

METABOLISMO DA SACAROSE EM CAFEEIROS SUBMETIDOS A DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO

Danielle Pereira Baliza¹, Meline de Oliveira Santos², José Donizeti Alves³,
Rubens José Guimarães⁴, Rodrigo Luz da Cunha⁵

(Recebido: 19 de novembro de 2013; aceito: 28 de março de 2014)

RESUMO: Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo da sacarose e os níveis de carboidratos no endosperma de frutos de cafeeiros submetidos a diferentes níveis de sombreamento. Os tratamentos foram dispostos no delineamento de blocos casualizados (DBC) no esquema fatorial 5 x 3, sendo cinco níveis de sombreamento (pleno sol, 35, 50, 65 e 90% de sombra) e três estádios de desenvolvimento dos frutos (cereja, verde cana e verde). As variáveis analisadas foram as atividades das enzimas sacarose fosfato sintase (SPS), sacarose sintase (SuSy) e invertase ácida e, o conteúdo de açúcares solúveis totais, sacarose e glicose. O sombreamento, a partir de 50%, aumentou a atividade das enzimas invertase ácida e SuSy nos estádios verde cana e cereja. Em relação à SPS o sombreamento não alterou a sua atividade, sendo os maiores valores encontrados nos estádios verde cana e cereja. Os níveis de sombreamento até 65 % apresentaram os maiores teores de açúcares solúveis totais e sacarose nos estádios tardios de maturação, enquanto que a 90 % de sombreamento, os maiores valores foram encontrados nos estádios iniciais de desenvolvimento do fruto. O teor de glicose foi maior no estágio verde de maturação até o nível de 50 % de sombreamento, a partir do qual houve uma redução nos valores da glicose com o aumento do sombreamento. Assim, verifica-se que o sombreamento a partir de 50%, provavelmente modifica o desenvolvimento do fruto por alterar o metabolismo da sacarose no endosperma, prolongando o período de maturação.

Termos para indexação: Invertase, SPS, sacarose sintase, glicose, *Coffea arabica* L.

SUCROSE METABOLISM IN COFFEE SUBMITTED TO DIFFERENT SHADE LEVELS

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the activity of the enzymes involved in the sucrose metabolism and the carbohydrate levels on the endosperm of the coffee fruit under different shade levels. Four replicates were used, totaling 20 plots, which consisted of eight useful plants. Treatments were arranged in a randomized block design in a 5 x 3 factorial outline, being five shade levels (full sun, 35, 50, 65 and 90% shade) and three fruit development stages (green, green-yellow and cherry). The variables analyzed were the activities of the enzymes sucrose-phosphate synthase (SPS), sucrose synthase (SuSy) and acid invertase and total soluble sugars, sucrose and glucose content. The shading higher than 50% increased the activity of acid invertase and SuSy in green-yellow and cherry stages. Regarding the SPS, shading did not alter its activity, the highest values were found in the green-yellow and cherry stages. The shading levels up to 65% have the highest soluble sugar levels and sucrose in the late stages of maturation while for the 90% shading, the highest values were found in the early stages of fruit development. The glucose content was higher in the green maturation stage, up to the level of 50% shading, from which there is a decrease in glucose values with increased shading. Thus, it appears that shading higher than 50%, probably modifies the fruit development by affecting the metabolism of sucrose in the endosperm, prolonging the maturation period.

Index terms: Invertase, SPS, sucrose synthase, glucose, *Coffea arabica* L.

1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro (*Coffea arabica* L.) é originário das florestas tropicais da Etiópia, onde pode ser encontrado sob a proteção de árvores. Na América Central, a utilização de sistemas agroflorestais na cafeicultura é uma técnica antiga e muito difundida. No Brasil, embora haja predomínio do cultivo a pleno sol, o uso de sistemas arborizados pode ser uma estratégia sustentável e economicamente viável, principalmente aos pequenos agricultores que podem obter melhores

produtividades com esse tipo de cultivo, além de proporcionar uma renda alternativa proveniente das espécies arbóreas cultivadas com o cafeeiro (BALIZA et al., 2012a, 2012b; DAMATTA et al., 2007; GOMES et al., 2008; KANTEN; VAAST, 2006). Ademais, a produção sob sombreamento pode melhorar a qualidade dos frutos, em virtude do prolongamento do período de amadurecimento, o que está relacionado com alterações no metabolismo de trigonelina, ácido clorogênico e carboidratos (VAAST et al., 2006).

¹Câmpus Avançado Bom Sucesso - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais
Rua da Independência, nº 30 - Bairro Aparecida - 37220-000 - Bom Sucesso - MG - danielle.baliza@ifsudestemg.edu.br

^{2,3}Universidade Federal de Lavras/UFLA - Departamento de Biologia/DBI - Cx. P. 3037 - 37.2000-000 - Lavras - MG
melineoli@hotmail.com, jdalves@dbi.ufla.br

⁴Universidade Federal de Lavras/UFLA - Departamento de Agricultura/DAG - Cx. P. 3037 - 37.2000-000 - Lavras - MG
rubensjg@dag.ufla.br

⁵Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais/EPAMIG - Cx. P. 3037 - 37.2000-000 - Lavras-MG - rlc@epamig.ufla.br

A síntese de carboidratos ocorre nas folhas (fonte) e são translocados para outras partes da planta (dreno), na forma de sacarose (LEITE et al., 2009). Esse carboidrato desempenha papel fundamental nas plantas, pois é uma molécula importante na distribuição de fotoassimilados e é fonte de carbono para manter o metabolismo da célula e o crescimento e desenvolvimento da planta, havendo constantes alterações nas relações fonte-dreno, ao longo da vida do vegetal (ROITSCH; GONZALEZ, 2004).

As disponibilidades de metabólitos, principalmente hexoses, para a síntese de sacarose e demanda por produtos de sua degradação, são fatores importantes a vários processos biológicos e são controlados por enzimas de síntese e de degradação. A rota de catabolismo da sacarose apresenta importantes implicações para a conservação de energia e alocação de carbono em células não fotossintetizantes (BARRATT et al., 2009).

A relação entre o desenvolvimento de frutos de cafeeiro e o metabolismo de carboidratos tem estimulado pesquisadores principalmente devido à função que os açúcares desempenham no crescimento vegetal e seus impactos na qualidade dos frutos (FARAH et al., 2006; GEROMEL et al., 2006, 2008; JOËT et al., 2010; LAVIOLA et al., 2007; VAAST et al., 2006). No entanto, a maioria desses estudos são realizados no estágio cereja e com poucos níveis de radiação (GEROMEL et al., 2006, 2008; SOMPORN et al., 2012; VAAST et al., 2006), o que leva à falta de informações sobre a evolução do perfil de carboidratos nos frutos, durante o seu crescimento e desenvolvimento.

A sacarose é essencial para a qualidade da bebida de café, pois é um precursor de vários compostos químicos que participam do aroma e sabor (FARAH et al., 2006), mas pouco se sabe sobre sua partição e sobre as enzimas que controlam seu metabolismo, como invertases (EC 3.2.1.26), sintase da sacarose fosfato (SPS: EC 2.4.1.14) e sintase da sacarose (SuSy: EC 2.4.1.13) (GEROMEL et al., 2008).

Invertases catalisam a hidrólise irreversível de sacarose em glicose e frutose e estão envolvidas em vários aspectos do ciclo de vida vegetal e de respostas aos estímulos ambientais, uma vez que as hexoses contribuem com a manutenção da força do dreno, síntese de produtos para armazenamento e sinalização (KOCH, 2004; ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004; RUAN et al., 2010). Em contrapartida, a SPS funciona no sentido da síntese de sacarose (UDP-glicose + frutose-P → sacarose-P + UDP), enquanto que a SuSy catalisa uma reação reversível (UDP-glicose + frutose ↔ sacarose + UDP) (STURM; TANG, 1999).

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a atividade de enzimas relacionadas com o metabolismo da sacarose e os níveis de carboidratos no endosperma de frutos de cafeeiro, em diferentes estádios de maturação, produzidos sob diferentes níveis de sombreamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Cafeicultura do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada no município de Lavras-MG, cujas coordenadas geográficas são: 21° 14' S e 45° 00' W, com altitude média de 918 m. A temperatura média anual do ar da região é de 19,4 °C e as médias anuais de temperaturas máxima e mínima são 26,1 e 14,8 °C, com precipitação anual de 1.529,7 mm (BRASIL, 1992). O clima da região é classificado, segundo Köppen, como do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb, com duas estações distintas: seca (abril a setembro) e chuvosa (outubro a março).

O experimento foi conduzido em uma lavoura de *Coffea arabica* L., cultivar Acaíá Cerrado, linhagem MG-1474, implantada no ano de 1998, no espaçamento de 3,5 m x 0,5 m e renovados por meio de recepa, em 2007. Após o início da primeira produção, em maio de 2009, as plantas foram submetidas a cinco níveis de sombreamento: pleno sol (0%) e sob sombrites de 35, 50, 65 e 90% de sombra. A coleta dos frutos em diferentes estádios de maturação (verde, verde cana e cereja) foi realizada manualmente e no mesmo dia, em julho de 2010 (após 14 meses de condução da lavoura nestas condições experimentais). Os frutos foram colhidos, as sementes foram extraídas, desmuciladas manualmente e, posteriormente, secadas sob temperatura ambiente até atingirem 13% de umidade. Os tratamentos foram avaliados em relação às atividades das enzimas invertase ácida (IA), sacarose sintase (SuSy), sacarose fosfato sintase (SPS) e conteúdo de açúcares solúveis totais, sacarose e glicose em frutos nos estádios de desenvolvimento verde, verde-cana e cereja.

Para a determinação da atividade enzimática, o material vegetal foi macerado em nitrogênio líquido, utilizando tampão Hepes 100 mM, pH 7,0 contendo 2 mM MgCl₂, 5 mM EDTA, 10 mM 2-mercaptoetanol e 2% de ácido ascórbico. Para cada 1 g de material foi utilizado 5-7 mL de tampão resfriado a 4 °C. O extrato foi deixado em gelo por 30 minutos, com agitação ocasional e depois centrifugado a 27.000 xg por 20 minutos, a 4 °C.

Os sobrenadantes foram recuperados e passados em colunas PD10 – Sephadex G25 (Amersham biosciences). A eluição foi feita com tampão Hepes 20 mM, pH 7,0. Nos extratos filtrados, foram determinados os teores de proteínas (BRADFORD, 1976).

A composição do meio de reação para a invertase ácida foi 60 µg de proteína, 25 mM de sacarose e tampão citrato 50 mM, pH 3,5. As reações foram incubadas por 1 hora, a 37 °C e paralisadas, congelando as amostras em nitrogênio líquido. Os açúcares redutores foram dosados pelo método de DNS (MILLER, 1959). A atividade da enzima sacarose sintase foi avaliada na direção de síntese de sacarose, em um meio contendo 60 µg proteína, 25 mM de uridina 5'-difosfoglicose (UDPG), 25 mM de D-frutose e tampão MES 50 mM, pH 6,0. As reações foram incubadas por 1 hora, a 30 °C e paralisadas com a adição de KOH 30% e fervidas por 10 minutos. A sacarose formada foi dosada pelo método de Handel (1968). Para a avaliação da atividade da sacarose fosfato sintase 60 µg proteína foram adicionados a um meio de incubação contendo 25 mM de UDPG, 25 mM de frutose 6-fosfato, 30 mM de glicose 6-fosfato, 20 mM de fenil-β-glicoside e tampão fosfato 50 mM, pH 7,5. As reações foram incubadas por 1 hora, a 37 °C e paralisadas com a adição de KOH 30% e fervidas por 10 minutos. A sacarose formada foi dosada pelo método de Handel (1968).

Os açúcares solúveis totais, sacarose e glicose foram extraídos de 5 g de massa fresca de endosperma dos frutos pelo método de Lane-Enyon, citada pela Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990), e determinados pela técnica de Somogyi, adaptada por Nelson (1944).

Os tratamentos foram dispostos no delineamento de blocos casualizados (DBC) no esquema fatorial 3x5, sendo três estádios de maturação (verde, verde cana e cereja) e cinco níveis de sombreamento (pleno sol, 35%, 50%, 65% e 90%), com quatro repetições de dez plantas, sendo oito plantas úteis. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas plantas cultivadas a pleno sol e com 35% de sombreamento houve comportamento semelhante em relação à atividade da enzima

invertase ácida, em que os maiores valores foram obtidos no estádio verde, seguido dos demais estádios de desenvolvimento do fruto. Com o aumento do sombreamento, aos níveis de 50 e 65%, ocorreu um aumento da atividade dessa enzima nos frutos colhidos no estádio cereja. Enquanto no maior nível de sombra (90%), as maiores médias foram encontradas nos estádios verde e verde-cana (Figura 1).

Com relação aos estádios de maturação, para o estádio verde a maior atividade da invertase ácida foi observada a pleno sol, enquanto para o estádio cereja nos níveis de 50 e 65% de sombra. Já para o estádio verde-cana não houve um padrão, sendo as maiores atividades verificadas a pleno sol, 65 e 90% de sombreamento (Figura 1).

A alteração no comportamento da invertase ácida (Figura 1) demonstrou que o sombreamento a partir de 50% provavelmente alterou o desenvolvimento do fruto, uma vez que a atividade aumentou em todos os estádios, prolongando o período de maturação. Estudos têm demonstrado que o declínio da atividade da invertase ácida é um critério para a célula se tornar madura (MATSUMOTO et al., 2010). Plantas sombreadas naturalmente ou artificialmente, podem fornecer grãos de café de melhor qualidade, favorecendo um lento amadurecimento, o que permite um maior tempo para completar o enchimento do grão, além de mudanças nas composições químicas dos frutos (FAGAN et al., 2011; VAAST et al., 2006).

As invertases ácidas, com atividade em pH 3,5 – 5 ou estão ligadas à parede celular, envolvidas na partição de sacarose, fora dos tecidos dreno, no apoplasto, estabelecendo um gradiente de concentração de sacarose da fonte para o dreno, ou estão localizadas nos vacúolos das células, relacionadas com o armazenamento de açúcares, regulação osmótica, expansão celular e respostas ao estresse abiótico (KOCH, 2004; ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004). De acordo com a hipótese de que as hexoses favorecem a divisão e expansão celular, as invertases servem de indicador para iniciação e expansão de novas estruturas de drenos (KOCH; ZENG, 2002). A invertase extracelular é uma enzima-chave na rota de descarregamento apoplástico. A distribuição de carboidratos por essa rota permite um mecanismo para um ajuste rápido e flexível, de acordo com a variação na demanda (ROITSCH et al., 2003). Essa invertase tem sido associada ao transporte de açúcares em zonas de crescimento ativo, tais como frutos (ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004).

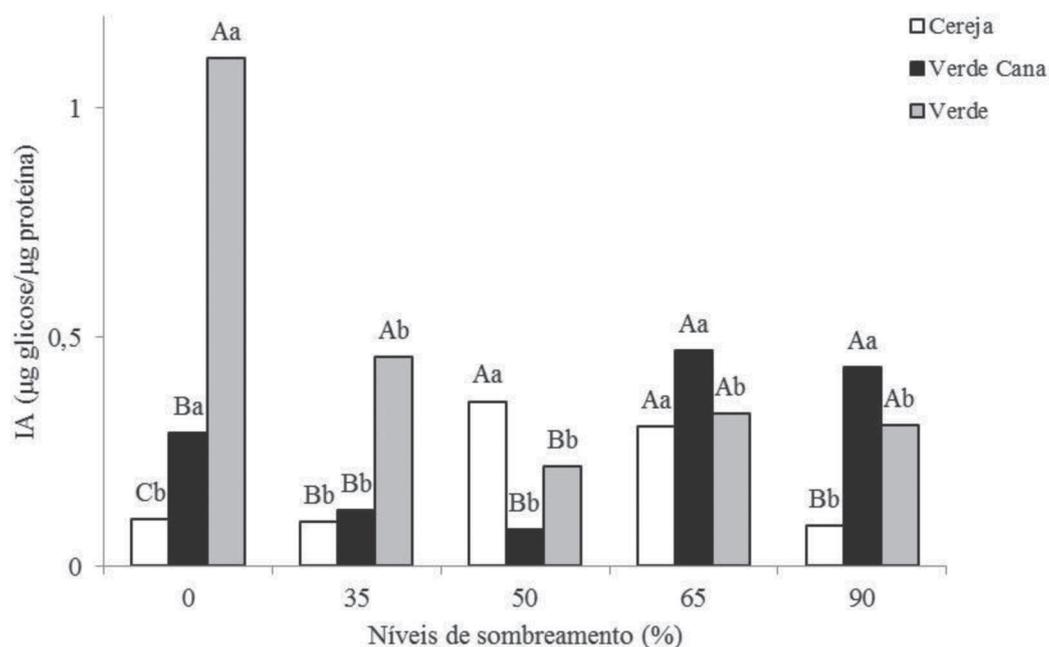


FIGURA 1 - Atividade da invertase ácida (IA) em endosperma de frutos de cafeeiros coletados, em diferentes estádios de maturação produzidos sob diferentes níveis de sombreamento. Letras maiúsculas comparam médias entre os estádios de desenvolvimento dos frutos, dentro de cada nível de sombreamento, e letras minúsculas comparam as médias de cada estádio de desenvolvimento entre os níveis de sombreamento, com base no teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

A invertase vacuolar (IAV) parece controlar a rota primária de clivagem da sacarose em tecidos em expansão e em tecidos maduros e contribui para o fluxo de hexose através do tonoplasto e para a entrada de hexoses no metabolismo citoplasmático (KOCH, 2004; ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004).

A maior atividade da invertase ácida em frutos verdes, provenientes do pleno sol e do sombreamento de 35% (Figura 1), pode estar relacionada ao fato de que nessa fase de desenvolvimento os frutos se expandem rapidamente, atingindo seu crescimento máximo (PEZZOPANE et al., 2003). Por outro lado, a alta atividade encontrada também em frutos verde-cana, provenientes do sombreamento de 90% (Figura 1), reforça a evidência de um amadurecimento mais lento desses frutos.

Para a atividade da SuSy (Figura 2) não foi observada diferença significativa entre os estádios de desenvolvimento dos frutos colhidos a pleno sol e com 35% de sombra. Já para os níveis de sombreamento com 50 e 65%, a maior atividade dessa enzima foi apresentada pelo estádio verde-cana. Entretanto, com maior nível de sombra os

frutos no estádio de desenvolvimento cereja foram os que apresentaram maior atividade dessa enzima.

No que se refere aos estádios de maturação, para o verde e o verde-cana, as menores atividades da Susy foram observadas a 90% de sombra, enquanto para o estádio cereja os maiores valores foram encontrados a pleno sol, 35 e 90% de sombra (Figura 2).

Assim como para a invertase ácida, o sombreamento a partir de 50% modificou a atividade da SuSy entre os estádios de maturação, sendo maior nos estádios mais tardios de desenvolvimento, o que pode estar relacionado com o menor desenvolvimento do fruto. Estudos anteriores demonstraram que a atividade da SuSy em frutos diminui com o desenvolvimento, paralelamente à perda das conexões simplásticas e, eventualmente, acaba caindo abaixo dos níveis detectáveis no início da maturação (WANG et al., 1993).

Em relação à enzima SPS, verificou-se que não houve influência dos níveis de sombreamento sobre a sua atividade, sendo que os maiores valores foram obtidos nos estádios mais tardios de desenvolvimento (cereja e verde-cana) (Figura 3).

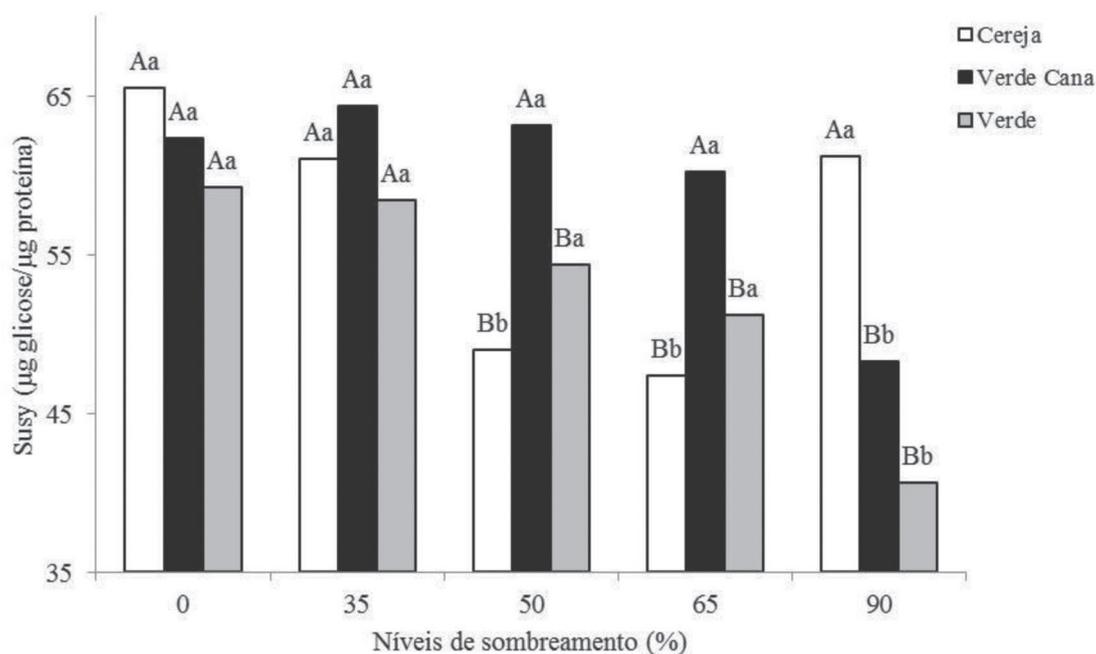


FIGURA 2 - Atividade da sacarose sintase (SuSy) em endosperma de frutos de cafeeiros, coletados em diferentes estádios de maturação, produzidos sob diferentes níveis de sombreamento. Letras maiúsculas comparam médias entre os estádios de desenvolvimento dos frutos dentro de cada nível de sombreamento, e letras minúsculas comparam as médias de cada estágio de desenvolvimento entre os níveis de sombreamento, com base no teste de Scott Knott, a 5 % de probabilidade.

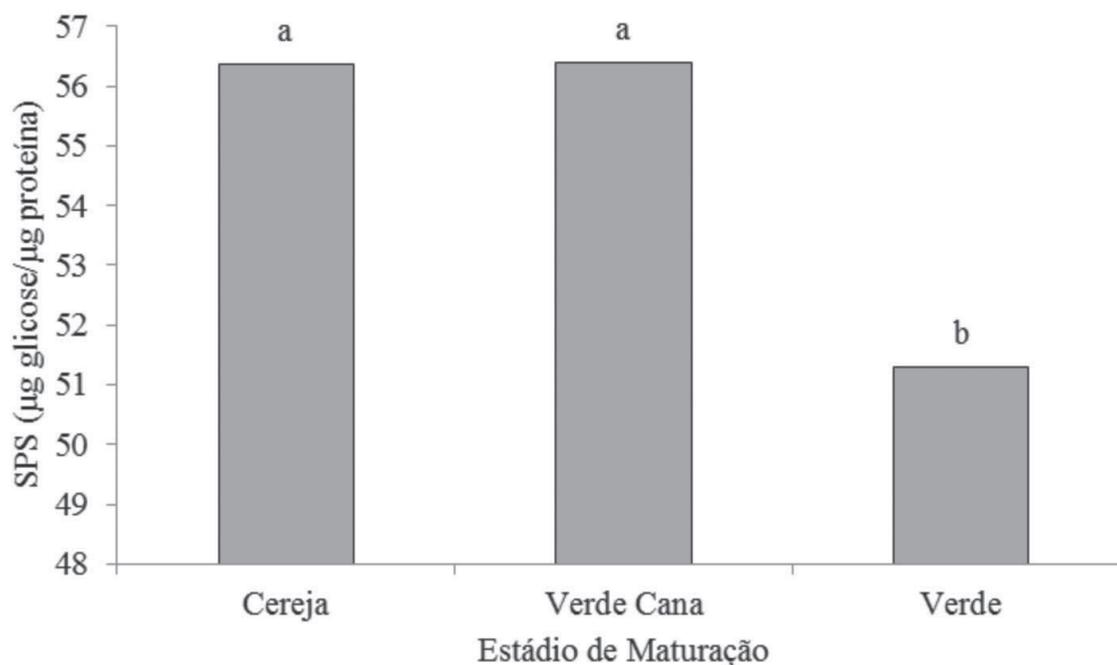


FIGURA 3 - Atividade da sacarose fosfato sintase (SPS), em endosperma de frutos de cafeeiros coletados em diferentes estádios de maturação. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott, a 5 % de probabilidade.

A SPS é uma enzima-chave na biossíntese de sacarose tanto em tecidos fotossintéticos como não fotossintéticos. Apesar de sua atividade ser bastante alta em tecidos fonte, nos tecidos dreno ela também está ativamente envolvida no ciclo de degradação e (re)síntese de sacarose o que contribui para a regulação na importação e mobilização desse carboidrato (WENDLER et al., 1991).

Em relação aos açúcares solúveis totais, sacarose e glicose, observou-se interação significativa entre os níveis de sombreamento e os estádios de maturação dos frutos. De acordo com a Figura 4, os tratamentos a pleno sol, 35, 50 e 65 % de sombreamento apresentaram os maiores teores de açúcares solúveis totais nos estádios de maturação cereja e verde-cana. Já com 90 % de sombreamento, os maiores teores de açúcares solúveis totais foram encontrados nos estádios iniciais de desenvolvimento dos grãos (verde e verde-cana). O teor de sacarose apresentou comportamento semelhante ao dos açúcares solúveis totais para os diferentes níveis de sombreamento e estádios de maturação (Figura 5), o que pode ser explicado pelo fato da sacarose representar a maioria dos açúcares solúveis totais em grãos de café maduros (GEROMEL, 2006).

A maior atividade da SPS, encontrada nos estádios mais tardios de desenvolvimento do fruto, verde-cana e cereja (Figura 3), e a maior atividade da SuSy em frutos verde-cana, nos níveis de 50 e 65% de sombra (Figura 2), possivelmente, resultaram em maiores conteúdos de açúcares solúveis totais e sacarose nesses frutos, em todos os níveis de sombreamento, exceto no de 90% em que frutos verdes também apresentaram altos valores (Figuras 4 e 5). Embora alguns trabalhos associem o aumento da atividade da SPS com o acúmulo de sacarose (MATSUMOTO et al., 2010), o mesmo não foi observado por Geromel et al. (2008) ,em grãos de café provenientes de cultivo a pleno sol e a 50% de sombra.

A colheita dos frutos de café no estágio cereja proporciona uma bebida de melhor qualidade, isso porque nesse estágio encontram-se os precursores químicos de sabor e aroma, como por exemplo a sacarose (ARRUDA; HOVELL; REZENDE, 2011; GEROMEL et al., 2006, 2008), o que pode estar relacionado com a maior atividade das enzimas envolvidas em sua síntese, nos estádios mais tardios, conforme verificado no presente trabalho.

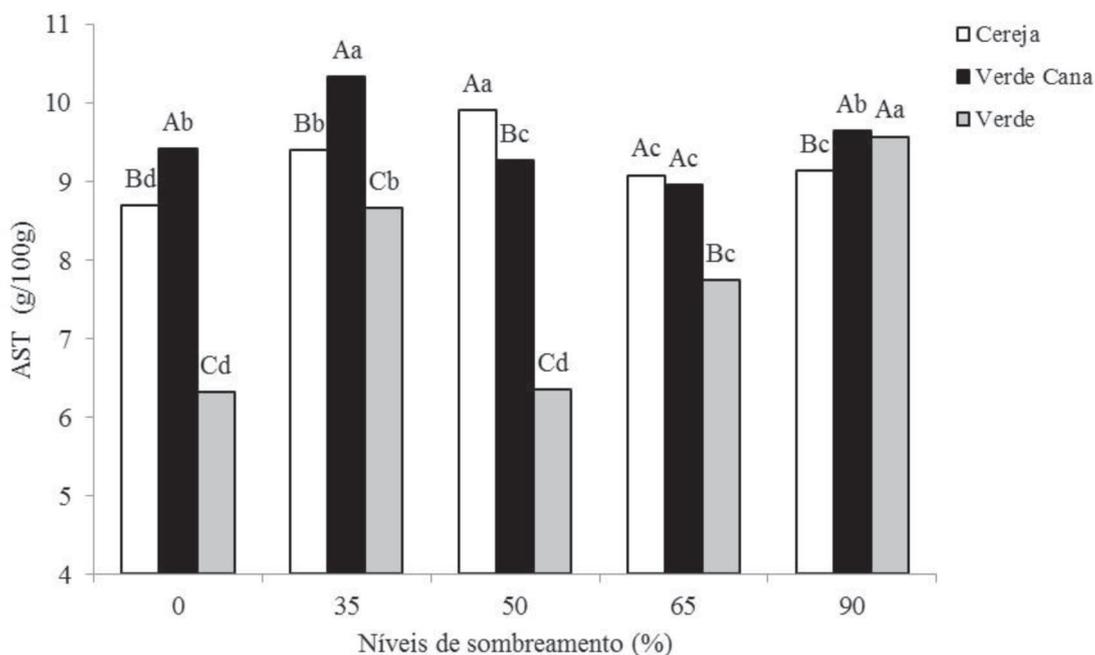


FIGURA 4 - Açúcares solúveis totais (AST) em endosperma de frutos de cafeeiros coletados em diferentes estádios de maturação, produzidos sob diferentes níveis de sombreamento. Letras maiúsculas comparam médias entre os estádios de desenvolvimento dos frutos dentro de cada nível de sombreamento, e letras minúsculas comparam as médias de cada estágio de desenvolvimento entre os níveis de sombreamento, com base no teste de Scott Knott, a 5 % de probabilidade.

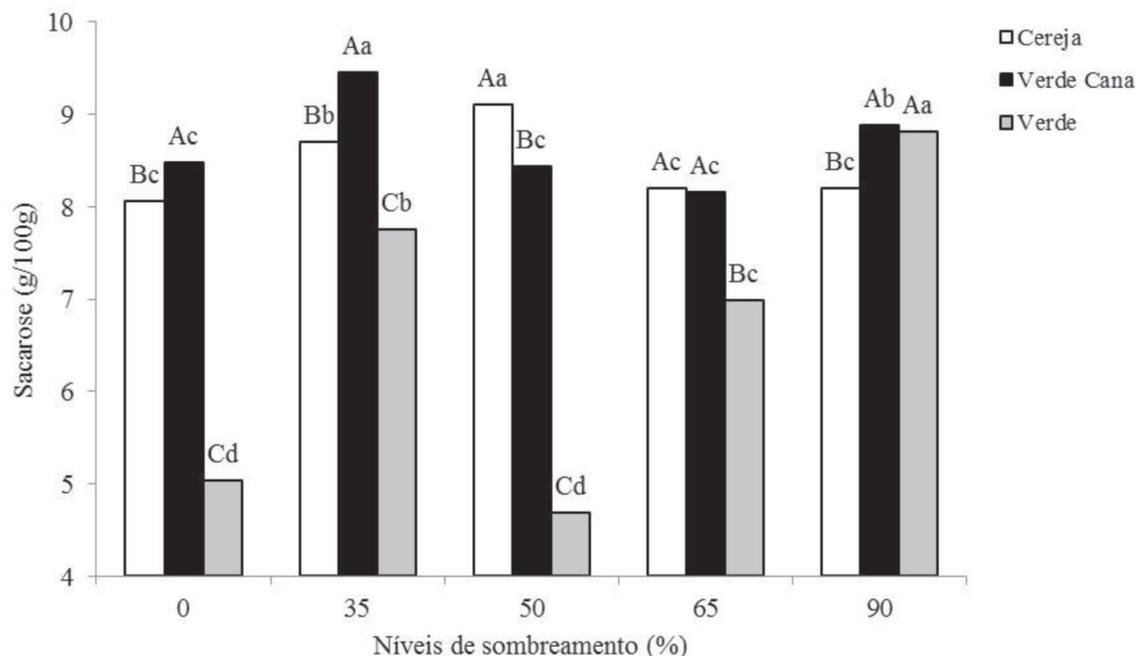


FIGURA 5 - Teor de sacarose em frutos de cafeeiros coletados em endosperma de diferentes estádios de maturação, produzidos sob diferentes níveis de sombreamento. Letras maiúsculas comparam médias entre os estádios de desenvolvimento dos frutos dentro de cada nível de sombreamento, e letras minúsculas comparam as médias de cada estágio de desenvolvimento entre os níveis de sombreamento, com base no teste de Scott Knott, a 5 % de probabilidade.

Baliza et al. (2012b), Rosa et al. (2011) e Veiga et al. (2007) observaram que o estágio de maturação cereja também proporcionou melhor qualidade das sementes de café, quando comparado com as sementes colhidas nos estádios verde-cana e verde.

Em relação aos estádios de maturação, para o estágio verde os maiores teores de açúcares solúveis totais e sacarose foram encontrados a 90% de sombra, enquanto para o estágio verde-cana, ao nível de 35%. Já para o estágio cereja, os maiores valores foram verificados em 50% de sombra (Figura 4 e 5). Somporn et al. (2012), trabalhando com frutos cereja de *Coffea arabica* L. cv. Catimor sob condição de pleno sol, sombreamento natural com árvores de lichia (~65%) e sombreamento artificial de 50, 60 e 70%, observaram um maior conteúdo de açúcares solúveis totais e sacarose em grãos cultivados sob 60% de sombra, entretanto apresentando a frutose como açúcar predominante. Por outro lado, Vaast et al. (2006) observaram que cafeeiros sombreados a 45% produziram frutos no estágio cereja com menor teor de sacarose, quando comparados aos expostos a pleno sol.

Para glicose, nos tratamentos pleno sol, 35 e 50 % de sombreamento, os maiores valores foram encontrados no estágio verde seguido pelo verde-cana e cereja, respectivamente (Figura 6). Resultados semelhantes foram encontrados por Geromel (2006), em trabalho com frutos de café produzidos a pleno sol e 50% de sombra, em que foram verificados maiores teores de açúcares redutores no início do desenvolvimento, decrescendo até os últimos estádios de maturação. Já com 65 e 90 % de sombreamento, o maior teor de glicose foi encontrado no estágio cereja, o que talvez represente um menor desenvolvimento do fruto devido ao excesso de sombreamento, uma vez que a glicose é um dos açúcares predominantes no início da maturação.

Quanto aos diferentes estádios de maturação, para o estágio verde o maior teor de glicose foi encontrado no nível de 50% de sombra, já para o verde-cana a pleno sol. Para o fruto cereja, as maiores médias foram encontradas nos maiores níveis de sombra (65 e 90%) (Figura 6). Somporn et al. (2012) observaram resultados semelhantes com frutos cereja, em que o maior conteúdo de glicose foi encontrado nos níveis de 50, 60 e 65% de sombra.

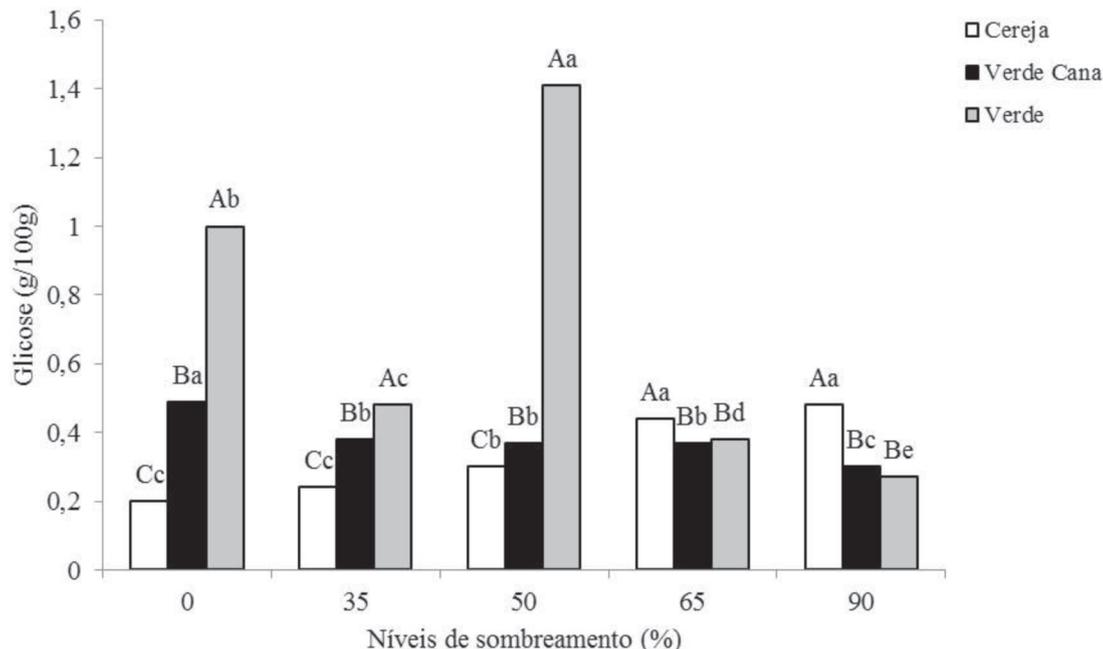


FIGURA 6 - Teor de glicose em endosperma de frutos de cafeeiros coletados em diferentes estádios de maturação produzidos sob diferentes níveis de sombreamento. Letras maiúsculas comparam médias entre os estádios de desenvolvimento dos frutos, dentro de cada nível de sombreamento, enquanto letras minúsculas comparam as médias de cada estágio de desenvolvimento entre os níveis de sombreamento, com base no teste de Scott Knott, a 5 % de probabilidade.

Como as invertases catalisam a hidrólise irreversível de sacarose formando glicose e frutose (KOCH, 2004; ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004; RUAN et al., 2010), esperava-se que houvesse uma relação evidente entre a sua atividade e os teores de açúcares redutores (GEROMEL et al., 2008). Entretanto, no presente estudo, essa relação ocorreu apenas para alguns níveis de sombreamento e estádios de maturação (Figuras 1 e 6). Esses resultados ressaltam a dificuldade encontrada por Geromel et al. (2008) em determinar esta relação direta entre atividade enzimática e níveis de açúcares.

4 CONCLUSÕES

O sombreamento a partir de 50%, provavelmente modifica o desenvolvimento do fruto, por alterar o metabolismo da sacarose no endosperma. Nos estádios verde-cana e cereja ocorrem um aumento na atividade das enzimas invertase ácida e sacarose sintase, redução dos teores de açúcares solúveis totais e sacarose e aumento do teor de glicose, o que prolonga o período de maturação dos frutos.

5 AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG, CNPq e ao INCT CAFÉ, pelo auxílio financeiro na condução dos experimentos.

6 REFERÊNCIAS

- ARRUDA, N. P.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Discriminação entre estádios de maturação e tipos de processamento de pós-colheita de cafés arábica por microextração em fase sólida e análise de componentes principais. *Química Nova*, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 819-824, fev. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422011000500017&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th ed. Washington, 1990. 684 p.
- BALIZA, D. P. et al. Physiological characteristics and development of coffee plants under different shading levels. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife, v. 7, n. 1, p. 37-43, jan./mar.

- 2012a. Disponível em: <http://agraria.pro.br/sistema/index.article&op=view&path%5B%5D=agraria_v7i1a1305&path%5B%5D=1054>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- BALIZA, D. P. et al. Physiological quality of coffee seeds produced under different levels of solar radiation and maturation stages. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 34, n. 3, p. 416-423, 2012b. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000300008&lng=pt&nr=m=iso&tlng=en>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- BARRATT, D. H. P. et al. Normal growth of Arabidopsis requires cytosolic invertase but not sucrose synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 106, n. 31, p. 13124-13129, Aug. 2009. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/106/31/13124.full?sid=aaefe40a-c70b-43ba9951efa41a4f8f09>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Analytical Biochemistry*, New York, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, May 1976. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269776905273>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Normas climatológicas: 1961-1990. Brasília: SSP/ EMBRAPA, 1992. 84 p.
- DAMATTA, F. M. et al. Ecophysiology of coffee growth and production. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Campos dos Goytacazes, v. 19, n. 4, p. 485-510, Oct./Nov. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>.
- FAGAN, E. B. et al. Efeito do tempo de formação do grão de café (*Coffea* sp) na qualidade da bebida. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 27, n. 5, p. 729-738, set./out. 2011. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/7172/7887>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*, London, v. 98, n. 2, p. 373-380, Apr./June 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460500614X>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>.
- GEROMEL, C. Metabolismo da sacarose em frutos de café. 2006. 115 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- GEROMEL, C. et al. Biochemical and genomic analysis of sucrose metabolism during coffee (*Coffea arabica*) fruit development. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 57, n. 12, p. 3243-3258, Aug. 2006. Disponível em: <<http://jxb.oxfordjournals.org/content/57/12/3243.abstract>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- GEROMEL, C. et al. Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. *Plant Physiology and Biochemistry*, New Delhi, v. 46, n. 5/6, p. 569-579, May/June 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S098194280800034X>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- GOMES, I. A. C. et al. Alterações morfofisiológicas em folhas de *Coffea arabica* L. cv. 'Oeiras' sob influência do sombreamento por *Acaia mangium* Willd. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 109-115, fev. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>.
- HANDEL, E. van. Direct microdetermination of sucrose. *Analytical Biochemistry*, New York, v. 22, n. 2, p. 280-283, Feb. 1968. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269768903175>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- JOËT, T. et al. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food Chemistry*, London, v. 118, n. 3, p. 693-701, Feb. 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609007031>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- KANTEN, R. V.; VAAST, P. Transpiration of Arabica coffee and associated shade tree species in sub-optimal, low-altitude conditions of Costa Rica. *Agroforestry Systems*, Amsterdam, v. 67, n. 2, p. 187-202, June 2006. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/s10457-005-3744-y>>. Acesso em: 10 nov. 2013.

- KOCH, K. E. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion Plant Biology*, Stuttgart, v. 7, n. 3, p. 235-246, June 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369526604000469>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- KOCH, K. E.; ZENG, Y. Molecular approaches to altered C partitioning: genes for sucrose metabolism. *Journal American Society Horticultural Science*, Alexandria, v. 127, n. 4, p. 474-483, July 2002. Disponível em: <<http://journal.ashspublications.org/content/127/4/474.full.pdf+html>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- LAVIOLA, B. G. et al. Alocação de fotoassimilados em folhas e frutos de cafeeiro cultivado em duas altitudes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 42, n. 11, p. 1521-1530, nov. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2007001100002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- LEITE, G. H. P. et al. Reguladores vegetais e atividade de invertases em cana-de-açúcar em meio de safra. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 718-725, maio/jun. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>.
- MATSUMOTO, J. et al. Effects of nighttime heating on cell size, acid invertase activity, sucrose phosphate synthase activity, and sugar content of melon fruit. *Journal American Society Horticultural*, Alexandria, v. 135, n. 6, p. 501-505, Nov. 2010. Disponível em: <<http://journal.ashspublications.org/content/135/6/501.full.pdf+html>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, Mar. 1959. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60147a030>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- NELSON, N. A. Photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemists*, Baltimore, v. 153, n. 2, p. 375-384, 1944. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/153/2/375.full.pdf+html>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- PEZZOPANE, J. R. M. et al. Escala para avaliação de estádios fenológicos do cafeeiro Arábica. *Bragantia*, Campinas, v. 62, n. 3, p. 499-505, 2003.
- ROITSCH, T. et al. Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein. *Journal Experimental Botany*, Oxford, v. 54, n. 382, p. 513-524, Jan. 2003. Disponível em: <<http://jxb.oxfordjournals.org/content/54/382/513.full>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- ROITSCH, T.; GONZÁLEZ, M. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. *Trends in Plant Science*, London, v. 9, n. 12, p. 606-613, Dec. 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136013850400250X>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- ROSA, S. D. V. F. et al. The effect of storage conditions on coffee seed and seedling quality. *Seed Science and Technology*, Zurich, v. 39, n. 1, p. 151-164, Apr. 2011. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/ista/sst/2011/00000039/00000001/art00013>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- RUAN, Y. L. et al. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant*, Saint Paul, v. 3, n. 6, p. 942-955, Nov. 2010. Disponível em: <<http://mplant.oxfordjournals.org/content/3/6/942.full>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- SOMPORN, C. et al. Effect of shading on yield, sugar content, phenolic acids and antioxidant property of coffee beans (*Coffea Arabica* L. cv. Catimor) harvested from north-eastern Thailand. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v. 92, n. 9, p. 1956-1963, July 2012. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.5568/full>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- STURM, A.; TANG, G. Q. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Trends in Plant Science*, London, v. 4, n. 10, p. 401-407, Oct. 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138599014703>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- VAAST, P. et al. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v. 86, n. 2, p. 197-204, Jan. 2006. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.2338/full>>. Acesso em: 10 nov. 2013.
- VEIGA, A. D. et al. Armazenabilidade de sementes de cafeeiro colhidas em diferentes estádios de maturação e submetidas a diferentes métodos de secagem. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 29, n. 1, p. 83-91, abr. 2007.

WANG, F. et al. Sucrose synthase, starch accumulation, and tomato fruit sink strength. *Plant Physiology*, Davis, v. 101, n. 1, p. 321-327, Jan. 1993. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/101/1/321.full.pdf+html?sid=5c398b12-4591-4562-bc20-491a133d9dfe>>. Acesso em: 10 nov. 2013.

WENDLER, R. et al. Sucrose storage in cell suspension cultures of *Saccharum* sp. (sugarcane) is regulated by a cycle of synthesis and degradation. *Planta*, Berlin, v. 183, n. 1, p. 31-39, 1991. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/BF0019756>>. Acesso em: 10 nov. 2013.