2011; Kataria et al., 2014; Kakani et al., 2003; Taalas, et al., 2000; Bernal, et al., 2015; Tegelberg, et al., 2002). No entanto, ainda são escassos os estudos por meio da técnica de exclusão da radiação UV para verificar se os níveis atuais da radiação UV já impõem algum custo adicional para as culturas, sobretudo no cafeeiro. As lavouras cafeeiras no Brasil são, em sua maioria, desenvolvidas em pleno sol, onde os efeitos da radiação são mais pronunciados (Kataria, et al., 2014). Portanto é extremamente importante a caracterização dos efeitos dos raios UV na cultura do cafeeiro em nível morfológico, fisiológico e bioquímico, bem como identificar as possíveis estratégias desenvolvidas pelas plantas para amenizar os efeitos prejudiciais desta radiação.

MATERIAL E MÉTODOS

O efeito da exclusão da irradiação UV foi avaliado em plantas de *C. arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC 62 e *C. canephora* cv. Lb1. As mudas adquiridas de viveiros idôneos, apresentando alto padrão de qualidade, foram transplantadas para vasos de 30 litros contendo subsolo com pH corrigido (pH = 6) acrescido de 5% de matéria orgânica e 80 gramas de Osmocote® (4-5 meses), mantendo-se a umidade do vaso na capacidade de campo. O experimento foi realizado em Campos dos Goytacazes (21°44'47" S e 41°18'24" W e 10 m de altitude) na Universidade Estadual do Norte Fluminense. Ao total, foram utilizadas 32 plantas, de maneira que 16 (oito de cada espécie) foram mantidas em uma mini casa de vegetação, sob placas de policarbonato que filtra radiação UV (sem UV) (SUV) e as outras 16, em outra mini casa de vegetação, sob placas de vidro que não filtra a radiação UV (com UV) (CUV). Com auxílio de um espectrorradiômetro (OceanOptics model USB2000+), foram mensurados os comprimentos de onda alcançando em cada mini casa de vegetação. Para a determinação dos pigmentos, cinco discos (área de 28 mm² de cada disco) de folhas completamente expandidas foram colocados em tubos de ensaio protegidos com papel alumínio, contendo 5 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) e mantidos a 70°C por 30 minutos no escuro (Hiscox e Israelstam, 1979). Após a extração dos pigmentos fotossintéticos por meio do DMSO, foi retirada uma alíquota de 3 mL de cada tubo e neste volume do extrato, foi realizada as leituras no espectrofotômetro (700Plus Femto, São Paulo, Brasil) em comprimento de onda de 480, 669 e 665 nm. A partir destas leituras e da metodologia proposta por Wellburn (1994), foram determinados os teores de clorofila a (Chl *a*), clorofila b (Chl *b*), clorofilas totais (CT) e carotenoides (Car). A partir destas variáveis, foi possível obter a relação entre a: Chl *a*/Chl *b*. Ainda, neste experimento foi possível quantificar o teor de antocianinas nas folhas das duas espécies em estudos e nas duas condições de cultivo. Para a determinação de antocianinas, cinco discos (área de 28 mm² de cada disco) de folhas completamente expandidas foram colocados em tubos de ensaio

protegidos com papel alumínio. Foi utilizado metanol acidificado com HCl. Os discos foram mantidos a 4° C por um período de 24 horas; posteriormente, foram analisados em espectrofotometro a 530 nm. As variáveis foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando recursos computacionais do Programa GENES (Cruz, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ambiente CUV, a maior média de valores de Fluxo de Fótons fotossintéticos (FFF) no segundo semestre de 2018 foi obtida em dezembro, com valores máximos de 2500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e mínimos de 247 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No ambiente SUV, e no mesmo período, foram obtidos valores máximos de 2201 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e mínimos de 98 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (médias de 30 dias consecutivos) (Figura 1A,1B). Ainda em dezembro, e em ambas as casas, para a variável temperatura do ar, foram obtidos valores médios máximos de 42 °C e mínimos de 22 °C (Figura 1C,1D).

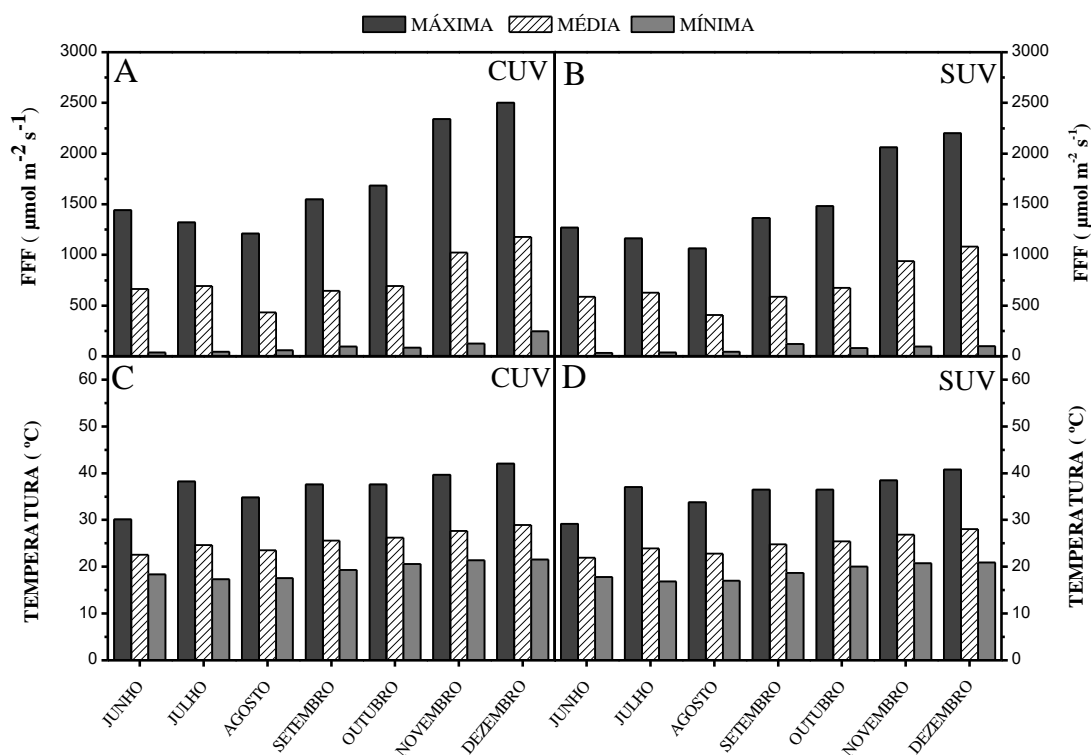


Figura 1: Valores máximos, médios e mínimos de Fluxo de Fótons Fotossintéticos (FFF) (A e B) Temperatura (C e D). Os valores representam a média mensal (± 30 dias) de cada mês durante o segundo semestre de 2018 na casa com UV (CUV) e na casa sem UV (SUV).

A potência recebida por unidade de área dos raios ultravioleta A (UVA) e ultravioleta B (UVB) em ambas as casas foi mensurada com auxílio de um espectroradiômetro (OceanOptics model USB2000+, USA). No período de maior incidência de FFF (dezembro), foram observados valores máximos para os raios UVA de 20 W m^{-2} no ambiente CUV e 6 W m^{-2} no ambiente SUV, uma queda de 70% destes raios no ambiente SUV (Figura 2A,2C). Em relação aos raios UVB, foram observados no mesmo período, valores de 1,4 W m^{-2} e 0,4 W m^{-2} para CUV e SUV respectivamente, o que se observou uma queda de $\pm 72\%$ na incidência desses raios no ambiente SUV (Figura 2B,2D).

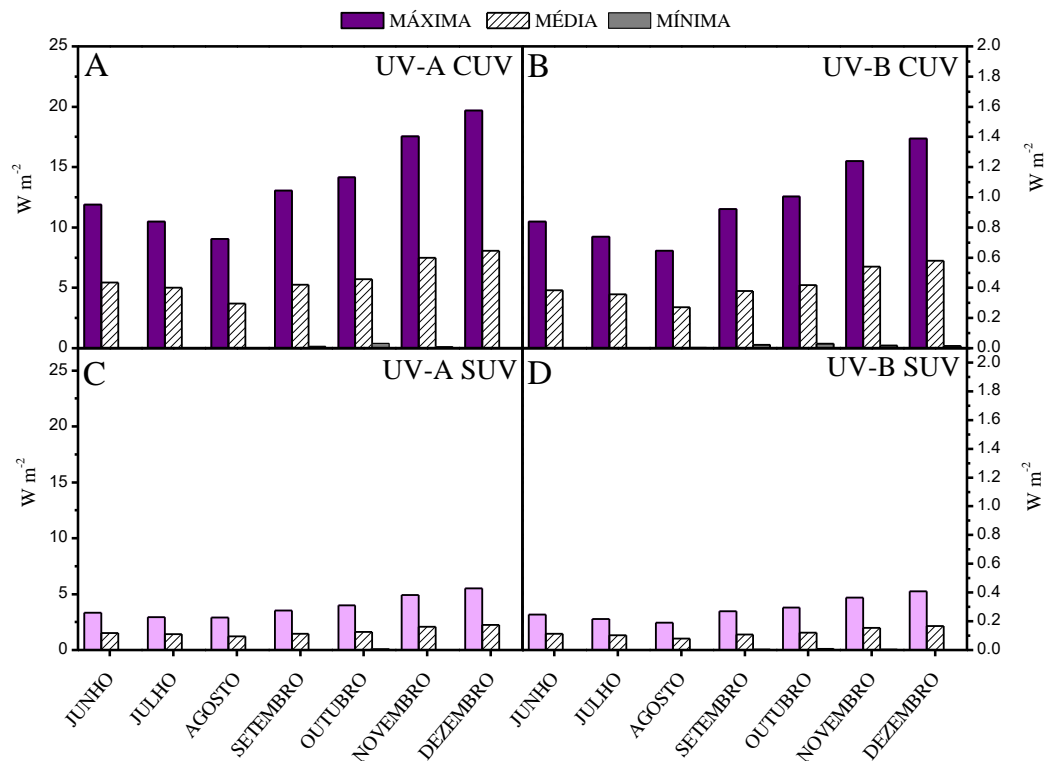


Figura 2: Valores máximos, médios e mínimos do índice do ultravioleta A (A e C), e ultravioleta B (B e D). Os valores representam a média mensal (± 30 dias) de cada mês durante o segundo semestre de 2018 na casa com UV (CUV) e na casa sem UV (SUV).

Em relação aos pigmentos fotossintéticos (Figura 3), o Clone IB1 e o Catuai 65 não mostraram diferenças significativas entre si no conteúdo de clorofila *a*. Contudo, foi observado uma tendência de menores valores para o IB1 no ambiente de exclusão do ultravioleta. Para clorofila *b*, os padrões se mostraram similares aos de clorofila *a*, sem diferenças significativas entre os genótipos e ambientes. Contudo, em ambas as condições, o Catuai 65 teve uma tendência em valores superiores quando se comparado ao IB1. Conseqüentemente, os valores de clorofila total (Chl *a* + Chl *b*) não tiveram diferenças significativas entre o IB1 e Catuai 65 em ambos os ambientes, apenas uma tendência de valores menores para IB1 em ambiente de exclusão, sem causar impactos significantes. O aumento dos raios UV, podem levar a degradação dos pigmentos fotossintéticos e a síntese *de novo* destes pigmentos (Xing-Chun, et al., 2011), e em contrapartida, a exclusão destes raios podem levar a um incremento nos teores de clorofila *a* e clorofila *b* em tecidos foliares (Kataria, et. al, 2013). Neste estudo, o ambiente com a presença dos raios UV e o ambiente de exclusão, não causaram efeitos significativos sobre as concentrações dos pigmentos fotossintéticos nas folhas dos genótipos em estudo. Em relação ao teor de carotenóides, não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos, apenas uma tendência de valores mais altos para o IB1 e Catuai 65 no ambiente de com a presença dos raios UV. Uma vez que estas moléculas atuam na proteção contra o dano causado pela alta irradiação, tal fato comprova o investimento no teor de carotenoides. (Young, et al., 1997).

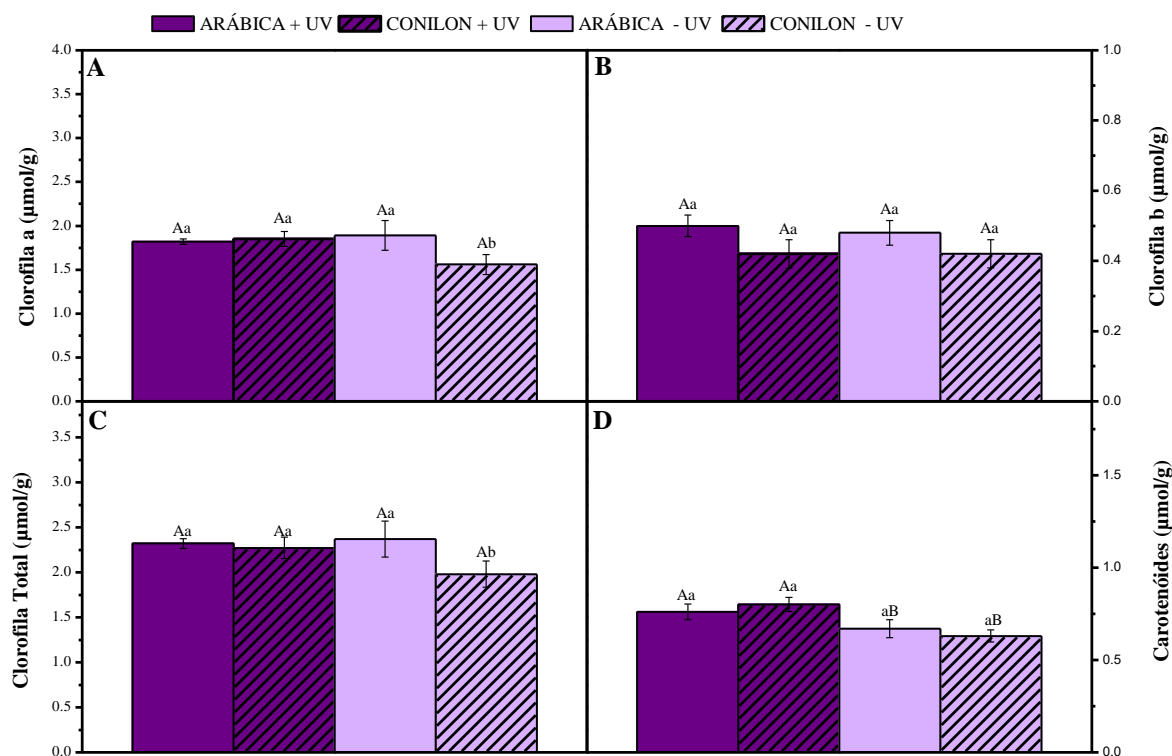


Figura 3: Valores médios de Clorofila *a* (A); Clorofila *b* (B); Clorofila Total (C) e Carotenóides (D); Em plantas de café cultivadas em mini casa de vegetação com a presença do ultravioleta e mini casa de vegetação com a exclusão do ultravioleta.

Além dos carotenoides, as antocianinas também desempenham um papel essencial como componente de defesa contra os efeitos dos raios UV (Holton, et al., 1995). Neste presente estudo, não foram obtidas diferenças significativas para os teores destes pigmentos em ambos os genótipos. Contudo, pode-se observar, uma tendência de maior síntese no ambiente com a presença dos raios ultravioletas, atuando possivelmente na proteção da folha. No entanto, a tendência de baixos teores em ambientes com exclusão UV, mostram que estes raios mesmo em pequenas quantidades ainda são capazes de gerar respostas fotomorfogênicas em plantas, dentre elas a biossíntese de antocianina.

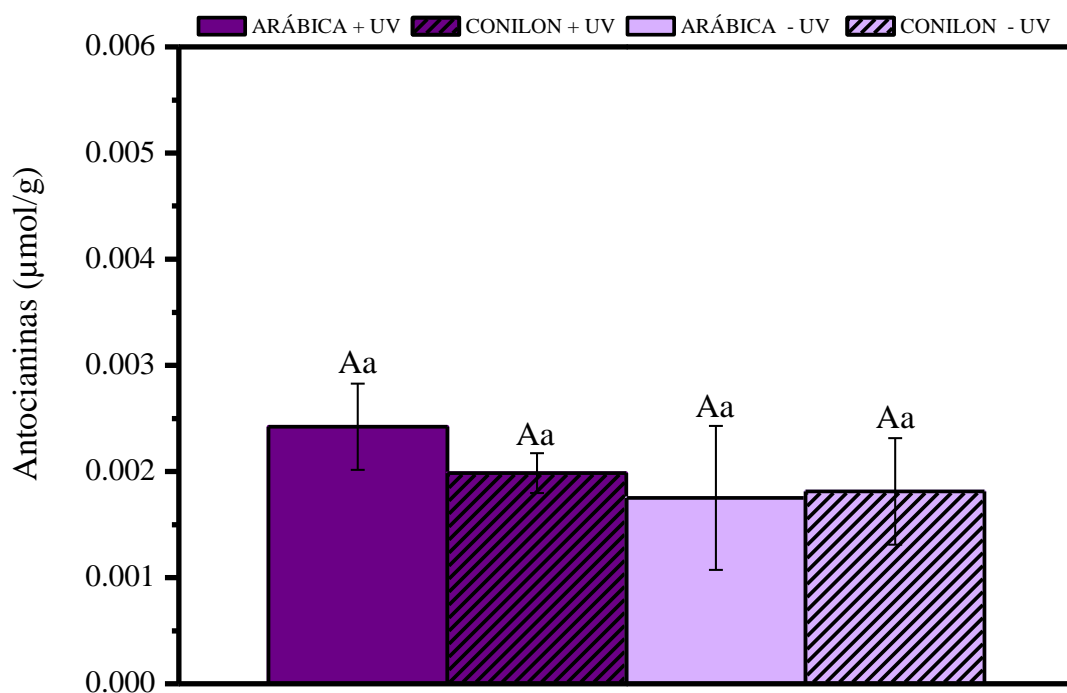


Figura 4: Valores médios de Antocianinas em plantas de café cultivadas em mini casa de vegetação com a presença do ultravioleta e mini casa de vegetação com a exclusão do ultravioleta.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados, a exclusão de $\cong 70\%$ dos raios UVB e UVA, não resultaram em diferenças significativas em relação ao ambiente com 100% destes raios para as variáveis: teor de clorofila, carotenoides e antocianinas, tanto para o genótipo de *C. arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC 62 quanto para o *C. canephora* cv. Lb1, o que pode mostrar a manutenção na concentração dos pigmentos foliares (fotossintéticos e de proteção) em ambas as condições.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Assad, E.D., Pinto, H.S., Zullo JR, J., Ávila, A.M.H. (2004) Impacto das mudanças climáticas no zoneamento agroclimático do café no Brasil. *Pesqui. Agropec.Bras.* 39: 1057-1064.
- Holton, T. A., & Cornish, E. C. (1995). Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7), 1071.
- Davis, A.P., Gole, T.W., Baena, S., Moat, J. (2012) The impact of climate change on indigenous arabica coffee (*Coffea arabica*): predicting future trends and identifying priorities. *PLoS ONE* 7: e47981.
- Kataria, S., Guruprasad, K.N., Ahuja, S., Singh, B. (2013) Enhancement of growth, photosynthetic performance and yield by exclusion of ambient UV components in C3 and C4 plants. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 127: 140–152.
- Kataria, S., Jajoo, A., Kadur N. Guruprasad, D.A. (2014) Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 137: 55–66.
- Lidon, F.C., Ramalho, J.C. (2011) Impact of UV-B irradiation on photosynthetic performance and chloroplast membrane components in *Oryza sativa* L.. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 104 (2011) 457–466.
- Young, A., Phillip, D., Savill, J., 1997. Carotenoids in higher plant photosynthesis. In: Pessaraki, M. (Ed.), *Handbook of Photosynthesis*. Marcel Dekker, New York, pp. 575–596.
- Gay, C., Estrada, F., Conde, C., Eakin, H., & Villers, L. (2006). Potential impacts of climate change on agriculture: a case of study of coffee production in Veracruz, Mexico. *Climatic Change*, 79(3-4), 259-288.
- Forster, P. M., Thompson, D. W. J., Baldwin, M. P., Chipperfield, M. P., Dameris, M., Haigh, J. D., & Seidel, D. J. (2011). Stratospheric changes and climate, Chapter 4 in *Scientific Assessment of Ozone Depletion: 2010*. Global Ozone Research and Monitoring Project–Report, 52516.
- Aucamp, P. J., Björn, L. O., & Lucas, R. (2011). Questions and answers about the environmental effects of ozone depletion and its interactions with climate change: 2010 assessment. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 10(2), 301-316.
- Kakani, V.G., Reddy, K.R., Zhao, D., Sailaja, K. (2003) Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. *Agric. Forest Meteorol.* 120: 191–218.
- Taalas, P., Amanatidis, G. T., & Heikkilä, A. (2000). European conference on atmospheric UV radiation: overview. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 105(D4), 4777-4785.
- Bernal, M., Verdager, D., Badosa, J., Abadía, A., Llusià, J., Peñuelas, J., ... & Llorens, L. (2015). Effects of enhanced UV radiation and water availability on performance, biomass production and photoprotective mechanisms of *Laurus nobilis* seedlings. *Environmental and experimental botany*, 109, 264-275.
- Tegelberg, R., Aphalo, P. J., & Julkunen-Tiitto, R. (2002). Effects of long-term, elevated ultraviolet-B radiation on phytochemicals in the bark of silver birch (*Betula pendula*). *Tree physiology*, 22(17), 1257-1263.
- Hiscox, J.D., Israelstam, G.F. (1979) A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, 57: 1332-1334.
- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144(3), 307-313.
- Cruz CD (2013). Programa Genes (Versão windows): Aplicativos Computacionais em Genética e Estatística. UFV, Viçosa.
- Protocol, M. (1987). Montreal protocol on substances that deplete the ozone layer. Washington, DC: US Government Printing Office, 26, 128-136.
- MAPA. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento Do Brasil. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe>. Acesso em 14 de agosto de 2019.
- CONAB. Café Brasil: Série histórica de produção: Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_09_30_11_17_06_boletim_cafe_marco_2019.pdf. Acesso em 23 de julho de 2019.
- Camargo, M. B. P. D. (2010). The impact of climatic variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil. *Bragantia*, 69(1), 239-247.
- Wu, X. C., Fang, C. X., Chen, J. Y., Wang, Q. S., Chen, T., Lin, W. X., & Huang, Z. L. (2011). A proteomic analysis of leaf responses to enhanced ultraviolet-B radiation in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in UV sensitivity. *Journal of Plant Biology*, 54(4), 251.