

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**Características morfofisiológicas e bioquímicas de clones de guaraná  
*Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke cultivados sob plantio  
comercial na Amazônia**

**ENEIDA REGINA NASCIMENTO OLIVEIRA**

Manaus, Amazonas  
Julho, 2010

**ENEIDA REGINA NASCIMENTO OLIVEIRA**

**Características morfofisiológicas e bioquímicas de clones de guaraná  
*Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke cultivados sob plantio  
comercial na Amazônia**

**ORIENTADOR: Dr. JOSÉ FRANCISCO DE CARVALHO GONÇALVES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração em Botânica.

Manaus, Amazonas  
Julho, 2010

- O48 Oliveira, Eneida Regina Nascimento  
Características morfofisiológicas e bioquímicas de clones de guaraná *Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke cultivados sob plantio comercial na Amazônia / Eneida Regina Nascimento Oliveira. --- Manaus: [s.n.], 2014.  
125 f. : il. color.
- Tese (Doutorado) --- INPA, Manaus, 2014.  
Orientador: José Francisco de Carvalho Gonçalves.  
Área de concentração: Botânica.
1. *Paullinia cupana*. 2. Ecofisiologia vegetal. 3. Anatomia vegetal. I. Título.

CDD 581.5

**Sinopse:**

Clones de guaranazeiro (*Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, crescendo sob condições de plantio de produção em diferentes períodos de precipitação foram estudados com o objetivo de investigar as características morfofisiológicas e metabólicas dessas plantas, assim como identificar suas respostas às variações fenotípicas e de fatores abióticos.

Palavras-chave: Guaranazeiro, dinâmica de nutrientes, trocas gasosas, fluorescência da clorofila a, pigmentos cloroplastídicos, cafeína, anatomia foliar.

## **Dedico**

Aos meus pais Manoel Lima Nascimento e Maria do Carmo das Neves Nascimento, pessoas que me ensinaram a ter fé e persistência.

À minha querida filha Gabriele Oliveira, por entender a minha ausência durante o curso de doutorado.

Às minhas irmãs (Maria, Joaquina, Tânia, Suzzy, Conceição, Françoise, Benedita)

Aos meus irmãos (Neto e Adones).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado força para terminar essa jornada, a cada dia sempre olhando por mim, me protegendo e não deixando desistir, sempre me fazendo seguir em frente.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, pela oportunidade de realizar este curso.

À Empresa Jayoro, pela oportunidade de trabalhar em sua área de produção do guaranazeiro, pela logística e apoio em aquisição de reagentes. Assim como, aos funcionários da Empresa Jayoro, Engenheiro Walter, Fabrício, Kakisoé e aos colaboradores de campo, Suely, Humberto e Maria.

Ao Dr. José Francisco de Carvalho Gonçalves, meu querido orientador, pessoa tão sabia, centrada e líder, por ter me aceito em sua equipe de trabalho e, principalmente, por ter me apresentado formalmente à cultura do guaranazeiro. Obrigada professor pela orientação e, sobretudo, paciência em passar os ensinamentos, os quais estão sendo de grande importância na minha vida profissional. **MUITO OBRIGADA PROFESSOR!**

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (INPA/LFBV), Larissa Chevreuil, Carlos Moura, Maciel, João Victor, Michel, Andreia Varmes e, em especial, ao amigo Roniscley Santos.

Aos amigos que passaram pelo LFBV, Renata Lima, Ronaldo Ribeiro, Ulysses Santos Júnior.

A amiga Adriana Bariani, Alexandra, Lissandra e Geise, obrigada pelo apoio nas horas de fragilidade.

Ao amigo Glaudecy Ribeiro, pela ajuda no campo, principalmente, nas coletas de dados realizadas na madrugada, valeu Glaudeco, mas ainda tenho medo da onça!!!!

Ao Dr. José Ferreira (UFAM), pelo apoio e ajuda durante as negociações para aprovação do projeto pela Agropecuária Jayoro.

Aos membros do Laboratório de Botânica Florestal (LABAF), pelo apoio na logística para realização de parte de meus experimentos. Agradeço também, ao amigo Manoel pela ajuda com os cortes anatômicos e a amiga Poliana pelas conversas valiosas sobre anatomia vegetal e também por ter disponibilizado o seu tempo para ajudar a fotografar os cortes anatômicos das folhas de guaranazeiro.

A secretária do curso de Botânica (Neide), por ser atenciosa e sempre disposta a ajudar em todos os momentos.

Ao Jair por ter se disponibilizado em me acompanhar nas coletas de solo.

Bom, a todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. MEU MUITO OBRIGADA!

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

---

**Figura 1:** Média das precipitações pluviométricas dos últimos nove anos (2000 a 2009). Dados obtidos na Estação Agrometeorológica da Agropecuária Jayoro. 13

**Figura 2:** Comparação do potencial hídrico foliar nos períodos antemanhã ( $\Psi_{am}$ ), ao meio dia ( $\Psi_{md}$ ) e ao entardecer ( $\Psi_{ent}$ ) de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para potencial hídrico foliar, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=5). 39

### CAPÍTULO II

---

**Figura 1:** Fotomicrografias paradérmicas do limbo foliar: Número de estômatos da epiderme abaxial de folha de clone BRS300 em períodos distintos de precipitação: A – BRS300 no período seco e B – BRS300 no período chuvoso ( $\_\_\mu\text{m}100$ ). 53

**Figura 2:** Fotomicrografias paradérmicas do limbo foliar- Comprimento ostiolar (seta): A - clone BRS871 no período seco e B – clone BRS608 no período chuvoso (40x). 55

**Figura 3:** Fotomicrografia de tecido parenquimático: A - clone BRS300 no período seco e B – clone BRS300 no período chuvoso, C - clone BRS871 no período seco, D – clone BRS871 no período chuvoso, E - clone BRS611 no período seco e F – clone BRS871 no período chuvoso (40x). 57

### CAPÍTULO III

---

- Figura 1:** Concentração de pigmentos cloroplásticos em folhas de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação, (●) para período seco e (○) período chuvoso. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas para períodos e maiúsculas para clones, não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras verticais representam desvios padrão (n=5). 65
- Figura 2:** Fluxo específico de energia no centro de reação de clones de guaranazeiro em períodos distintos de precipitação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras verticais representam desvios padrão (n=5). 67
- Figura 3:** Comparação da porcentagem de contribuição de cada valor de Fluxo específico de energia no centro de reação com o total entre categorias no período seco (A) e período chuvoso (B). Barras verticais representam desvios padrão (n=5). 69
- Figura 4:** Análise do Fluxo Fenomenológico de energia por secção transversal em folhas de clones de guaranazeiro em períodos distintos de precipitação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras verticais representam desvios padrão (n=5). 70
- Figura 5:** Comparação da Taxa de Rendimento Fotoquímico do fotossistema II em folhas de clones de guaraná, (A) período seco e (B) período chuvoso. Barras verticais representam desvios padrão (n=5). 72



## CAPÍTULO IV

---

- Figura 1:** Teores de metilxantinas nas raízes de clones de guaranazeiro. Raiz Fina (RF) e Raiz Grossa (RG). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para raiz, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3). 82
- Figura 2:** Teores de metilxantinas nos galhos de clones de guaranazeiro. Galho grosso (GG) e galho fino (GF). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para galhos, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3). 84
- Figura 3:** Teores de metilxantinas nas folhas de clones de guaranazeiro. Folhas novas (FN), folhas maduras (FM) e folhas velhas (FV). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para idade de folhas, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3). 86
- Figura 4:** Teores de metilxantinas nas inflorescências e fruto imaturo de clones de guaranazeiro. Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3). 89
- Figura 5:** Teores de metilxantinas nos frutos de clones de guaranazeiro. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para partes do fruto, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3). 91

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

---

- Tabela 1:** Cronograma de adubação da área experimental no ano de 2008 e 2009. Dados obtidos na Estação Agrometeorológica da Agropecuária Jayoro. 14
- Tabela 2:** Potencial hidrogeniônico (acidez ativa), acidez potencial (H+Al) e teores de Alumínio ( $Al^{3+}$ ), sob duas profundidades (prof.) nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso). 18
- Tabela 3:** Teores de carbono (C), matéria orgânica (MO) e a relação carbono/nitrogênio (C/N) sob duas profundidades (prof.), nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso). 21
- Tabela 4:** Soma de bases (SB), Capacidade de troca catiônica- CTC efetiva (t):  $cmol_c/dm^3$ , CTC a pH=7,0 (T), saturação de bases (V), saturação por alumínio (m) sob duas profundidades (prof.), nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso). 25
- Tabela 5:** Teores de macronutrientes no solo, Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), sob duas profundidades (prof.) nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso). 28
- Tabela 6:** Teores de micronutrientes no solo, Ferro (Fe), Zinco (Zn), Manganês (Mn), Cobre (Cu) e Sódio e de (Na), sob duas profundidades (prof.) nos solos com plantios de clones de

	guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).	31
<b>Tabela 7:</b>	Teores foliares de macronutrientes em clones de guaranazeiro cultivado sob plantio de produção, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).	34
<b>Tabela 8:</b>	Teores foliares de micronutrientes em clones de guaranazeiro, cultivados sob plantio de produção, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).	37
<b>Tabela 9:</b>	Eficiência intrínseca no uso da água [(EIUA) $\mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ mol}^{-1}(\text{H}_2\text{O})$ ] e eficiência no uso da água [(EUA) $\text{mmol}(\text{CO}_2) \text{ mol}^{-1}(\text{H}_2\text{O})$ ] em folhas de clones de guaranazeiro em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).	41

## CAPÍTULO II

---

<b>Tabela 1:</b>	Características fotossintéticas em plantas de clones de guaranazeiro. Fotossíntese ( $A_{\text{max}}$ ), respiração no escuro ( $R_d$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração ( $E$ ) crescendo em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).	49
<b>Tabela 2:</b>	Número de células epidérmicas, de estômatos, índice estomático e densidade estomática, em folhas de clones de guaranazeiro, crescendo em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).	52
<b>Tabela 3:</b>	Comprimento estomático, largura estomática e comprimento ostiolar, em folhas de clones de guaranazeiro, crescendo em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).	54
<b>Tabela 4:</b>	Espessura da epiderme adaxial, abaxial, parênquima paliçádico e lacunoso, em folhas de clones de guaranazeiro, crescendo em	

períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso). 56

### CAPÍTULO III

---

**Tabela 1:** Taxa de Rendimento Fotoquímico do Fotossistema II em folhas de clones de guaranazeiro, crescendo em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso). 73

## LISTA DE VARIÁVEIS, SÍMBOLOS E UNIDADES

---

- $\mu\text{mol}(\text{CO}_2).\text{mol}^{-1}(\text{H}_2\text{O})$** : Micromol de dióxido de carbono por mol de água
- $a/b$** : Razão clorofila  $a$  e clorofila  $b$
- A**: Fotossíntese líquida
- ABS/CS**: Absorção de energia por seção transversal
- ABS/RC**: Absorção de energia por centro de reação
- $A_{\text{max}}$** : Fotossíntese máxima
- C/N**: Razão carbono/nitrogênio
- Chl  $a$** : Clorofila  $a$
- Chl  $b$** : Clorofila  $b$
- Chl total**: Clorofila total
- $\text{cmol}_c/\text{dm}^3$** : Centimol de carga por decímetro cúbico
- ct/c**: Razão clorofila total e carotenóides
- DIo/ABS**: Máxima eficiência de excitação não fotoquímica
- DIo/CS**: Energia de dissipação por seção transversal
- DIo/RC**: Dissipação de energia por centro de reação)
- E**: Transpiração
- EIUA**: Eficiência intrínseca no uso da água
- ETo/ABS**: Probabilidade de um fóton absorvido mover um elétron apos  $Q_A$
- ETo/CS**: Transporte de elétrons por seção transversal
- ETo/RC**: Transporte de elétron por centro de reação
- ETo/TRo**: Probabilidade da energia de excitação mover um elétron apos a quinona A
- EUA**: Eficiência no uso da água
- gs**: Condutância estomática
- $H^+A$** : Acidez potencial
- m**: Saturação por alumínio
- MO**: Matéria orgânica
- pH ( $H_2O$ )**: potencial hidrogenionico em água
- $PI_{\text{ABS}}$** : Índice de desempenho
- PPFD**: Densidade de fluxo de fótons fotossintéticos
- PSII**: Fotossistema II
- RC/CS**: Densidade de centros de reação por seção transversal
- $R_d$** : Taxa respiratória no escuro
- t**: CTC efetiva- Capacidade de troca catiônica
- TRo/ABS**: Máxima eficiência quântica do fotossistema II
- TRo/CS**: Taxa máxima de energia capturada por seção transversal
- TRo/RC**: Captura de energia por centro de reação
- V**: Saturação de bases
- $\Psi_w$** : Potencial hídrico foliar

## RESUMO

---

A cultura do guaranazeiro pelo seu valor agregado representa uma das mais importantes “commodities” do agronegócio Amazônico. No entanto, o baixo nível tecnológico empregado nas lavouras, aliado a ausência de resultados científicos consistentes sobre o manejo, assim como as características fisiológicas têm sido responsáveis pela baixa produtividade desta cultura. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo investigar características morfofisiológicas e metabólicas do guaranazeiro, assim como identificar as variações fenotípicas relacionadas aos fatores abióticos. Os experimentos foram realizados em plantio comercial de guaranazeiro na Fazenda da Agropecuária Jayoro, Município de Presidente Figueiredo, AM, Brasil (01°57'24" S, 60°08'31" W). A precipitação média na área de estudo foi de 256,3 mm no período seco/2008 e 357,5 no período chuvoso/2009. Plantas adultas de seis clones de guaranazeiro (BRS300, BRS619, BRS871, BRS608, BRS370 e BRS611) com três anos de idade foram avaliados quanto às características físicas, químicas e de fertilidade do solo. Adicionalmente, determinaram-se os teores dos nutrientes foliares, o potencial hídrico foliar, a eficiência no uso da água, as características relacionadas às trocas gasosas e anatomia foliar, o rendimento fotoquímico do fotossistema II, os pigmentos cloroplásticos e, por fim, o teor de metilxantinas em diferentes partes das plantas. Verificou-se, nos solos sob plantios de guaranazeiros, baixa fertilidade, com elevada acidez, baixa capacidade de troca catiônica efetiva, alta saturação por alumínio, levando a baixa disponibilidade de nutrientes para a planta. Os diferentes períodos de precipitação não influenciaram no *status* hídrico dos clones de guaranazeiro e, além disso, os clones apresentaram tolerância às variações diurnas, pela recuperação dos seus potenciais hídricos ao final do dia. As maiores taxas fotossintéticas foram verificadas nos clones BRS619 e BRS608 no período chuvoso. Os diferentes períodos de precipitação não influenciaram as taxas de respiração no escuro. No entanto, nos clones, verificaram-se modificações quanto na anatomia foliar. No que diz respeito à cinética da fluorescência da clorofila *a*, os maiores aumentos de absorção de energia por centro de reação, captura de energia por centro de reação, dissipação de energia por centro de reação e absorção de energia por seção transversal, captura de energia por seção transversal, dissipação por seção transversal foram verificados no período de menor precipitação. Por outro lado, nesse período, os clones não foram eficientes quanto ao transporte de elétrons por centro de reação (ETo/RC) e transporte de elétrons por seção transversal ETo/CS. O clone BRS608 se destacou por apresentar as menores variações de Índice de desempenho (PI<sub>ABS</sub>) entre os períodos de precipitação. Os maiores valores para pigmentos cloroplastídicos foram encontrados no período chuvoso, exceto para o clone BRS300 que apresentou os maiores valores no período seco. O clone BRS871 apresentou maiores valores de razão chl a/b e o clone BRS370, apresentou os maiores valores de razão Cht/car, garantindo a esses clones maior tolerância ao estresse por alta irradiância. Os maiores teores de metilxantinas foram encontrados em quase todas as partes do clone BRS608, sugerindo potencialidade para futuros estudos biotecnológicos que envolvam rotas metabólicas das metilxantinas. Os clones de guaranazeiro apesar de apresentarem materiais genéticos idênticos, exibiram diferenças quanto às características fenotípicas em respostas aos fatores abióticos, apresentando estratégias distintas para tolerância a baixas fertilidades dos solos, distribuições heterogêneas de precipitação, altas temperaturas que ocorrem na Região.

## ABSTRACT

---

Due to its highest PCS (Production-to-composition system) value the cultivation of guaraná (*Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis*) represents one of the most important commodities of the Amazonian agribusiness. Nevertheless, the low technological level used in the crops linked to the absence of consistent scientific results on the management, just as the physiological characteristics of this culture have been responsible for its low-yield production. Therefore, this paper has had as an objective to research morphological and metabolical characteristics of the guaraná plant, as well as to identify its answers to phenotypical variations and abiotic agents. The experiments were conducted in the guaraná plantation of Jayoro Farm at Presidente Figueiredo Municipality, Amazonas-Brasil (01°57'24" S, 60°08'31" W). The annual rainfall average of study Field was 256,3 mm on the dry period/2008 and 357,5mm on the rain period/2009. Adult plants from six guaraná clones (BRS300, BRS619, BRS608, BRS370 and BRS611) of 3 years old were evaluated as much as the physical and chemical characteristics as well as the fertility of the soils plantation where there are the clones above mentioned, as well as the foliar nutrient contents, foliar water potential, water efficiency, related characteristics to gaseous exchange and foliar anatomy, besides photochemical yield of photosystem II, chloroplastid pigments and finally it was determined the methylxantine content in different parts of the plant. The soils beneath the guaraná plantations presented low fertility, with high acidity, low capacity of effective cationic exchange besides high aluminum saturation promoting a situation of non-available nutrients for the plant. The different rainfall periods have not influenced the hydric-status of guaraná clones. Furthermore, the clone has presented tolerance to diurnal variations, by the recovery of their water potential at the end of day. The higher photosynthetic rates were verified on BRS619 and BRS608 clones during the raining period. The different rainfall periods has not influenced the dark respiration. Meanwhile, the clones presented modifications concerning foliar anatomy. In respect to the kinetic of chlorophyll fluorescence  $a$ , the largest increases of ABS/CS, TRo/CS, DIo/CS were presented during the period of less rainfall. Beyond this, in that period clones were not much efficient to ETo/RC and ETo/CS. The clone BRS608 stood out by presenting the smaller variations of  $PI_{abs}$  among the rainfall periods, except to the clone BRS300 that presented the highest values on the dry period. The clone BRS871 presented highest values of ratio chl a/b and clone BRS370, presented the highest values of ratio cht/car assuring to this clones higher tolerance to the stress by high irradiance. The highest contents of methylxantines were found in almost every part of BRS608 clone, suggesting potential for future biotechnological studies which involve metabolic pathways methylxantines. In spite the guaraná clones presented identical genetic material, they differ in relation to their phenotypical characteristics in response to the abiotic facts that are submitted, presenting different strategies for tolerance to abiotic variations, in this case presenting phenotypical plasticity in anatomic level, besides to be tolerant to high radiation as well as accumulating methylxantines in a differential form in many parts of the plant.

## SUMÁRIO

	Página
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	V
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	Vii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	X
<b>LISTA DE VARIÁVEIS, SÍBOLOS E UNIDADES</b> .....	Xiii
<b>RESUMO</b> .....	Xiv
<b>ABSTRACT</b> .....	Xv
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
1.1. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE.....	4
1.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO GUARANÁ.....	5
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	8
2.1. OBJETIVO GERAL.....	8
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
<b>Capítulo I: Dinâmica de nutrientes no sistema solo-planta e <i>status</i> hídrico de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação cultivados sob plantio comercial</b> .....	10
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	13
2.1. ÁREA DE ESTUDO.....	13
2.2. DETERMINAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO.....	14
2.3. ANÁLISES DOS MACRO E MICRONUTRIENTES NO TECIDO FOLIAR.....	15
2.4. DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR.....	15
2.5. DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA NO USO DA ÁGUA.....	16
2.6. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS...	16
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	17
3.1. ESTUDOS DA FERTILIDADE DO SOLO SOB PLANTIOS DE CLONES DE GUARANAZEIRO.....	17
<b>3.1.1 Características físicas e químicas do solo sob cultivo de</b>	



guaranazeiro.....	17
3.1.2 Intercâmbio catiônico na solução do solo.....	24
3.1.3 Caracterização da disponibilidade de macronutrientes no solo.....	27
3.1.4 Caracterização da disponibilidade de micronutrientes no solo .....	30
3.2 ANÁLISE FOLIAR DE GUARANAZEIRO.....	33
3.2.1 Influência dos diferentes períodos de precipitação no acúmulo de macronutrientes nas folhas dos clones de guaranazeiro.....	33
3.2.2 Influência dos diferentes períodos de precipitação no acúmulo de micronutrientes nas folhas dos clones de guaranazeiro.....	36
3.3 POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR E EFICIÊNCIA NO USO DA ÁGUA.....	38
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>42</b>

**Capítulo II: Características fotossintéticas e anatômicas de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação cultivados sob plantio comercial.....**

1. INTRODUÇÃO.....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1. ÁREA DE ESTUDO.....	45
2.2. DETERMINAÇÃO DAS TROCAS GASOSAS.....	45
2.3 ANATOMIA FOLIAR.....	46
2.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS. .	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
3.1. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE CLONES DE GUARANAZEIRO.....	48
3.2 ANATOMIA FOLIAR DE CLONES DE GUARANAZEIRO.....	51
4. CONCLUSÕES.....	58

<b>Capítulo III: Teores de pigmentos cloroplastídicos e rendimentos fotoquímicos do fotossistema II de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação cultivados sob plantio comercial.....</b>	<b>59</b>
--	-----------

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>62</b>
2.1. ÁREA DE ESTUDO.....	62
2.2. ANÁLISE DOS PIGMENTOS CLOROPLASTÍDICOS.....	62
2.3. ANÁLISE DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i> .....	63
2.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS...	63
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>64</b>
3.1. TEORES DE PIGMENTOS CLOROPLASTÍDICOS EM FOLHAS DE CLONES DE GUARANAZEIRO.....	64
3.2. FLUXO ESPECÍFICO DE ENERGIA NO CENTRO DE REAÇÃO.....	67
3.3. FLUXO FENOMENOLÓGICO DE ENERGIA POR SECÇÃO TRANSVERSAL.....	69
3.4. RENDIMENTOS FOTOQUÍMICOS DO FOTOSISTEMA II.....	70
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>74</b>
<b>Capítulo IV: Conteúdo de metilxantinas em diferentes tecidos de clones de <i>Paullinia cupana</i> Kunt. var. <i>sorbilis</i> (Mart.) Ducke cultivados sob plantio comercial .....</b>	<b>75</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>75</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>78</b>
2.1. ÁREA DE ESTUDO .....	78
2.2. COLETA DAS AMOSTRAS.....	78
2.3. PREPARO DOS EXTRATOS DE METILXANTINAS.....	79
2.4. PREPARO DOS PADRÕES E CURVA ANALÍTICA DE CAFEÍNA, TEOFILINA E TEOBROMINA.....	79
2.5. ANÁLISE EM CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	79
2.6. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS...	80
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>81</b>
3.1 . TEORES DE METILXANTINAS NAS RAÍZES .....	81
3.2 . TEORES DE METILXANTINAS NOS GALHOS DE CLONES DE	

GUARANAZEIRO.....	83
3.3. TEORES DE METILXANTINAS NAS FOHAS DE CLONES DE GUARANAZEIRO .....	85
3.4. TEORES DE METILXANTINAS NAS INFLORESCÊNCIAS E FRUTO IMATURO DE CLONES DE GUARANAZEIRO.....	87
3.5 TEORES DE METILXANTINAS NOS FRUTOS MADUROS DE CLONES DE GUARANAZEIRO.....	90
<b>4.CONCLUSÃO.....</b>	<b>93</b>
<b>3. CONCLUSÕES FINAIS.....</b>	<b>94</b>
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>95</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

---

O cultivo de espécies nativas na Amazônia tem sido caracterizado como atividade de grande importância na exploração econômica da diversidade vegetal da Região (Sousa, 1997). Neste cenário, as espécies utilizadas para fins industriais e farmacêuticos têm apresentado maior potencial em função da abrangência de vários segmentos e das diferentes cadeias produtivas que demandam as matérias biológicas (Pinto *et al.*, 2002). Entretanto, no Amazonas, apesar da sua grande extensão territorial e biodiversidade, o direcionamento de produtos oriundos de culturas nativas, ainda, não vem sendo tratado com a devida atenção, pois faltam tecnologias para conversão da matéria-prima em produtos industrializados e, sobretudo, alternativas econômicas que os tornem competitivos nos mercados local, regional ou mesmo internacional (Clement *et al.*, 2003).

Dentre as alternativas econômicas, que ora têm sido implementadas no Amazonas, pode-se citar as atividades extrativistas, como a exploração sustentável dos recursos madeireiros e o cultivo de espécies como o cupuaçu, a mandioca, a pupunha e o guaraná. Considerando as espécies cultivadas, o guaranazeiro (*Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke destaca-se pelas características de suas sementes que podem ser usadas de formas múltiplas, como por exemplo, na fabricação de xarope (concentrado), bastão (ralado obtém-se o pó), ou pó acondicionado em frascos e em cápsulas gelatinosas (Suframa, 2003). Desse modo, as sementes de guaraná, por apresentarem altos teores de substâncias como a teobromina (vasodilatadora), teofilina (broncodilatadora) e cafeína (2,5-5%), propícias para serem usadas nas indústrias farmacêuticas e de bebidas, constituem-se em interessante alternativas de exploração agrícola para o Estado e para a Região Amazônica (Lima *et al.*, 2005).

Em termos de produção de sementes, o Brasil é praticamente o único produtor mundial de guaraná, com pequenas exceções para Amazônia peruana e venezuelana, com áreas plantadas no Amazonas (centro de dispersão da espécie), no Pará, no Acre, em Rondônia e mais recentemente nos Estados do Mato Grosso e da Bahia. No País, a produção está perto de 4000 toneladas/ano, sendo que 70% é direcionada para as indústrias de refrigerantes gaseificados sob forma de xarope e apenas 30% são comercializado sob a forma de pó, bastão e extrato para consumo interno e exportação (Suframa, 2003). Em relação à exportação, o Amazonas vendeu em 2010 cerca de US\$ 75.530.045 (FOB: preço com impostos) de xarope de guaraná para o exterior, sendo o segundo produto mais exportado na balança comercial do Estado (MDIC/SECEX, 2010). No entanto, apesar do Amazonas apresentar ótimos índices de

venda dos derivados do guaraná, o Estado apresenta produtividade inferior ao Estado da Bahia (Suframa, 2003).

Segundo estudos sobre as bases genéticas e melhoramento da cultura, a baixa produtividade do guaranazeiro no Amazonas pode ter uma relação direta com a idade dos plantios que são utilizados e também com a dificuldade na propagação dessa espécie, pois muitos agricultores ainda utilizam a propagação sexuada, o que representa entrave na propagação das plantas, devido às características de perda rápida da viabilidade da semente que, por serem recalcitrantes, não suportam desidratação acentuada nem baixa temperatura (Nascimento-Filho *et al.*, 1992). Além disso, a constituição genética altamente heterozigótica do guaranazeiro faz com que as características desejáveis sejam perdidas de maneira muito rápida, se forem propagadas por sementes, devido à segregação gênica. Dessa forma, as plantas propagadas por sementes devem ser oriundas de matrizes de alta produtividade e qualidade de frutos, características que muitas vezes são difíceis de serem obtidas (Escobar, 1984). No entanto, a partir do programa de melhoramento genético conduzido pela EMBRAPA-AM, utilizando a seleção clonal e propagação por estaquia, as plantas que apresentam características superiores de diversas populações são propagadas assexuadamente, originando clones elites para o plantio comercial. Tal atividade está trazendo melhorias para a cadeia produtiva do guaraná na Região. Porém, esta estratégia exige cuidado, devido a limitação na diversidade genética, e também a suscetibilidade dos genótipos a fatores bióticos e abióticos, pela uniformidade do plantio (Nascimento-Filho *et al.*, 2001a).

Com relação à ecofisiologia do guaranazeiro, pouco se conhece sobre as estratégias ecofisiológicas utilizadas por esta cultura em resposta a fatores abióticos como luz, água, CO<sub>2</sub> e nutrientes. Em geral, esses fatores exercem influências diretas na fisiologia das plantas, que são refletidas no crescimento, no desenvolvimento e na reprodução das espécies, como respostas às alterações no metabolismo primário e secundário (Nogueira e Silva Jr., 2001; Rodríguez-Concepción *et al.*, 2003; Gonçalves *et al.*, 2006).

Os processos de crescimento e de desenvolvimento dos vegetais guardam estreita relação com a atividade fotossintética. A eficiência deste processo depende das condições abióticas, além de estar associada às características intrínsecas das plantas (Lee *et al.*, 1996; Stuefer e Huber, 1998; Dewar *et al.*, 1998; Thornley, 1998; Gonçalves *et al.*, 2006). Dessa forma, plantas que possuem mecanismos eficientes para dissipar o excesso de energia de excitação, prejudiciais aos fotossistemas, fazem uso mais eficiente da energia capturada (Demmig-Adams, 1990; Krause e Weis, 1991; Demmig-Adams e Adams, 1992; Bjorkman e Demmig-Adams, 1994).

Outro fator que contribui de forma determinante para o crescimento vegetal são as trocas gasosas. Os estômatos são estruturas fundamentais para assimilação de CO<sub>2</sub> e para a transpiração, com reflexos sobre a economia hídrica. Assim, altas taxas de fluxo difusivo de vapor de água da folha para a atmosfera podem tornar-se um entrave no estabelecimento das plantas em condições de alta irradiância e baixa disponibilidade hídrica e, dependendo da anatomia foliar, esse processo pode ser intensificado (Kozłowski *et al.*, 1991). Ademais, o tamanho, a densidade e a abertura estomática têm sido citados como características importantes na seleção de clones de guaraná com alta capacidade de assimilação de CO<sub>2</sub> e, que sejam eficientes quanto ao uso da água (Gonçalves *et al.*, 2006).

No que tange à disponibilidade e uso da água, sabe-se que o estabelecimento e produtividade das plantas em condições de campo são dependentes desse recurso (Mooney e Ehleringer, 1997). Por conseguinte, períodos de seca limitam a produtividade das plantas tropicais sempre que a deficiência hídrica é suficiente para interferir na assimilação de carbono (Mulkey *et al.*, 1996). Entretanto, quando o estresse hídrico se manifesta nas folhas, os estômatos fecham-se para conservar o “status” hídrico e, as plantas que toleram perdas de água a baixos potenciais hídricos, desenvolvem mecanismo denominado de ajustamento osmótico, induzindo o acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos nas células (Warwick e Thukent, 2006). Outra resposta fisiológica particularmente sensível à redução do potencial da água nas plantas é a alteração da síntese proteica. Como consequência, algumas enzimas que apresentam alta relação síntese-degradação, como, por exemplo, a redutase do nitrato exibe forte inibição à diminuição do potencial hídrico e, como consequência pode interferir no metabolismo do nitrogênio (Chaves Filho e Seraphin, 2001).

Assim como o metabolismo primário das plantas pode ser modificado em resposta a fatores abióticos, o metabolismo secundário também é influenciado, levando a diminuição de uma variedade de compostos produzidos pelas plantas por diferentes rotas secundárias, como por exemplo, a rota metabólica dos alcalóides, terpenóides, antocianinas, esteróides, flavonóides, quinonas e ligninas (Verpoorte e Memelink, 2002). Esses compostos, não necessariamente essenciais ao organismo produtor, têm papel importante na sobrevivência da planta em seu ecossistema, por estarem envolvidos na resistência contra pragas e doenças, na atração de polinizadores, na interação com microorganismos simbióticos e, por outro lado, podem ser fontes de matérias-primas para diferentes seguimentos industriais (Mazzafera *et al.*, 1996; Verpoorte *et al.*, 2000).

Dentre esses metabólitos secundários, o alcalóide cafeína destaca-se por estar presente em diferentes produtos indústrias (café, chá, chocolates, refrigerantes à base de cafeína),

podendo-se dizer que cerca de 80% da população global faz uso dessa substância diariamente, embora seja muito difícil quantificar seu consumo (Strain e Griffiths, 2000). No entanto, os poucos estudos sobre a cafeína, estão voltados para as plantas de café, por esta espécie ser um dos principais produtos agrícolas na pauta das exportações de diversos países, incluindo o Brasil (Silva e Reis, 2001). Em contraste, a cafeína proveniente principalmente de extratos de guaraná ainda é pouco investigada, apesar de o guaraná ser a provável fonte vegetal mais rica desta metilxantina (Mehr *et al.*, 1996).

Diante das grandes lacunas sobre o conhecimento da fisiologia e bioquímica do guaranazeiro, entende-se que estudos ecofisiológicos e do metabolismo desta espécie, crescidas em condições de campo, podem contribuir substancialmente para a introdução de novas tecnologias no cultivo desta espécie. Assim, faz-se necessária à obtenção de informações que relacionem o potencial de diferentes clones com os fatores do meio, no intuito de identificar indicadores fisiológicos que possam subsidiar o manejo dessa cultura, tornando os plantios mais produtivos e sustentáveis.

### 1.1. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE

A espécie *Paullinia cupana* Kunt. Var. *sorbilis* (Mart.) Ducke é pertencente à família Sapindaceae, que possui cerca de 120 gêneros e 2 mil espécies de árvores, arbustos e lianas. O gênero *Paullinia* é constituído por cerca de 150 espécies distribuídas pelas Américas Tropical e Subtropical, sendo apenas uma única espécie (*Paullinia pinata*) encontrada na África Tropical (Nascimento filho *et al.*, 2001). O primeiro registro de coleta dessa planta foi feito na Venezuela, em San Fernando de Atabapo, no Alto Rio Negro, em 1810, por Humboldt Bonpland. Duas variedades botânicas foram descritas *Paullinia cupana*: *P. cupana* var. *sorbilis*, guaraná plantado em Maués/AM, e *P. cupana* var. *typica* ou *cupana* – guaraná da Venezuela; sendo seus prováveis centros de domesticação localizados na banda meridional do Amazonas (entre a foz dos rios Purus e Madeira) e no sul da Venezuela e Colômbia (divisa com o Brasil), respectivamente (Ducke, 1937; Lleras, 1984). As plantas jovens de *P. cupana* var. *typica* caracterizam-se por serem desprovidas de gavinhas, apresentarem folíolos fortemente lobados e recortados, flores e frutos maiores em relação à outra variedade, sendo o tamanho dos frutos o dobro ou o triplo com formatos acentuadamente obovados (periformes), de coloração vermelho-escura com e pouco brilho. Por outro lado, as plantas jovens de *P. cupana* var. *sorbilis* apresentam folíolos fracamente lobados e, quando adultas, apresentam

gavinhas (localizadas frequentemente junto às inflorescências ou nestas), flores ligeiramente menores, frutos meio esféricos de coloração vermelho-vivo e brilhantes, e com metade ou mesmo um terço do volume em relação à variedade *typica*. A variedade *sorbilis* foi domesticada por índios das tribos Maués e Andirás, no Baixo Amazonas. Já a variedade *cupana* ou *typica* sofreu domesticação pelos Barés, no Alto Rio Negro (Nascimento filho, 2001b).

O guaraná é uma espécie monóica possuindo inflorescências com flores pseudo-hermafroditas, sendo polinizadas por insetos, principalmente por abelhas. Destaca-se dentre as espécies botânicas da mesma família, não só por apresentar compostos de interesse industrial, mas, também, pelo seu alto potencial econômico e grande interesse social no interior do Amazonas, oferecendo oportunidade de negócios para as indústrias, remuneração para milhares de produtores e, sobretudo, contribuindo para a fixação do homem no campo (EMBRAPA, 2001).

## 1.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO GUARANÁ

Desde o início do processo de domesticação, a cultura do guaraná vem assumindo importância cada vez maior no cenário econômico e social do País, especialmente na Região Amazônica, podendo demandar quantidade expressiva de mão-de-obra não especializada, como por exemplo, no Município de Maués, onde, segundo a Embrapa, cerca de 2.600 famílias cultivam aproximadamente 3.120 ha de guaranazais. Entretanto, grande parte desses cultivos de guaraná provém de plantas de reprodução sexuada, as quais apresentam crescimento lento com problemas de adaptação ao campo. Essas plantas começam a produzir a partir do 3º e 4º ano de implantação e, por volta do 5º ano, alcançam o nível de produção econômica, com produtividade de cerca de 600 a 800 g/planta de semente seca. Diferentemente dessas plantas, as mudas melhoradas (clonadas), as quais já são disponibilizadas para os agricultores desde 2001, propiciam benefícios como a resistência a antracnose e produtividade entre 1 kg a 1,5 kg/planta de semente seca. Em muitas lavouras novas de guaranzeiro, sobretudo na Amazônia, os guaranicultores já estão utilizando clones selecionados, apesar da resistência de muitos produtores em renovar seus cultivos por plantas melhoradas, com alegação de que a adoção de técnicas está condicionada à elevação do preço de mercado do guaraná em sementes.

As sementes de guaraná e os seus derivados (pó, bastões, xaropes, extratos, essências etc), em face de suas propriedades medicinais e estimulantes, tornaram-se mundialmente



conhecidas e são utilizadas, em larga escala, no preparo de bebidas energéticas. Suas principais propriedades terapêuticas, segundo estudos feitos pela Embrapa, são: estimulante, aconselhado para combater o cansaço e a depressão nervosa; restaurador do corpo e da mente, combate ao estresse; estimulador da circulação sanguínea, evitando arteriosclerose, trombozes e mantendo o cérebro ativo; efeito diurético, alívio às dores menstruais e dores de cabeça; regulador do aparelho digestivo; alívio às crises respiratórias; afrodisíaco; moderador de apetite, usado em fórmulas de emagrecimento; fins farmacêuticos, cosméticos e xampus, entre outros.

Em termos de comercialização, o Brasil é praticamente o único país a produzir guaraná (*Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke), em escala comercial, em cultivos racionais e sistemáticos. Os principais Estados produtores são: Bahia, 47,6%; Amazonas, 32,6%; Mato Grosso com 15,2%; Acre, 3,3% e Pará, 1,2%. (Suframa, 2003). O guaraná e seus derivados são, em sua quase totalidade, comercializados de quatro diferentes maneiras: 1) Guaraná em sementes (ramas) – as sementes são torradas, vendidas aos intermediários e indústrias. É a forma mais usada na comercialização; 2) Guaraná em Bastão - as sementes são torradas, moídas e misturadas com água, formando uma pasta que é moldada como um bastão. Em seguida, o bastão é submetido a um processo de panificação por defumação, consolidando seu formato comercial; 3) Guaraná em Pó - pequenas e médias indústrias moem as sementes e repassam o pó ao comércio varejista e 4) Xaropes e Essências - usados em refrigerantes e produtos energéticos em geral. São exclusivos das indústrias, pois exige domínio tecnológico e elevados investimentos com máquinas e equipamentos.

Segundo estimativa do IBGE, em 2005, a produção brasileira de guaraná em sementes alcançou 2.587 toneladas, contra 3.769 toneladas em 2004, registrando um decréscimo de 31,4%. Essa queda brutal na produção é decorrente do abandono de áreas e/ou substituição da cultura por outras mais rentáveis nos Estados da Bahia e Mato grosso, local onde o preço de comercialização do guaraná permanece aquém do custo de produção.

No Estado do Amazonas, a produção vem crescendo devido à alta demanda por sementes pelas indústrias de refrigerantes. Somente no ano de 2006 a produção chegou à casa das 700 toneladas, produção que representa cerca de R\$ 2,7milhões na venda de 326 mil quilos da fruta *in natura* para a Conab (Companhia Nacional de Abastecimento) e para a fabricante de bebidas Ambev. Em termos de exportação, na balança comercial do Amazonas, o xarope de guaraná foi o segundo produto mais exportado no período de janeiro a junho de 2010, rendendo cerca de US\$153.104.009 (FOB: preço com impostos) (MDIC/SECEX, 2010). Em 2006, as quantidades exportadas alcançaram 9.506 toneladas, equivalentes a

US\$117.252.138 (FOB: preço com impostos), em 2007 a quantidade exportada foi de 9.711 toneladas, representando cerca de US\$ 128.584.637 (FOB: preço com impostos) e em 2008 a quantidade exportada aumentou para 10.599 toneladas, equivalendo a US\$153.104.009 (FOB: preço com impostos). Nesses anos (2006, 2007 e 2008), os principais países de destino foram a Colômbia e Venezuela.

Diante desse cenário de perspectivas econômicas, percebe-se que a demanda por quantidades maiores de sementes de guaraná é uma realidade que não tem sido atendida pela falta de consistência da cadeia produtiva, em especial na produção, em parte pelo pouco conhecimento sobre o manejo adequado da cultura, pois o guaranazeiro apesar de crescer e produzir em solos ácidos e com baixa fertilidade, tem potencial para aumentar sua produtividade. Portanto, estudos sobre as características morfofisiológicas e bioquímicas dessa cultura, são muito oportunos, uma vez que, podem ser determinantes para aperfeiçoar as práticas de manejo da espécie e aumentar o desempenho das plantas no campo sob plantio de produção.

Por tudo isso, investigar o potencial fisiológico para variáveis fotossintéticas, hídricas e nutricionais de diferentes clones em respostas às variações de fatores primários de crescimento como água, luz e nutrientes no campo foi a motivação desta tese. Para tanto, o estudo foi dividido em quatro capítulos. São eles:

O **capítulo I** aborda a dinâmica de nutrientes no sistema solo-planta e *status* hídrico de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação cultivados sob plantio comercial. O **Capítulo II** refere-se às características fotossintéticas e anatômicas de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação. No **Capítulo III**, os teores de pigmentos cloroplastídicos e rendimentos fotoquímicos do fotossistema II de clones de guaranazeiro. Por último, o **Capítulo IV** aborda a análise do conteúdo de metilxantinas em diferentes tecidos de *Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve por objetivo geral investigar características morfofisiológicas e bioquímicas de clones de guaraná crescidos em condições de campo sob plantio de produção. Assim como, identificar suas alterações funcionais e metabólicas, como respostas das variações fenotípicas e dos fatores abióticos.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Analisar as alterações nas variáveis físico-químicas e de fertilidade dos solos sob plantios de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação;
- Determinar o acúmulo dos nutrientes nas folhas de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação;
- Determinar variáveis relacionadas às trocas gasosas (fotossíntese, respiração no escuro, transpiração, condutância estomática, eficiência no uso da água e eficiência intrínseca do uso da água) em diferentes períodos de precipitação;
- Analisar as características morfo-anatômicas das folhas de diferentes clones de guaranazeiro (espessura foliar, densidade estomática, índice estomático, dimensões do estômato e do ostíolo) em diferentes períodos de precipitação;
- Determinar as concentrações de pigmentos cloroplastídicos (clorofila *a* e *b*, e carotenóides) em diferentes períodos de precipitação;
- Determinar a eficiência fotoquímica do fotossistema II por meio das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, em diferentes períodos de precipitação;

- Determinar o potencial de água nas folhas no período da antemanhã ( $\Psi_{am}$ ), ao meio dia ( $\Psi_{md}$ ) e ao entardecer ( $\Psi_{ent}$ ) em diferentes períodos de precipitação;
- Determinar por meio de análises bioquímicas os teores de metilxantinas (cafeína, teofilina e teobromina) nas raízes, galhos, folhas, inflorescências e frutos de clones de guaranazeiro no decorrer do ciclo vegetativo.

## Capítulo I

# Dinâmica de nutrientes no sistema solo-planta e *status* hídrico de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação cultivados sob plantio comercial

### 1. INTRODUÇÃO

---

O regime pluviométrico, na bacia Amazônica não é homogêneo, apresentando variabilidade espacial e temporal, condicionada à interação de diferentes mecanismos. Dentre eles pode-se destacar a Zona de Convergência Intertropical (ZCIT) localizada no ramo ascendente da célula de Hadley-Walker, que atua numa faixa mais extensa durante o ano todo, interagindo fortemente com a circulação atmosférica da Região, e a Zona de Convergência do Atlântico Sul (ZCAS), que influencia as chuvas no sul da Amazônia nos meses de novembro a abril, época de maior atuação desse fenômeno climatológico (Uvo e Nobre, 1989; Santos e Brito, 2007).

Em termos de precipitação, a Região Amazônica possui média de aproximadamente 2300 mm ano<sup>-1</sup> e o período de chuvas na Região (forte atividade convectiva) é compreendido entre novembro e março, chamado de período chuvoso, sendo que o período de menor precipitação é entre os meses de maio e setembro, período seco. Por sua vez, os meses de abril e outubro são meses de transição de chuvas, entre o período chuvoso e seco (Figuerola e Nobre, 1990). A maior distribuição de chuvas na parte oeste e central da Amazônia ocorre no trimestre dezembro-janeiro-fevereiro, o qual apresenta uma Região de alta precipitação superior a 900 mm, sendo que a Amazônia, principalmente a parte central, está sob o domínio descendente da célula de Hadley, fato relacionado à heterogeneidade das chuvas na Região (Kousky e Kagano, 1981; Salati e Marques, 1984; Uvo e Nobre, 1989).

Assim, a produção vegetal na Amazônia pode ser fortemente afetada pela distribuição heterogênea das chuvas, uma vez que, para que a produção agrícola possa atingir níveis adequados, independente do grau de tecnologia aplicado, é preciso reunir uma série de condições ambientais, especialmente, aquelas associadas aos fatores edafoclimáticos, como variações de precipitações e temperatura, além dos tipos de solos e

das características físicas e químicas dos mesmos confirmarem sua alta ou baixa fertilidade natural, que implica em maior ou menor disponibilidade de nutrientes.

Neste sentido, a grande diversidade geológica existente na Amazônia, aliada ao relevo diferenciado, resultou na formação das mais variadas classes de solo, sob a influência das altas temperaturas e precipitações, características do clima tropical úmido (Ching *et al.*, 2008). Os solos predominantes na Região são oxisols, caracterizada por solos mais profundos e intemperizados e argissolos, que representam subsolo menos poroso, com textura mais argilosa do que o horizonte superficial (FAO, 1988; EMBRAPA, 2006). Contudo, a fertilidade natural dos solos, em geral, é baixa e as principais limitações são a elevada acidez, a baixa capacidade de troca catiônica e a deficiência de N, P, K, S, Ca, Mg, B, Cu, e Zn, além da alta capacidade desses solos em fixar o P aplicado como fertilizante (Jorge, 1986; Lopes e Guilherme, 1992; Neves *et al.*, 1999; Silva, 1999; Falcão e Silva, 2004).

Nessas condições edáficas, observa-se que a deficiência nutricional na maioria dos solos da Amazônia, aliada as condições de precipitação, influencia decisivamente na produção vegetal de muitas culturas, como é o caso da cultura do guaranazeiro, *Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. Embora todas as plantas necessitem de nutrientes essenciais para completar seu ciclo de vida, as quantidades e os balanços nutricionais necessários para o crescimento ótimo e a obtenção de altas produções varia muito entre as espécies. É importante salientar que as desordens nutricionais, as deficiências, o excesso e os desequilíbrios, causam diminuição na produção de qualquer cultura (Malavolta e Violante Neto, 1989).

À semelhança de outras espécies cultivadas na Amazônia, a cadeia produtiva do guaranazeiro também apresenta dificuldades em vários aspectos, desde as tecnologias que são aplicadas na produção propriamente dita, até a comercialização e industrialização dos seus produtos. No que concerne à produção, questões relacionadas às deficiências e exigências nutricionais ainda não estão totalmente esclarecidas (Rodrigues *et al.*, 1990 Nascimento Filho *et al.*, 2009).

As recomendações de adubação para o guaranazeiro sempre foram estabelecidas a partir das exigências de outras culturas. No entanto, várias pesquisas têm sido desenvolvidas visando analisar as respostas das plantas de guaranazeiro crescidas em viveiro e tratadas com doses crescentes de adubação. Em plantas jovens de guaranazeiro, os tratamentos com aproximadamente, 3g de ureia e 5g de superfosfato triplo foram os melhores tratamentos para os parâmetros: altura, diâmetro do caule e números de lançamento foliares (Rodrigues *et al.*,

1990). Além das características nutricionais, sabe-se que a elevada variabilidade genética dos guaranazais, oriundos de propagação sexuada (sementes), interfere consideravelmente nos resultados dos experimentos de adubação (Rodrigues *et al.*, 1990). De forma que não se consegue diferenciar o resultado do tratamento aplicado do comportamento do genótipo no experimento, impedindo estabelecer a resposta ao tratamento aplicado e o comportamento genético peculiar de cada planta.

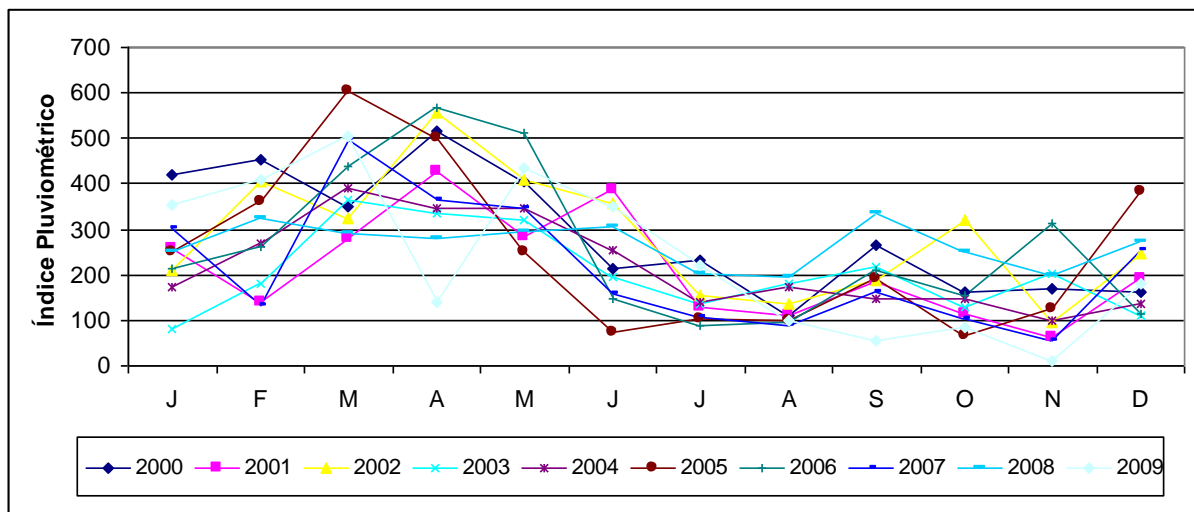
Dessa forma, estudos do sistema solo-planta do guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação e que relacionem as respostas dos diferentes clones são cada vez mais necessários, visto que o conhecimento das necessidades nutricionais dessas plantas pode favorecer o manejo da cultura, no que concerne à adubação, conforme as necessidades da planta, com forte potencial para o aumento de produtividade.

Assim, este estudo teve por objetivo investigar as alterações nas variáveis físicas, químicas e de fertilidade dos solos sob plantio comercial do guaranazeiro, visando determinar o acúmulo de nutrientes foliares, assim como, determinar o “*status*” hídrico dos diferentes clones de guaranazeiro, cultivados sob plantios de produção, em diferentes períodos de precipitação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. ÁREA DE ESTUDO

O experimento foi conduzido em plantio comercial de guaranazeiro localizado na Fazenda da Agropecuária Jayoro, Município de Presidente Figueiredo, AM, Brasil (01°57'24" S, 60°08'31" W), distante a cerca de 120 km da cidade de Manaus, ao longo da rodovia BR-174. A precipitação média na área de estudo durante a pesquisa foi de 256,3 mm no período seco/2008 (menor disponibilidade hídrica) e 357,5 no período chuvoso/2009 (maior disponibilidade hídrica). A partir desse capítulo será adotada a terminologia seco para o período de menor disponibilidade hídrica e chuvoso para o período de maior disponibilidade hídrica (Figura 1). O experimento foi instalado utilizando-se plantas adultas de seis clones de guaranazeiro (BRS300 ou BRS Amazonas, BRS619 ou CMU- 619, BRS871 ou BRS- Maués, BRS608 ou BRS – CG608, BRS370 ou CMA 370 e BRS611 ou BRS- CG611) com três anos de idade. As plantas foram manejadas segundo os cronogramas de adubação e controle fitossanitário da empresa (Tabela1).



Fonte: Agropecuária Jayoro

**Figura 1.** Média das precipitações pluviométricas dos últimos nove anos (2000 a 2009). Dados obtidos na Estação Agrometeorológica da Agropecuária Jayoro.



**Tabela 1:** Cronograma de adubação da área experimental no ano de 2008 e 2009.

Fonte:

<b>Aplicação</b>	<b>Formulado (g/plantas) (8-20-20 + 1% Zn)</b>	<b>Sulfato de Mg (g/plantas)</b>
1º	150	50
2º	150	50
3º	300	100

Agropecuária Jayoro

1ª aplicação: final do período produtivo, logo após a poda de limpeza (janeiro).

2ª aplicação: logo após a poda de frutificação e lançamento de ramos novos (abril).

3ª aplicação: logo antes do início da floração (maio).

## 2.2 DETERMINAÇÕES DA FERTILIDADE DO SOLO

As coletas de solo foram efetuadas nos períodos seco e chuvoso. Com o auxílio do trado holandês foram coletadas amostras de solo nas profundidades de (0-10 cm, 10-20 cm). Em cada bloco foram retiradas seis amostras compostas a partir de cinco amostras simples de cada tratamento. Os dados de potencial hidrogeniônico em água (pH (H<sub>2</sub>O)) foram obtidos pela medição eletroquímica da concentração efetiva de íons de H<sup>+</sup> na solução do solo por meio de eletrodos combinados imersos em solução solo:água (1:2,5). A acidez potencial (H + Al) do solo foi determinada utilizando-se solução de acetato de cálcio e titulação alcalimétrica do extrato. Os teores de carbono e matéria orgânica foram obtidos utilizando-se o método volumétrico a partir de solução de bicromato de potássio. Os teores da matéria orgânica foram obtidos pela fórmula: carbono orgânico (C) x 1,724 - Walkley-Black. Os teores de nitrogênio total (N) foram determinados pelo método de Kjeldahl, a partir de uma alíquota do extrato amostral obtido após digestão sulfúrica. Os macronutrientes cálcio (Ca) e magnésio (Mg), assim como o elemento alumínio (Al) foram obtidos por extração com KCl 1 Mol L<sup>-1</sup> e determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Perkin-Elmer 1100B). Os teores de fósforo (P), sódio (Na), potássio (K), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn) e cobre (Cu) foram extraídos com a solução de Mehlich 1 (HCl 0,05 M + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 M), sendo que o P foi determinado por espectrofotometria do visível, os micronutrientes por espectrofotometria de absorção atômica e o K por fotometria de chama. As análises foram realizadas pelo

Laboratório de Análise de Solos e Plantas – LASP da EMBRAPA-Amazônia Ocidental em Manaus.

### 2.3. ANÁLISES DOS MACRO E MICRONUTRIENTES NO TECIDO FOLIAR

As coletas de folhas foram efetuadas paralelamente às coletas de solo nos dois períodos de precipitação. Como procedimentos de amostragem foliar para análise dos nutrientes, folhas maduras completamente expandidas com aspecto fitossanitário adequado foram coletadas. Cinco amostras foliares por planta e três indivíduos de cada clone. Após a coleta, o material foi seco em estufa a 65°C e moído e posteriormente, foram determinadas as concentrações dos elementos minerais. O teor de nitrogênio, após mineralização sulfúrica, foi determinado pelo método volumétrico, segundo metodologia descrita por Vitti e Ferreira (1997). O teor de fósforo, na mistura nitro-perclórica, foi determinado espectrofotometricamente a 660 nm (Murphy e Reli, 1965) e, no mesmo extrato nitro-perclórico, os teores dos demais elementos cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), ferro (Fe), Zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e sódio (Na) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Perkin Elmer 1100B, Uberlingen - Germany) no (Laboratório de Análise de Solos e Plantas – LASP da EMBRAPA-Amazônia Ocidental-Manaus).

### 2.4. DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) dos clones de guaranazeiro foi determinado nos períodos antemanhã ( $\Psi_{am}$ ) entre 4:30 e 5:30 h (período seco) e entre 5:00 e 6:00 h (período chuvoso), ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ) entre 12:00 e 13:00 h e entardecer ( $\Psi_{ent}$ ) entre 18:30 e 19:30 h, utilizando a bomba de pressão modelo EL 540-300 (Wagtech International Ltd, Berkshire, England), (Scholander *et al.*, 1965). As amostras foliares completamente expandidas e em bom estado fitossanitário foram coletadas e acondicionadas na bomba de pressão tipo Scholander, então aplicada pressão até ocorrer à exsudação da seiva pelo pecíolo da folha, momento em que foi registrada a leitura da pressão aplicada (Turner, 1981). As coletas foram realizadas em triplicatas para cada repetição no período seco e duplicatas no período chuvoso.

## 2.5. DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA NO USO DA ÁGUA

As determinações das taxas de fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática ( $g_s$ ) foram realizadas por meio de um analisador de gás infravermelho (IRGA) portátil, operando em sistema aberto, modelo LI-COR 6400 (Licor, Lincoln, Nebraska, USA), conforme metodologia descrita por Santos Jr. *et al.* (2008). Os dados foram obtidos entre 8:00 h e 12:00 h em folhas completamente expandidas situadas no terço médio das plantas e com aspecto fitossanitário adequado. As medições foram realizadas aleatoriamente sendo a leitura dos dados para cada clone sempre realizada em diferentes horários a fim de minimizar os erros por tendência. Para cada clone foram selecionados três indivíduos por repetição e uma folha para leitura de cada indivíduo, em cinco repetições para cada clone, totalizando 15 leituras para cada tratamento. Os dados de trocas gasosas foram obtidos para uma densidade de fluxo de fótons (PPDF) entre 0 e 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e câmara foliar ajustada para concentração de  $\text{CO}_2$ , temperatura e vapor de  $\text{H}_2\text{O}$  em torno de  $385 \pm 10 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ,  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $21 \pm 1 \text{ mmol mol}^{-1}$ , respectivamente.

Estimativas da eficiência no uso da água (EUA) e a eficiência intrínseca no uso da água (EIUA) foram calculadas por meio das razões:

$$\text{EUA } (\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}) = A / E$$

$$\text{EIUA } (\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}) = A / g_s$$

## 2.6. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados obedecendo a esquema fatorial (6x2x2) com cinco repetições (cinco blocos), sendo constituído dos seguintes fatores: seis clones (BRS300, BRS619, BRS871, BRS608, BRS370 e BRS611), dois períodos de precipitação (seco e chuvoso) e duas profundidades de coleta (0-10 e 10-20 cm). Para as trocas gasosas e o potencial hídrico foliar, adotou-se o esquema fatorial (6x2) com cinco repetições, sendo constituído dos fatores: seis clones (BRS300, BRS619, BRS871, BRS608, BRS370 e BRS611) e dois períodos de precipitação (seco e chuvoso). Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a  $P \leq 0,05$ . O programa estatístico utilizado foi o SYSTAT 10.2

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

#### 3.1 ESTUDOS DA FERTILIDADE DO SOLO SOB PLANTIOS DE CLONES DE GUARANAZEIRO

##### 3.1.1 Características físicas e químicas do solo sob cultivo de guaranazeiros

Em relação ao pH, para os estudos da interação tripla entre os fatores (clone x profundidade x períodos) não foram observadas diferenças ( $P=0,632$ ) nas profundidades 0-10 cm e 10-20 cm nos solos sob plantios de clones de guaranazeiro, tanto no período seco, quanto no período chuvoso (Tabela 2). No entanto, quando se compara o pH do solo nos diferentes períodos de precipitação, nos solos com plantas do clones BRS871 ocorreram aumentos da concentração de  $H^+$  no período seco, em relação ao período chuvoso, nas duas profundidades. Em cada período isolado, o maior valor de pH foi obtido para os solos sob plantios de clone BRS611, tanto no período seco, quanto no período chuvoso na profundidade de 0-10 cm e 10-20 cm.

Na interação entre os fatores clone x profundidade x períodos para acidez potencial (H+Al) dos solos indicou diferenças entre profundidades para o período seco ( $P=0,0003$ ), nos solos sob plantios de clones BRS608. Observou-se redução de 21% da acidez potencial (H+Al) da profundidade de 0-10 cm para a de 10-20 cm (Tabela 2). No período chuvoso, os solos sob plantios de BRS619 e BRS370 apresentaram reduções da ordem de 14% e 17%, respectivamente, quanto comparadas as profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm.

**Tabela 2:** Potencial hidrogeniônico (acidez ativa), acidez potencial (H+Al) e teores de Alumínio (Al<sup>3+</sup>) sob duas profundidades (prof.) nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Parâmetros	prof (cm)	BRS300		BRS619		BRS871		BRS608		BRS370		BRS611	
		Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
pH (H <sub>2</sub> O)	0-10	BC 4,29 ±0,09Aa	BC 4,34 ±0,09Aa	C 4,20 ±0,11Aa	C 4,11 ±0,04Aa	ABC 4,38 ±0,09Aa	BC 4,18 ±0,09Ab	AB 4,51 ±0,21Aa	B 4,37 ±0,13Aa	BC 4,29 ±0,12Aa	AB 4,43 ±0,23Aa	A 4,62 ±0,16Aa	A 4,63 ±0,22 Aa
	10-20	AB 4,31 ±0,11Aa	BC 4,26 ±0,03Aa	B 4,25 ±0,12Aa	C 4,10 ±0,05Aa	AB 4,38 ±0,15Aa	BC 4,20 ±0,15Ab	A 4,51 ±0,20Aa	B 4,38 ±0,16Aa	AB 4,30 ±0,10Aa	AB 4,41 ±0,26Aa	A 4,53 ±0,07Aa	A 4,64 ±0,17 Aa
H+Al (c mol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0-10	A 6,55 ±0,88Aa	AB 7,38 ±0,71Aa	A 7,34 ±0,73Aa	A 8,66 ±0,64Aa	A 6,66 ±0,07Ab	A 8,18 ±0,67Aa	A7,15 ±1,22Aa	B6,19 ±1,38Aa	A 7,15 ±0,86Aa	AB 7,19 ±1,34Aa	A 8,16 ±0,42Aa	AB 7,68 ±0,81 Aa
	10-20	B 5,44 ±0,96Ab	AB 7,04 ±0,61Aa	AB 6,49 ±1,24Aa	A 7,44 ±0,75Ba	AB 6,33 ±1,44Aa	A 7,59 ±1,21Aa	B 5,65 ±0,57Ba	B 5,67 ±1,12Aa	AB 6,84 ±0,64Aa	AB 6,0±1,40Ba	A 7,69 ±1,03Aa	AB 6,79 ±0,67Aa
Al <sup>3+</sup> (c mol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0-10	AB 1,63 ±0,15 Aa	AB 1,49 ±0,19Aa	A 1,75 ±0,17Aa	A 1,73 ±0,03Aa	ABC 1,49 ±0,09Aa	A 1,71 ±0,13Aa	BC 1,22 ±0,38Aa	B 1,25 ±0,24Aa	ABC 1,54 ±0,26Aa	B 1,27 ±0,39Aa	B 1,13 ±0,26Aa	B1,23 ±0,32Aa
	10-20	AB 1,52 ±0,14Aa	AB 1,55 ±0,18Aa	A 1,62 ±0,24Aa	A 1,65 ±0,23Aa	AB 1,44 ±0,21Aa	A 1,61 ±0,24Aa	B 1,14 0,31Aa	B 1,18 ±0,27Aa	AB 1,48 ±0,18Aa	B 1,16 ±0,33Aa	B 1,17 ±0,19Aa	B1,17 ±0,24Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas, para profundidades e períodos, respectivamente, e pela mesma letra maiúscula à esquerda para clones em cada período, não diferem pelo Teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão (n=5).

Em relação à acidez potencial ( $H+Al$ ) no período seco e na profundidade de 0-10 cm não foram verificadas diferenças entre os solos. Por outro lado, na profundidade de 10-20 cm, no mesmo período, os solos sob plantios de BRS611 apresentaram maior acidez potencial do que os solos sob plantios de clones BR300. Diferentemente do período seco, o período chuvoso influenciou na acidez potencial na profundidade de 0-10 cm, onde os solos sob plantios de BRS619 apresentaram-se mais ácidos em relação aos solos sob plantios de BRS608. Diferenças também foram encontradas na camada de 10-20 cm no período chuvoso, cujos solos sob plantios de clones BRS871 apresentaram maior acidez potencial do que os solos sob plantios de clones BRS608.

A acidificação dos solos sob plantios de guaranazeiro pode ser atribuída às quantidades de fertilizantes usadas nessa cultura. Adubos amílicos, como a ureia, e amoniacais têm propriedades acidificantes do solo, pois no processo de nitrificação ocorre liberação de íons  $H^+$  (Pires *et al.*, 2008). As plantas, em geral, desenvolvem reações químicas na região da rizosfera. Estas reações ocorrem devido à exsudação de compostos orgânicos, absorção diferencial de cátions e de ânions, interações com microrganismos do solo, além de outras reações na rizosfera de modo que alterações de pH no solo são plenamente possíveis mediante a capacidade das plantas de alterarem as regiões mais próximas das raízes (Pires *et al.*, 2008).

A acidez elevada nas camadas superficiais do solo pode ter ocorrido devido à lixiviação de parte das bases do complexo de troca, ou ainda, à liberação pelas raízes de ácidos orgânicos, como forma de complexar o  $Al^{+3}$  tóxico. Esse processo de exsudação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular pelas raízes no solo é de extrema importância, uma vez que esses ácidos podem atuar de forma direta, favorecendo a solubilidade de elementos como fósforo e potássio por processos de quelação e troca de ligante, ou de forma indireta, pelo estímulo à atividade microbiana (Peixoto e Cambraia, 2009).

Com relação à interação entre os fatores clone x profundidade x períodos para os teores de  $Al^{3+}$ , não evidenciou diferenças ( $P=0,525$ ) em relação à profundidade (0-10 cm e 10-20 cm), tanto no período seco, quanto no período chuvoso. Comparando os dois períodos de precipitação, os solos sob plantios de BRS611, na profundidade de 0-10 cm, apresentaram aumentos da ordem de 9% no período chuvoso (Tabela 2). Para os períodos isolados, os teores de  $Al^{3+}$ , tanto no período seco, quanto no chuvoso, na profundidade de 0-10 cm e 10-20 cm, foram maiores no clone BRS619 do que no clone BRS611 (Tabela 2). O  $Al^{3+}$  apresenta-se como um dos principais problemas

agronômicos em solos ácidos, os quais representam mais de 50% das terras potencialmente aráveis do mundo, o que é agravado devido ao atual uso extensivo de adubos (Kochian *et al.*, 2004).

Embora tenham sido verificadas diferenças no pH, no geral, os valores dessa variável nos solos sob os plantios foram baixos ( $\text{pH} < 5$ ), indicando acidez, aliada a alta saturação de alumínio no complexo de troca, fato que colabora para o decréscimo da disponibilidade de nutrientes. Em solos tropicais úmidos, a acidificação pode ser progressiva, devida a substituição paulatina das bases de troca  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{K}^{+}$  e  $\text{Na}^{+}$ , por íons de  $\text{H}^{+}$  e  $\text{Al}^{+3}$ , acarretando efeitos sobre o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular das plantas (Marschner, 1995; Kochian *et al.*, 2004).

Aproximadamente 50% das terras cultivadas no mundo são ácidas e, nesses ambientes, íons solúveis de  $\text{Al}^{3+}$  na forma  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{+3}$  inibem o desenvolvimento das plantas e, em particular, o crescimento das raízes (Kochian *et al.*, 2004). Nessas circunstâncias, a membrana plasmática é considerada um dos principais alvos das perturbações causadas pelo  $\text{Al}^{3+}$  ao metabolismo celular, pois em várias espécies vegetais o  $\text{Al}^{3+}$  modifica a composição lipídica das membranas (Liu *et al.*, 2008), assim como, altera a composição de seus ácidos graxos constituintes (Peixoto e Cambraia, 2009). Sugere-se que, as alterações na composição da membrana plasmática em genótipos tolerantes ao  $\text{Al}^{3+}$  representam mecanismos adaptativos, que contribuem para o restabelecimento das propriedades físico-químicas dessas membranas (Chaffai *et al.*, 2005).

Em relação aos teores de carbono orgânico (C), os resultados das interações entre os fatores clone x profundidade x período evidenciaram que na maioria dos solos sob plantios de clones de guaranazeiro, os teores de carbono orgânico (C) foram sempre superiores na profundidade de 0-10 cm, tanto no período seco, quanto no chuvoso (Tabela 3). Entretanto, redução significativa de 25% foi observada para o clone BRS608, da profundidade de 0-10 cm para 10-20 cm, no período seco. Comparando-se os períodos de precipitação, observou-se que nos solos sob plantios de BRS370 e BRA611, os teores de carbono na profundidade 0-10 cm foram cerca de 24% e 26% superiores, respectivamente, no período seco em relação ao período chuvoso, (Tabela 3).

**Tabela 3:** Teores de carbono (C), matéria orgânica (MO) e a razão carbono/nitrogênio (C/N) sob duas profundidades (prof.), nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Parâmetros	Prof (cm)	BRS300		BRS619		BRS871		BRS608		BRS370		BRS611	
		Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
C (g/Kg)	0-10	AB 28,61 ±0,87Aa	A 28,66 ±1,06Aa	AB28,27 ±2,96Aa	A 27,93 ±1,21Aa	AB27,11 ±5,40Aa	AB 26,47 ±1,64Aa	B 24,27 ±3,46Aa	B 19,84 ±4,28Aa	B 26,11 ±3,33Aa	B 19,84 ±3,29Ab	A33,33 ±4,31Aa	AB24,63 ±4,68Ab
	10-20	AB24,33 ±3,48Aa	A23,97 ±1,97Aa	AB 23,63 ±5,26Aa	AB22,46 ±2,37)Ba	AB 23,47 ±4,88Aa	A 23,31 ±4,38Aa	B 18,10 ±3,49Ba	B 16,03 ±3,85Aa	B 22,21 ±2,50Aa	A 23,91 ±6,88Aa	A29,77 ±4,47Aa	A28,32 ±2,82Aa
MO (g/Kg)	0-10	AB 49,21 ±1,50Aa	A49,29 ±1,83Aa	AB 48,63 ±5,09Aa	AB48,05 ±2,07Aa	B 45,69 ±9,29Aa	AB 45,53 ±2,82Aa	B41,74 ±5,15Aa	C34,12 ±7,36Ab	B44,91 ±5,92Aa	BC 37,85 ±3,11Bb	A57,33 ±7,42Aa	ABC42,36 ±8,06Ab
	10-20	AB 41,85 ±5,98Aa	A 41,22 ±3,39Ba	AB40,64 ±9,05Aa	A38,62 ±4,07Ba	AB 40,36 ±8,39Aa	A40,10 ±7,53Aa	B 31,14 ±5,0Ba	B 27,57 ±6,62Aa	B38,20 ±4,30Aa	A44,66 ±3,41Aa	A51,21 ±7,69Aa	A48,71 ±4,85Aa
C/N	0-10	A18±1Aa	A 16±1Aa	A17±1Aa	AB14±1Aa	A16±3Aa	AB14±1Aa	A14±3Aa	AB13±2Aa	A16±1Aa	B11±2Bb	A17±1Aa	AB12±1Ab
	10-20	A16±1Aa	A16±1Aa	A16±2Aa	AB14±1Aa	A16±2Aa	AB14±1Aa	A14±2Aa	B11±2Aa	A15±1Aa	A18±3Aa	A17±2Aa	AB15±2Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas, para profundidades e períodos, respectivamente, e pela mesma letra maiúscula à esquerda para clones em cada período, não diferem pelo Teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão (n=5).



Analisando cada período isolado, observou-se que, no período seco, o maior teor de carbono orgânico (C) foi registrado para os plantios de clones BRS611 nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm e o menor teor foram para os plantios de clones BRS608 e BRS370 nas duas profundidades. No período chuvoso, na profundidade de 0-10 cm, os solos sob plantios de BRS300 e BRS619 apresentaram os maiores teores de carbono orgânico (C) e os mais baixos teores foram para os solos sob plantios de clones BRS370. No entanto, na profundidade de 10-20 cm, os solos sob plantios de BRS300, BRS871, BRS370 e BRS611 apresentaram maiores teores de carbono orgânico (C), em comparação com os solos sob plantios de clones BRS608 (Tabela 3). A disponibilidade de carbono orgânico (C) na camada superficial é devida, em parte, ao maior teor de matéria orgânica (MO) encontrada nessa camada.

Para os teores de matéria orgânica (MO) considerando as variáveis período x clone, nos solo sob plantios de BRS300 e BRS619 e no período chuvoso, os teores de matéria orgânica (MO) reduziram em 26% e 30% da profundidade de 0-10 cm para a 10-20 cm, respectivamente. Por outro lado, no mesmo período, verificou-se aumento de 18% nos teores de matéria orgânica (MO) na profundidade de 10-20 cm, nos solos sob plantios de clones BRS370. Nos solos sob plantios de clones BRS608, a diferença ocorreu no período seco, com teores superiores a 33%, na profundidade de 10-20 cm.

No desdobramento para comparar diferentes períodos de precipitação considerando-se as variáveis profundidade x clone, os solos sob plantios de clones BRS608, BRS370 e BRS61, na profundidade de 0-10 cm, reduziram os teores de matéria orgânica (MO) em cerca de 18%, 16% e 26%, respectivamente, no período chuvoso.

Em relação a cada período isolado, verificou-se que, no período seco, tanto na profundidade de 0-10 cm, quanto de 10-20 cm, os teores de matéria orgânica (MO) para os solos sob plantios de BRS611 foram superiores aos encontrados em solos sob plantios de BRS608 e BRS370. No período chuvoso, na profundidade 0-10 cm, os maiores teores de MO foram observados nos solos sob plantios de BRS300 e os menores para os solos sob plantios de BRS608. Na profundidade de 10-20 cm, no mesmo período, os solos sob plantios de clones BRS300, BRS619, BRS370 e BRS611 foram os que apresentaram os maiores teores de MO, em comparação aos solos sob plantios de clone BRS608.

Diante desses resultados, observa-se acúmulo de matéria orgânica (MO) no período seco e redução conforme a profundidade. Esse acúmulo de matéria orgânica (MO) nas camadas superficiais pode ser devido à incorporação de restos da cultura. Por outro lado, quando se tem redução da quantidade de matéria orgânica (MO) nos solos pode ocorrer

indisponibilidade de nutrientes químicos essenciais, uma vez que a MO incorpora no solo dois elementos essenciais, como o carbono (C) e nitrogênio (N), além do fósforo (P) e enxofre (S) (Sarmiento e Bottner, 2002). Com isso, pode-se inferir que parte da produtividade dos guaranazeiros, crescidos em solos ácidos e com pouca disponibilidade de nutrientes, pode ser devida ao acúmulo de matéria orgânica, uma vez que, essa fração também contribui fortemente para a estruturação do solo, retenção de água, estímulo a atividade biológica, decomposição e liberação de nutrientes para as plantas (Luizão e Luizão, 1997; Solomon *et al.*, 2000).

Os resultados das interações entre os fatores demonstraram que os solos sob plantios de BRS370 apresentaram aumento de cerca de 64% para a relação C/N, na profundidade de 10-20 cm, no período chuvoso. Comparando-se os dois períodos de precipitação, verificou-se que a relação C/N reduziu no período chuvoso (Tabela 3). Os solos sob plantios de BRS370 apresentaram redução significativa da relação C/N de cerca de 31% no período chuvoso, na profundidade de 0-10 cm. Para os solos sob plantio de BRS611, na mesma profundidade, a redução foi de 29%.

Observando-se a relação C/N em cada período isolado, verificou-se que, no período seco, não foram observadas diferenças para os solos sob plantios de clones de guaranazeiro, tanto na profundidade de 0-10 cm, quanto na profundidade de 10-20 cm. Por outro lado, no período chuvoso, as maiores relações C/N foram observadas para os solos sob plantios de BRS370, tanto na profundidade de 0-10 cm quanto na profundidade de 10-20 cm, e os menores valores para o BRS608, nas mesmas profundidades (Tabela 3).

De maneira geral, verificou-se que a relação C/N em todos os clones ficou abaixo de 20, o que sugere o predomínio, nesse solo do processo de mineralização, o que resulta em baixa disponibilidade de nitrogênio inorgânico. A relação C/N pode ser um bom indicador para os teores de N no solo, além do que pode ser usada como uma estimativa da disponibilidade MO do solo, importante fonte de nutrientes, por meio da sua decomposição e, subsequentemente, mineralização (Ribeiro *et al.*, 2002; Seneviratne, 2002; Tolosa *et al.*, 2003).

Todavia, vale ressaltar que a relação C/N afeta diretamente a intensidade de decomposição da matéria orgânica. Quando a proporção entre carbono (C) e nitrogênio (N) é alta, há demanda microbiana por nitrogênio inorgânico, processo denominado de imobilização, que retorna o nitrogênio novamente à condição orgânica. A conversão de nitrogênio (N) orgânico para as formas minerais, geralmente é rápida. De modo geral, valores entre 20 a 30 na relação C/N, podem resultar tanto na imobilização quanto na mineralização.

Valores acima de 30 resultam em imobilização, e em valores abaixo de 20, predomina a liberação de nitrogênio (N) mineral (Paiva e Oliveira, 2006). Portanto, os resultados da razão C/N menores de 20, em todos os tratamentos, podem ser atribuídos ao fato dos solos sob plantios de guaranazeiros apresentarem baixas concentrações de nitrogênio inorgânico, forma absorvida pelas plantas (Tabela 5).

### **3.1.2 Intercâmbio catiônico na solução do solo**

A análise das somas de bases (SB) para interação período x clone não evidenciou diferenças ( $P=0,897$ ) quando se comparou as profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm (Tabela 4). Resultado similar ocorreu no desdobramento estatístico para comparar diferentes períodos de precipitação para a relação profundidade x clone, onde os clones não apresentaram diferenças significativas ( $P=0,936$ ) quando se comparou o período seco com o chuvoso. No entanto, quando se observou cada período isolado, verificou-se que, no período seco, tanto na profundidade de 0-10 cm, quanto 10-20 cm, os solos sob plantios de clones BRS611 apresentaram maiores valores de somas de bases (SB) do que os solos sob plantios de BRS871, na profundidade 0-10 cm e de BRS370, na profundidade 10-20 cm. No período chuvoso, tanto na profundidade de 0-10 cm, quanto 10-20 cm, os solos sob plantios de BRS611 apresentaram maiores valores de somas de bases (SB) do que os solos sob plantios de clones BRS871.

Em relação à capacidade de troca catiônica - CTC efetiva (t) considerando-se a interação período x clone não ocorreram diferenças, quando comparadas as profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm (Tabela 4). Resultado semelhante ocorreu no desdobramento estatístico para comparar diferentes períodos de precipitação na interação profundidade x clone, onde os clones não apresentaram diferenças entre os períodos seco e chuvoso. No entanto, em cada período isolado, verificou-se que, tanto no período seco quanto no chuvoso, nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm, os solos sob plantios de clones BRS611 apresentaram os maiores valores de CTC efetiva (t) do que os solos sob plantios de BRS608.

**Tabela 4:** Soma de bases (SB), Capacidade de troca catiônica- CTC efetiva (t), CTC a pH=7,0 (T), saturação de bases (V), saturação por alumínio (m) sob duas profundidades (prof.), nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Parâmetros	prof (cm)	BRS300		BRS619		BRS871		BRS608		BRS370		BRS611	
		Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
SB ( $\text{cmol}_c/\text{dm}^3$ )	0-10	B0,36	B0,37	B0,36	B0,27	B0,31	B0,26	B0,44	B0,27	B0,31	B0,45	A1,17	A1,00
		$\pm 0,06\text{Aa}$	$\pm 0,16\text{Aa}$	0,11Aa	$\pm 0,08\text{Aa}$	$\pm 0,13\text{Aa}$	$\pm 0,10\text{Aa}$	$\pm 0,20\text{Aa}$	$\pm 0,07\text{Aa}$	$\pm 0,07\text{Aa}$	$\pm 0,37\text{Aa}$	$\pm 0,64\text{Aa}$	$\pm 0,59\text{Aa}$
	10-20	B0,22	AB0,24	B0,22	B0,22	B0,26	B0,17	B0,34	AB0,27	B0,21	AB0,36	A0,94	A0,72
		$\pm 0,06\text{Aa}$	$\pm 0,05\text{Aa}$	$\pm 0,05\text{Aa}$	$\pm 0,05\text{Aa}$	$\pm 0,06\text{Aa}$	$\pm 0,02\text{Aa}$	$\pm 0,24\text{Aa}$	$\pm 0,15\text{Aa}$	$\pm 0,03\text{Aa}$	$\pm 0,35\text{Aa}$	$\pm 0,47\text{Aa}$	$\pm 0,47\text{Aa}$
t ( $\text{cmol}_c/\text{dm}^3$ )	0-10	ABC1,99	AB1,86	AB2,11	AB2,01	BC1,79	AB1,97	C1,66	C1,52	BC1,85	BC1,72	A2,30	A2,22
		$\pm 0,12\text{Aa}$	$\pm 0,13\text{Aa}$	$\pm 0,21\text{Aa}$	$\pm 0,05\text{Aa}$	$\pm 0,14\text{Aa}$	$\pm 0,16\text{Aa}$	$\pm 0,20\text{Aa}$	$\pm 0,27\text{Aa}$	$\pm 0,24\text{Aa}$	$\pm 0,32\text{Aa}$	$\pm 0,41\text{Aa}$	$\pm 0,31\text{Aa}$
	10-20	AB1,74	AB1,79	AB1,84	AB1,88	AB1,70	AB1,78	C1,48	C1,45	AB1,69	AB1,52	A2,11	A1,88
		$\pm 0,15\text{Aa}$	$\pm 0,16\text{Aa}$	$\pm 0,28\text{Aa}$	$\pm 0,21\text{Aa}$	$\pm 0,25\text{Aa}$	$\pm 0,24\text{Aa}$	$\pm 0,24\text{Aa}$	$\pm 0,26\text{Aa}$	$\pm 0,17\text{Aa}$	$\pm 0,35\text{Aa}$	$\pm 0,33\text{Aa}$	$\pm 0,31\text{Ba}$
T ( $\text{cmol}_c/\text{dm}^3$ )	0-10	B6,92	AB7,76	AB7,70	A8,93	B6,69	A8,44	AB7,59	B6,45	B7,47	AB7,64	A9,33	A8,67
		$\pm 0,84\text{Aa}$	$\pm 0,73\text{Aa}$	$\pm 0,78\text{Aa}$	$\pm 0,72\text{Aa}$	$\pm 1,11\text{Ab}$	$\pm 0,65\text{Aa}$	$\pm 1,04\text{Aa}$	$\pm 1,41\text{Aa}$	$\pm 0,83\text{Aa}$	$\pm 1,44\text{Aa}$	$\pm 0,96\text{Aa}$	$\pm 1,01\text{Aa}$
	10-20	B5,66	A7,27	B6,70	A7,66	B6,59	A7,77	B5,99	A5,94	AB7,04	A6,36	A8,62	A7,51
		$\pm 0,97\text{Ab}$	$\pm 0,58\text{Aa}$	$\pm 1,28\text{Aa}$	$\pm 0,72\text{Aa}$	$\pm 1,42\text{Aa}$	$\pm 1,20\text{Aa}$	$\pm 1,00\text{Ba}$	$\pm 1,19\text{Aa}$	$\pm 0,64\text{Aa}$	$\pm 1,56\text{Ba}$	$\pm 1,26\text{Aa}$	$\pm 1,00\text{Aa}$
V (%)	0-10	B5,34	B4,83	B4,26	B3,05	B4,37	B3,10	B3,88	B4,24	B4,24	B5,70	A12,15	A11,23
		$\pm 1,36\text{Aa}$	$\pm 1,96\text{Aa}$	$\pm 0,88\text{Aa}$	$\pm 0,63\text{Aa}$	$\pm 1,55\text{Aa}$	$\pm 1,19\text{Aa}$	$\pm 0,42\text{Aa}$	$\pm 1,02\text{Aa}$	$\pm 1,27\text{Aa}$	$\pm 4,26\text{Aa}$	$\pm 5,57\text{Aa}$	$\pm 5,58\text{Aa}$
	10-20	B3,97	B3,30	B3,20	B2,98	B4,05	B2,29	AB5,87	AB4,37	B2,93	AB5,37	A10,63	A9,21
		$\pm 1,20\text{Aa}$	$\pm 0,86\text{Aa}$	$\pm 0,35\text{Aa}$	$\pm 0,89\text{Aa}$	$\pm 1,11\text{Aa}$	$\pm 0,59\text{Aa}$	$\pm 3,97\text{Aa}$	$\pm 2,03\text{Aa}$	$\pm 0,45\text{Aa}$	$\pm 4,21\text{Aa}$	$\pm 4,69\text{Aa}$	$\pm 4,69\text{Aa}$
m (%)	0-10	A81,75	A79,91	A83,06	A86,38	A83,10	A86,90	A71,67	A82,07	A82,99	AB74,61	B51,47	B57,00
		$\pm 3,51\text{Aa}$	$\pm 8,20\text{Aa}$	$\pm 4,16\text{Aa}$	$\pm 3,56\text{Aa}$	$\pm 6,26\text{Aa}$	$\pm 4,39\text{Aa}$	$\pm 16,14\text{Aa}$	$\pm 4,29\text{Aa}$	$\pm 4,45\text{Aa}$	$\pm 19,17\text{Aa}$	$\pm 18,78\text{Aa}$	$\pm 18,74\text{Aa}$
	10-20	A87,34	A86,60	A88,38	A87,86	A84,72	A90,18	AB76,46	AB81,57	A87,72	AB77,51	B57,33	B63,66
		$\pm 3,27\text{Aa}$	$\pm 3,38\text{Aa}$	$\pm 1,37\text{Aa}$	$\pm 3,49\text{Aa}$	$\pm 2,15\text{Aa}$	$\pm 1,58\text{Aa}$	$\pm 15,73\text{Aa}$	$\pm 10,16\text{Aa}$	$\pm 2,27\text{Aa}$	$\pm 17,50\text{Aa}$	$\pm 16,73\text{Aa}$	$\pm 17,15\text{Aa}$

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas, para profundidades e períodos, respectivamente, e pela mesma letra maiúscula à esquerda para clones em cada período, não diferem pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão ( $n=5$ ).

No que se refere à saturação de bases (V) e à saturação por alumínio (m) para a interação entre as variáveis período x clone, observou-se que no solo sob plantios dos clones de guaranazeiro não ocorreram diferenças significativas, quando comparou-se as profundidades de 0-10 cm com 10-20 cm (Tabela 4). Resultado semelhante ocorreu no desdobramento estatístico para comparar diferentes períodos de precipitação considerando a interação profundidade x clone, onde os clones não apresentaram diferenças quando se comparou o período seco com chuvoso. No entanto, em cada período isolado, verificou-se que, no período seco e nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm, os maiores valores de saturação de bases (V) foram encontrados nos solos sob plantios de BRS611. Por sua vez, os menores valores de (V) foram observados nos solos sob plantios de BRS608, na profundidade de 0-10 cm, e BRS370, na profundidade de 10-20 cm.

No período chuvoso, nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm, os maiores valores de (V) também foram encontrados nos solos sob plantios de clones BRS611. Por outro lado, na profundidade de 10-20 cm, os menores valores foram verificados nos solos sob plantios de clones BRS619. Em relação às observações para saturação por alumínio (m), verificou-se que, tanto no período seco, quanto no chuvoso, nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm, os maiores valores de saturação por alumínio (m) foram observados nos solos sob plantios de BRS871 e os menores valores para os solos os sob plantios de BRS611.

Os solos sob plantios de BRS611 foram os que apresentaram as melhores características em relação ao intercâmbio catiônico, por apresentarem maior soma de base (SB), aliada a valores altos da CTC efetiva (t) e valores baixos de saturação por alumínio. Por outro lado, os solos sob plantios de clones BRS300, BRS619, BRS871, BRS608 e BRS370, de maneira geral, foram verificados baixos teores de nutrientes, fato confirmado pelos baixos valores de saturação de bases (SB), acidez excessiva e altos valores de saturação por alumínio (m). De maneira, os valores de CTC efetiva ( $t < 2,5 \text{ cmolc /dm}^3$ ), são extremamente baixos, refletindo que os solos, sob condições que se encontram ( $\text{pH} < 5$ ), apresentam baixa capacidade de reter cátions, mesmo apresentando teores de 20 g/kg de matéria orgânica (MO), considerado razoável para manutenção da fertilidade do solo (Lopes e Guilherme, 1992).

Observa-se ainda que, com essa CTC efetiva (t), mais de 70% (exceto para o clone BRS611) dos sítios de trocas são ocupados pelo Al, o que certamente oferece sérias limitações ao crescimento e desenvolvimento das plantas. Entretanto, foi observado boa atividade das argilas desses solos, fato confirmado pela observação dos valores das CTC a pH 7,0 (T), que atingiu valores acima de  $5,0 \text{ cmolc /dm}^3$ , em termos relativos à CTC efetiva. Do ponto de vista prático, a elevada CTC a pH 7,0 (T), demonstra boa reatividade dos colóides de argila.

Assim, caso a calagem desses solos sob plantios de guaranazeiros fosse feita para elevar o pH a 7,0 t aumentaria as cargas negativas passíveis de serem ocupadas por cátions nos sítios de trocas.

### **3.1.3 Caracterização da disponibilidade de macronutrientes na solução do solo**

Para os teores de macronutrientes na solução do solo considerando as variáveis período x clone, observou-se que apenas os teores de nitrogênio (N), potássio (K) e magnésio (Mg) diminuíram com a profundidade do solo (Tabela 5). Para o clone BRS300, ocorreu diminuição do teor de (N) na profundidade de 0-10 cm para 10-20 cm, tanto no período chuvoso quanto no seco. Para os solos sob plantios de BRS619 as reduções ocorreram apenas no período chuvoso e, para o BRS608 no período seco. Em relação aos teores de potássio (K), quando se comparou as profundidades, verificou-se redução desse elemento apenas no período seco nos solos sob plantios de clones BRS300, BRS608 e BRS611, na profundidade de 10-20 cm. O efeito da profundidade em relação aos teores de magnésio (Mg), também foram observados nos solos sob plantios de clones BRS611. No período chuvoso, o magnésio (Mg) reduziu cerca de 3,7 vezes com a profundidade do solo. Estudos das alterações químicas em solos submetidos a diferentes formas de manejo do cafeeiro demonstraram que as características de fertilidade na camada superficial do solo foram as que mais apresentaram diferenças em relação à profundidade (Theodoro *et al.*, 2003).

O desdobramento estatístico para comparar diferentes períodos de precipitação na profundidade x clone, evidenciaram que para o clone BRS300, os teores de nitrogênio (N) no solo foram maiores no período chuvoso em comparação ao período seco, na profundidade de 0-10 cm. Similarmente, comparando-se os períodos seco e chuvoso, o clone BRS871 apresentou maiores valores no período chuvoso, nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm. Os maiores valores de potássio (K) foram observados nos solos sob plantios de clones BRS871, no período chuvoso em comparação com o seco, nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm. Essa disponibilidade de nutriente favorece uma maior absorção e, por conseguinte, aumento da resistência às condições adversas, pois o potássio (K) possui função específica na abertura e fechamento dos estômatos permeabilidade da membrana, controle do pH, processos osmóticos e na síntese de proteínas e manutenção da sua estabilidade, fatores que contribuem para a tolerância das plantas em condições de estresse (Malavolta *et al.*, 2002).

**TABELA 5:** Teores de macronutrientes no solo, Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) sob duas profundidades (prof.) nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Parâmetros	Prof (cm)	BRS300		BRS619		BRS871		BRS608		BRS370		BRS611	
		Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
N (g/Kg)	0-10	A1,67 ±0,03Ab	AB1,84 ±0,08Aa	A1,68 ±0,10Ab	A1,96 ±0,10Aa	A1,67 ±0,15Ab	A1,94 ±0,13Aa	A1,72 ±0,30Aa	B1,49 ±0,28Aa	A1,59 ±0,10Aa	AB1,71 ±0,26Aa	A1,92 ±0,21Aa	A1,98 ±0,18Aa
	10-20	AB1,52 ±0,14Ba	B1,51 ±0,07Ba	AB1,49 ±0,23Aa	AB1,62 ±0,23Ba	AB1,46 ±0,20Ab	AB1,70 ±0,14Aa	B1,33 ±0,14Ba	B1,43 ±0,14Aa	AB1,51 ±0,09Aa	B1,56 ±0,33Aa	A1,74 ±0,19Aa	A1,92 ±0,32Aa
P (mg/dm <sup>3</sup> )	0-10	A4,60 ±0,55Aa	A5,20 ±1,64Aa	A5,40 ±1,14Aa	A5,80 ±1,79Aa	A4,25 ±1,50Aa	A5,40 ±1,14Aa	A4,25 ±1,09Aa	A7,00 ±4,95Aa	A3,40 ±0,89Aa	A4,00 ±2,35Aa	A5,00 ±2,35Aa	A4,80 ±1,48Aa
	10-20	A3,60 ±1,52Aa	A6,00 ±6,16Aa	3,20 ±1,30Aa	A3,60 ±0,55Aa	A3,20 ±1,30Aa	A4,20 ±1,64Aa	A4,20 ±2,95Aa	A5,00 ±3,16Aa	A2,80 ±0,84Aa	A2,40 ±1,14Aa	A4,20 ±2,17Aa	A2,80 ±1,10Aa
K (mg/dm <sup>3</sup> )	0-10	44,00 ±9,54Aa	39,00 ±17,79Aa	46,40 ±12,46Aa	36,20 ±7,40Aa	53,25 ±17,35Aa	29,60 ±5,68Ab	64,00 ±12,35Aa	25,20 ±4,97Ab	57,20 ±17,41Aa	28,00 ±5,24Ab	92,20 ±36,71Aa	52,40 ±24,56Ab
	10-20	28,20 ±5,36Ba	26,80 ±5,54Aa	28,60 ±4,34Aa	24,40 ±4,98Aa	49,20 ±13,48Aa	21,40 ±1,34Ab	34,00 ±9,64Ba	18,60 ±1,95Aa	35,80 ±8,47Ba	23,00 ±5,34Aa	54,40 ±14,52Ba	37,20 ±15,85Ab
Ca (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0-10	B0,12 ±0,02Aa	B0,14 ±0,06Aa	B0,12 ±0,05Aa	B0,10 ±0,05Aa	B0,09 ±0,04Aa	B0,09 ±0,04Aa	B0,18 ±0,16Aa	B 0,11 ±0,04Aa	B0,09 ±0,01Aa	B0,23 ±0,26Aa	A0,56 ±0,36Aa	A0,55 ±0,36Aa
	10-20	B0,07 ±0,05Aa	0,08 ±0,03Aa	B0,06 ±0,03Aa	0,08 ±0,03Aa	B0,06 ±0,02Aa	0,06 ±0,02Aa	B0,16 ±0,14Aa	0,15 ±0,14Aa	B0,06 ±0,01Aa	0,19 ±0,25Aa	A0,48 ±0,28Aa	0,42 ±0,34Aa
Mg (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0-10	B0,13 ±0,03Aa	B0,12 ±0,05Aa	B0,11 ±0,03Aa	B0,07 ±0,02Aa	B0,08 ±0,05Aa	B0,08 ±0,04Aa	B0,09 ±0,02Aa	B0,08 ±0,03Aa	B0,07 ±0,02Aa	B0,14 ±0,09Aa	A0,37 ±0,20Aa	A0,30 ±0,08Aa
	10-20	B0,07 ±0,01Aa	A0,08 ±0,03Aa	B0,08 ±0,01Aa	A0,07 ±0,01Aa	B0,07 ±0,02Aa	A0,05 ±0,01Aa	B0,09 ±0,09Aa	A0,05 ±0,01Aa	B0,05 ±0,01Aa	A0,10 ±0,08Aa	A0,28 ±0,03Aa	A0,19 ±0,01Bb

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas, para profundidades e períodos, respectivamente, e pela mesma letra maiúscula à esquerda para clones em cada período, não diferem pelo Teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão (n=5).

Em observações realizadas em cada período isolado, verificou-se que no período seco, os valores de nitrogênio (N), na profundidade de 0-10 cm, não foram significativos, mas na profundidade de 10-20 cm, o maior valor foi para o clone BRS611 e o menor valor para o clone BRS608. No período chuvoso, tanto na profundidade de 0-10 cm quanto 10-20 cm, os maiores valores de nitrogênio (N) foram para os solos sob plantios de BRS611 e os menores valores para solos sob plantios de BRS608. Quando se analisa outros macronutrientes, verifica-se que, fósforo (P) e cálcio (Ca), não apresentaram diferenças para a interação dos fatores.

No que se refere ao teor de nitrogênio (N), este nutriente é requerido em grande quantidade pelas plantas, além de ser móvel no solo e na planta. Nos solos sob plantios de clones de guaranazeiro, verificaram-se perdas desse nutriente conforme a profundidade do solo e diferenças em períodos distintos de precipitação, inferindo-se que, esse nutriente podem apresentar variações do seu teor no solo, em decorrência dos processos de mineralização e/ou imobilização (Paiva e Oliveira, 2006).

As plantas geralmente absorvem o N mineral em duas formas, amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) e nítrica ( $\text{NO}_3^-$ ). A fonte de N da adubação influencia o pH do solo e da rizosfera, variando a absorção com a espécie, o estado nutricional da planta e capacidade tampão do solo, uma vez que os fertilizantes nitrogenados amoniacais tendem a acidificar o solo pelo processo de nitrificação (Zanão Junior et al., 2009). Por outro lado, para nutrientes catiônicos como o cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K) a absorção se dá por interceptação radicular e fluxo de massa. Destaca-se ainda que sais de potássio (K) apresentam alta solubilidade, o que confere certa mobilidade desse elemento na solução do solo. Por sua vez, nem todos os macronutrientes apresentam alta mobilidade no solo. Por exemplo, a manutenção do fósforo na solução do solo ocorre devida esse elemento ser geralmente adsorvido por íons de ferro e alumínio, ficando assim, indisponíveis para absorção pelas plantas (Lehmann *et al.*, 2001)

Em relação aos teores de fósforo, as diferentes profundidades nos dois períodos de precipitação não influenciaram os teores deste elemento nos solos sob plantios de clones de guaranazeiro. No entanto, os baixos teores desse elemento no solo estão relacionados com alta acidez que o solo se encontra, pois em pH mais ácido (menor que 5,5) o P é fixado por óxidos de Fe, Al e Mn tornam-se indisponível para as plantas. Por outro lado, quando o pH se torna alcalino (maior que 7,0), o P é fixado por óxidos de Ca (Malavolta, 2006).

No geral os solos sob plantios de clones de guaranazeiro apresentaram baixos teores de macronutrientes catiônicos, o que é confirmado pelos baixos valores de saturação de bases (v) e também pelos baixos valores de CTC efetiva (t) (Tabela 4).



### 3.1.4 Caracterização da disponibilidade de micronutrientes na solução do solo

Comparando-se as diferentes profundidades dos solos sob plantios de guaranazeiro, verificou-se que os teores de ferro (Fe) e manganês (Mn) não apresentaram diferenças significativas em relação às profundidades, diferentemente para zinco (Zn) e cobre (Cu), ocorreram reduções nos teores desses micronutrientes com a profundidade dos solos (Tabela 6). O clone BRS300, no período chuvoso, apresentou reduções em torno de 55,5% de zinco (Zn) e 62,7% de cobre (Cu), na profundidade de 10-20 cm. Os solos sob plantios de clones BRS370 reduziram cerca de 30% os teores de ferro (Fe) no período chuvoso na profundidade de 10-20 cm, o clone BRS300, por outro lado, aumentou os teores de zinco (Zn) no período chuvoso, em cerca de 180%, na profundidade de 10-20 cm. Os teores de cobre (Cu), também aumentaram em cerca de 230%, na profundidade de 0-10 cm, no mesmo período. Os solos sob plantios de clones BRS608, aumentaram os teores de zinco (Zn) no período chuvoso, em cerca de 140%, na profundidade de 10-20 cm.

Analisando os clones em período isolado, no período seco, nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm, não ocorreram diferenças nos teores de ferro (Fe), zinco (Zn) e cobre (Cu), mas os teores de manganês (Mn) foram maiores nos solos sob plantios de clones BRS611, tanto na profundidade de 0-10 cm, quanto a 10-20 cm e os menores valores foram observados nos solos sob plantios de clones BRS871 e BRS370, nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm, respectivamente (Tabela 6).

**Tabela 6:** Teores de micronutrientes no solo, Ferro (Fe), Zinco (Zn), Manganês (Mn), Cobre (Cu) e Sódio (Na), sob duas profundidades (prof.) nos solos com plantios de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Parâmetros	Prof (cm)	BRS300		BRS619		BRS871		BRS608		BRS370		BRS611	
		Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
<b>Fe</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	0-10	A396,20 ±51,91 Aa	A360,60 ±31,82Aa	A346,20 ±33,30Aa	A365,80 ±28,19Aa	A337,75 ±104,3Aa	A339,60 ±17,30Aa	A335,75 ±61,92Aa	A313,60 ±41,02Aa	A372,60 ±31,05Aa	A290,40 ±94,82Aa	A301,20 ±49,29Aa	A277,20 ±70,28Aa
	10-20	A392,20 ±29,32Aa	A412,60 ±37,91Aa	A375,00 ±46,83Aa	A403,00 ±14,35Aa	A346,80 ±130,44Aa	AB317,40 ±110,91Aa	A363,40 ±84,61Aa	AB310,00 ±84,77Aa	A406,20 ±45,35Aa	AB302,80 ±57,98Ab	A357,60 ±32,24)Aa	B276,80 ±112,93Aa
<b>Zn</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	0-10	A1,10 ±0,19Ab	A3,10 ±0,13)Aa	A0,97 ±0,29Aa	B1,15 ±0,31Aa	A0,75 ±0,34Aa	B1,28 ±0,72Aa	A0,70 ±0,08Ab	B1,71 ±0,16Aa	A0,66 ±0,17Aa	B0,91 ±0,29Aa	A0,95 ±0,37Aa	B1,43 ±0,46Aa
	10-20	A0,73 ±0,21Aa	A1,38 ±0,80Ba	A0,56 0,11Aa	A0,73 ±0,20Aa	A0,56 ±0,18Aa	A0,68 ±0,16Aa	A0,50 ±0,08Ba	A1,44 ±0,31Aa	A0,46 ±0,07Aa	A0,71 ±0,30Aa	A0,78 ±0,26)Aa	A0,80 ±0,13)Aa
<b>Mn</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	0-10	B1,71 ±0,45Aa	AB2,30 ±1,74Aa	B1,36 ±0,30Aa	B1,56 ±0,60Aa	B0,86 ±0,29Aa	B1,24 ±0,25Aa	B1,40 ±0,37Aa	B1,02 ±0,47Aa	B0,97 ±0,12Aa	B1,84 ±1,38Aa	A4,57 ±2,11Aa	A3,82 ±1,98Aa
	10-20	B1,10 ±0,26 Aa	A1,16 ±0,31Aa	B0,98 ±0,12Aa	A1,09 ±0,25Aa	B0,77 ±0,25Aa	A0,80 ±0,28Aa	B1,11 ±0,32Aa	A1,68 ±1,50Aa	B0,77 ±0,05Aa	A1,65 ±1,47Aa	A3,77 ±1,97Aa	A2,53 ±1,56Aa
<b>Cu</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	0-10	A0,33 ±0,03Ab	A1,10 ±0,32Aa	A0,32 ±0,02Aa	A0,40 ±0,06Aa	A0,29 ±0,03Aa	A0,36 ±0,03Aa	A0,37 ±0,08Aa	A0,36 0,11Aa	A0,29 ±0,02Aa	A0,39 ±0,08Aa	A0,42 ±0,08) Aa	AB0,62 ±0,31Aa
	10-20	A0,30 ±0,05Aa	A0,41 ±0,09Ba	A0,28 ±0,02Aa	A0,38 ±0,08Aa	A0,28 ±0,04Aa	A0,35 ±0,06Aa	A0,33 ±0,10Aa	A0,58 ±0,50Aa	A0,26 ±0,03Aa	A0,35 ±0,07Aa	A0,40 ±0,07Aa	A0,42 ±0,05Aa
<b>Na</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	0-10	A1,40 ±0,89Aa	A2,20 ±0,45Aa	A1,00 ±0,00Ab	A2,40 ±1,14Aa	A1,00 ±0,00Aa	A2,00 ±0,00Aa	A1,25 ±0,43Ab	A3,40 ±1,52Aa	A1,00 ±0,00Ab	A2,20 ±0,84Aa	A2,20 ±0,45Aa	A3,00 ±0,00Aa
	10-20	A2,00 ±1,73Aa	C1,60 ±0,55Aa	A1,20 ±0,45Aa	BC2,20 ±0,45Aa	A1,00 ±0,00Aa	C1,60 ±0,55Aa	A1,00 ±0,00Ab	A3,80 ±2,17Aa	A1,20 ±0,45Ab	AB3,20 ±1,30Aa	A1,80 ±0,45Ab	AB3,20 ±0,84Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas, para profundidades e períodos, respectivamente, e pela mesma letra maiúscula à esquerda para clones em cada período, não diferem pelo Teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão (n=5).

No período chuvoso, os teores de ferro (Fe) nos solos sob plantios dos diferentes clones na profundidade de 0-10 cm, não foram significativos. No entanto, na profundidade de 10-20 cm, os maiores teores foram verificados nos solos sob plantios de clones BRS300 e os menores para o clone BRS611.

Os maiores teores de zinco (Zn) e cobre (Cu), na profundidade de 0-10 cm, foram observados para plantios com o clone BRS300 e os menores para os clones BRS370 e BRS608, respectivamente e, na profundidade de 10-20 cm, os teores de zinco (Zn), manganês (Mn) e cobre (Cu) não exibiram diferenças entre os solos. O clone BRS611 apresentou os maiores valores de Manganês (Mn) no período chuvoso na profundidade de 0-10 cm (Tabela 6). Em todos os tratamentos, os teores de Ferro (Fe) estão em níveis altíssimos, chegando a 396,20 mg/dm<sup>3</sup> nos solos sob plantio de clone BRS300, no período seco. Níveis considerados adequados para a planta estão em torno de 25 mg/dm<sup>3</sup> a 50 mg/dm<sup>3</sup> de ferro no solo, teores superiores a esses valores acabam se tornando tóxicos às plantas (Epstein e Bloom, 2006).

Quando o pH do solo aumenta, o Zn é mais adsorvido pelos óxidos e hidróxidos de Fe, Al e Mn. O aumento do pH do solo causa a precipitação dos cátions metálicos na forma de óxidos de Mn e de Fe cristalinos e amorfos, decrescendo, por sua vez, a forma trocável e ligada matéria orgânica. A acidificação gradual do solo, principalmente devida à lixiviação, também leva a mudanças nas formas dos metais. Apesar da influência do pH do solo na adsorção dos metais, elementos relativamente móveis, como o Zn, encontra-se, predominantemente, nas frações solúvel, trocável e associada a carbonatos, enquanto os elementos de baixa mobilidade estão ligados às frações de óxidos de Fe e de Mn, orgânica e residual (André *et al.*, 2003).

Para os teores de sódio (Na), os diferentes períodos de precipitação influenciaram no teor desse elemento no solo. Aumentos dos teores foram encontrados no período chuvoso na camada de 0-10 cm nos clones BRS619, BRS608 e BRS370. Na camada de 10-20 cm, no mesmo período, os maiores teores foram encontrados nos solos sob plantios de clones BRS608, BRS370 e BRS611.

## 3.2 ANÁLISE FOLIAR DE GUARANAZEIRO

### 3.2.1 Influência dos diferentes períodos de precipitação no acúmulo de macronutrientes nas folhas dos clones de guaranazeiro

Comparando os teores de nutrientes nas folhas dos clones de guaranazeiro, observou-se que no período seco os maiores acúmulos de nitrogênio (N) foram encontrados nos clones BRS871, BRS608 e BRS370. Observando cada período isolado, verificou-se que, no período seco os teores de nitrogênio (N) foliar no clone BRS871 foram superiores aos teores encontrados no clone BRS611. No período chuvoso, verificaram-se maiores teores de nitrogênio (N) foliar no clone BRS300 e os menores no clone BRS611 (Tabela 7). No geral, os clones de guaranazeiro apresentam maiores exigências quanto ao teor de nitrogênio (N), uma vez que esse nutriente foi extraído em maior quantidade em relação ao potássio, cálcio, magnésio e enxofre. Tal fato pode estar relacionado à demanda por este elemento, uma vez que o guaranazeiro sintetiza cafeína, metabólito secundário que pode desempenhar função armazenadora de nitrogênio, pois sua molécula contém quatro átomos desse elemento (Mazzafera *et al.*, 1996). Resultados semelhantes, de acúmulo de nitrogênio (N), foram encontrados em folhas de cafeeiro (Malavolta, 2002). Adicionalmente, em estudos sobre os efeitos de macronutrientes no crescimento de mudas e na produção do guaranazeiro, verificou-se que o nitrogênio foi o elemento extraído em maior quantidade, seguido pelo potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S). O autor verificou, ainda que, para o acúmulo de 3,8 g de M.S, foram extraídos 73,28 mg de nitrogênio (N), 8,72 mg de fósforo (P), 33,39 mg de potássio (K), 16,41 mg de cálcio (Ca), 11,52 mg de magnésio (Mg) e 8,04 mg de enxofre (S), em plantas sob condições de viveiro (Rodrigues *et al.*, 1990).

Em relação aos teores de fósforo (P), as folhas dos clones BRS619, BRS871, BRS608 e BRS370 apresentaram os maiores teores foliares no período seco. Em relação a cada período isolado, verificou-se que, no período seco, os maiores teores de fósforo (P) ocorreram nas folhas do clone BRS608 e os menores teores nas folhas do clone BRS611. No período chuvoso, os maiores acúmulos foliares foram no clone BRS300 e os menores no clone BRS619 (Tabela 7).

**Tabela 7:** Teores foliares de macronutrientes em clones de guaranazeiro cultivado sob plantio de produção, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Clones	Período	N	P	K	Ca	Mg	S
<b>BRS300</b>	Seco	BC31, 14± 2,37a	BC1,33±0,21b	BC9,73±0,64a	B2,74±0,382a	A 1,56±0,16a	A1,26±0,17a
	Chuvoso	A33,21±1,24a	A1,52±0,17a	AB10,06±0,74a	ABC1,78±0,30b	B 1,31±0,07b	AB1,30±0,24a
<b>BRS619</b>	Seco	B31,93±1,88a	BC1,30±0,07a	C8,33±0,70a	BC2,31±0,35a	B1,08±0,07a	A1,20±0,16a
	Chuvoso	AB30,90±1,30a	C1,12±(0,10)b	B8,69±0,92a	AB2,23±0,25a	BC1,22±0,08a	AB1,30±0,10a
<b>BRS871</b>	Seco	AB34,57±1,19a	AB1,52±0,09a	AB11,23±0,40a	A3,56±0,53a	B1,16±0,10a	A1,32±0,12a
	Chuvoso	B32,02±1,85b	AB1,40±0,13b	AB10,42±1,65a	A2,35±0,35a	BC1,14±0,08a	AB1,50±0,12a
<b>BRS608</b>	Seco	A37,25±0,86a	A1,69±0,17a	A12,18±(1,22)a	BC2,12±0,21a	B1,14±0,09a	A1,44±0,37a
	Chuvoso	A32,68±1,25b	A1,43±0,13b	A12,24±1,35a	BC1,70±0,24a	BC 1,08±0,12a	AB1,49±0,09a
<b>BRS370</b>	Seco	AB34,08±1,16a	AB1,53±0,10a	AB 11,02±0,89a	C1,98±0,37a	B1,15±0,19a	A1,47±0,23a
	Chuvoso	AB29,90±2,87b	BC1,17±0,11b	AB 10,48±1,62a	C1,39±0,29a	C1,02±0,10a	C1,21±0,05a
<b>BRS611</b>	Seco	C27,91±1,82a	C1,23±0,17a	ABC10,68±0,43a	BC2,39±0,22a	A1,67±0,07a	A1,42±0,08a
	Chuvoso	B27,83±3,41a	ABC1,31±0,12a	A12,42±2,15a	AB2,15±0,37a	A1,72±0,29a	A1,59±0,22a

Nas colunas, médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas à esquerda para clones e minúsculas a direita para períodos, não diferem pelo Teste de Tukey  $P \leq 0,05$ ,  $n=5$ . Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão ( $n=5$ ).

Os maiores teores de fósforo encontrado nas folhas do guaranazeiro no período seco podem estar relacionados à expansão do sistema radicular, uma vez, que havendo menor disponibilidade hídrica, as plantas tendem a emitir raízes novas como mecanismo para aumentar a absorção de água nesse período (Gahoonia *et al.*, 2000). A disponibilidade de fósforo é reconhecidamente reduzida pela sua fixação ao ferro, ao alumínio e ao cálcio, que o insolubilizam, diminuindo sua difusão até as raízes. Os baixos teores foliares de fósforo podem limitar diferentes processos fisiológicos. A marcante resposta das plantas à nutrição fosfatada pode estar relacionada ao papel do fósforo na síntese de proteínas, na constituição de nucleoproteínas necessárias à divisão celular, no processo de absorção iônica, nas relações energéticas das plantas na síntese de ATP, além de ter grande influência sobre o desenvolvimento do sistema radicular (Pozza *et al.*, 2002).

Os teores foliares de potássio e de enxofre nos clones não apresentaram diferenças quando comparados os dois períodos de precipitação. Entretanto, em cada período isolado, observou-se acúmulo foliar diferenciado desses nutrientes. No período seco, os teores de potássio nas folhas foram maiores no clone BRS608, enquanto que, os teores de enxofre não apresentaram diferenças, no mesmo período. No período chuvoso, o clone BRS611 apresentou maiores teores tanto de potássio quanto de enxofre (Tabela 7).

Independente do clone, os maiores teores de potássio foliar foram obtidos no período seco. Este fato pode ser explicado devido ao potássio, naturalmente, estar envolvido na regulação osmótica, estratégia que as plantas utilizam no período de menor disponibilidade hídrica. A perda de turgescência e a murcha das folhas são sintomas ligados à deficiência de potássio, sendo que, plantas bem nutrida em potássio são mais resistentes ao estresse hídrico (Jiang e Huang, 2001). Nas circunstâncias em que foram coletadas as folhas de guaranazeiro, quando as plantas se encontravam em plena floração, pode inferir que as flores não estejam agindo como dreno, ao contrário do que foi verificado em cafeeiro onde ocorreu menor acúmulo de potássio nas folhas do que nas inflorescências, confirmando que as flores de cafeeiro constituem um forte dreno temporário de nutrientes (Malavolta *et al.*, 2002).

O clone BRS300 acumulou maiores teores foliar de cálcio e de magnésio no período seco. No entanto, quando se observa cada período isolado, verificou-se que, no período seco, os maiores acúmulos de cálcio e magnésio ocorreram nos clones BRS871 e BRS611, respectivamente. Por outro lado, os menores teores de cálcio e magnésio ocorreram nos clones BRS370 e BRS619, respectivamente. No período chuvoso, os maiores acúmulos cálcio e magnésio (Mg) foram para BRS871 e BRS611, respectivamente, enquanto que os menores teores foram verificados no clone BRS370 (Tabela 7). Por sua vez, o magnésio é essencial

para a absorção de fósforo. Além de fazer parte da clorofila na proporção de 2,7 % desse pigmento, o magnésio é ativador de numerosas enzimas, inclusive das “ativadoras de aminoácidos”, que catalisam o primeiro passo da síntese de proteínas (Marques *et al.* 2004).x

A omissão de enxofre em solução nutritiva em plantas de pimenta-do-reino, também afetou a altura das plantas e a massa da matéria seca e, principalmente, das raízes, que apresentaram menor massa (Velo, 1995). Em guaranazeiro, o enxofre foi o segundo nutriente que mais afetou a massa da matéria seca e a altura da planta quando omitido (Chepote *et al.*, 1984). No café, o sabor doce desejável detectado pelo painel organoléptico da Organização Internacional do Café (OIC) é consequência da presença de açúcares nos grãos após a torração. Os açúcares, juntamente com os aminoácidos sulfurados, são responsáveis pela cor caramelo desejáveis no café, obtidas pelas reações de caramelização (Nogueira, 2001). Portanto, acredita-se que o enxofre tenha papel importante tanto quantitativamente quanto qualitativamente na produção do guaranazeiro.

### **3.2.2 Influência dos diferentes períodos de precipitação no acúmulo de micronutrientes nas folhas dos clones de guaranazeiro**

Com relação a influencia dos diferentes períodos de precipitação sobre o acúmulo de micronutrientes foliares nos clones de guaranazeiro, verificou-se que os maiores acúmulo de cobre no período chuvoso ocorrem nas folhas dos clones BRS619, BRS871 e BRS61 e que todos os clones apresentaram teores elevados de ferro (Fe), no período seco, enquanto que, em todos os clones, os diferentes períodos de precipitação não influenciaram no acúmulo de manganês e zinco (Tabela 8). Observando-se cada período isolado, verificou-se que, tanto no período seco quanto no período chuvoso, os clones não apresentaram diferenças quanto ao acúmulo de cobre. Por outro lado, no período seco, o clone BRS608 apresentou os maiores acúmulos, enquanto que, os clones BRS619 e BRS300 reduziram seus teores. Observou-se ainda que, nesse mesmo período, os clones BRS871 e BRS619 apresentaram os maiores valores de manganês e de zinco. Por outro lado, os menores acúmulos desses nutrientes ocorreram nas folhas dos clones BRS608 e BRS300, respectivamente. No período chuvoso, os maiores acúmulos de ferro, manganês e zinco ocorreram nos clones BRS608, BRS611 e BRS871, respectivamente. Por sua vez os menores acúmulos foram verificados nas folhas dos clones BRS871, BRS608 e BRS300.

**Tabela 8:** Teores foliares de micronutrientes em clones de guaranazeiro, cultivados sob plantio de produção, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Clones	Precipitação	Cu	Fe	Mn	Zn
		mg kg <sup>-1</sup>			
<b>BRS300</b>	Seco	A 7,21±0,92a	B 45,62±11,79a	AB 95,51±17,45a	C 19,18±0,91a
	Chuvoso	A 8,41±0,93a	B 34,08±8,02b	A 99,33±11,61a	B 17,76±2,24a
<b>BRS619</b>	Seco	A 6,83±0,85b	B 45,52±6,18a	BC 68,94±12,95a	A 26,11±2,23a
	Chuvoso	A 8,10±0,67a	B 34,14±4,04b	AB 83,48±19,73a	A 23,68±2,61a
<b>BRS871</b>	Seco	A 7,14±0,95b	A 61,39±2,17a	A 107,41±20,96a	AB 24,42±2,79a
	Chuvoso	A 8,88±0,78a	B 32,98±2,93b	AB 86,04±7,25a	A 25,04±2,95a
<b>BRS608</b>	Seco	A 6,87±0,74a	A 64,34±17,82a	C 48,06±11,38a	A 25,89±2,43a
	Chuvoso	A 7,69±0,82 a	A 50,74±5,86b	B 52,48±12,95a	A 24,86±3,16a
<b>BRS370</b>	Seco	A 8,27±0,99a	AB 52,25±7,96a	ABC 78,97±0,89a	ABC 21,88±4,07a
	Chuvoso	A 8,37±0,94a	AB 35,81±2,90b	B 55,82±22,87a	AB 20,30±1,97a
<b>BRS611</b>	Seco	A 7,49±0,78b	AB 54,23±1,53a	AB 94,79±25,57a	BC 19,49±1,60a
	Chuvoso	A 9,43±1,84a	AB 41,17±4,42b	A 107,28±18,88a	AB 22,27±2,90a

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas à direita para clones e minúsculas a esquerda para períodos, não diferem pelo Teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão (n=5).



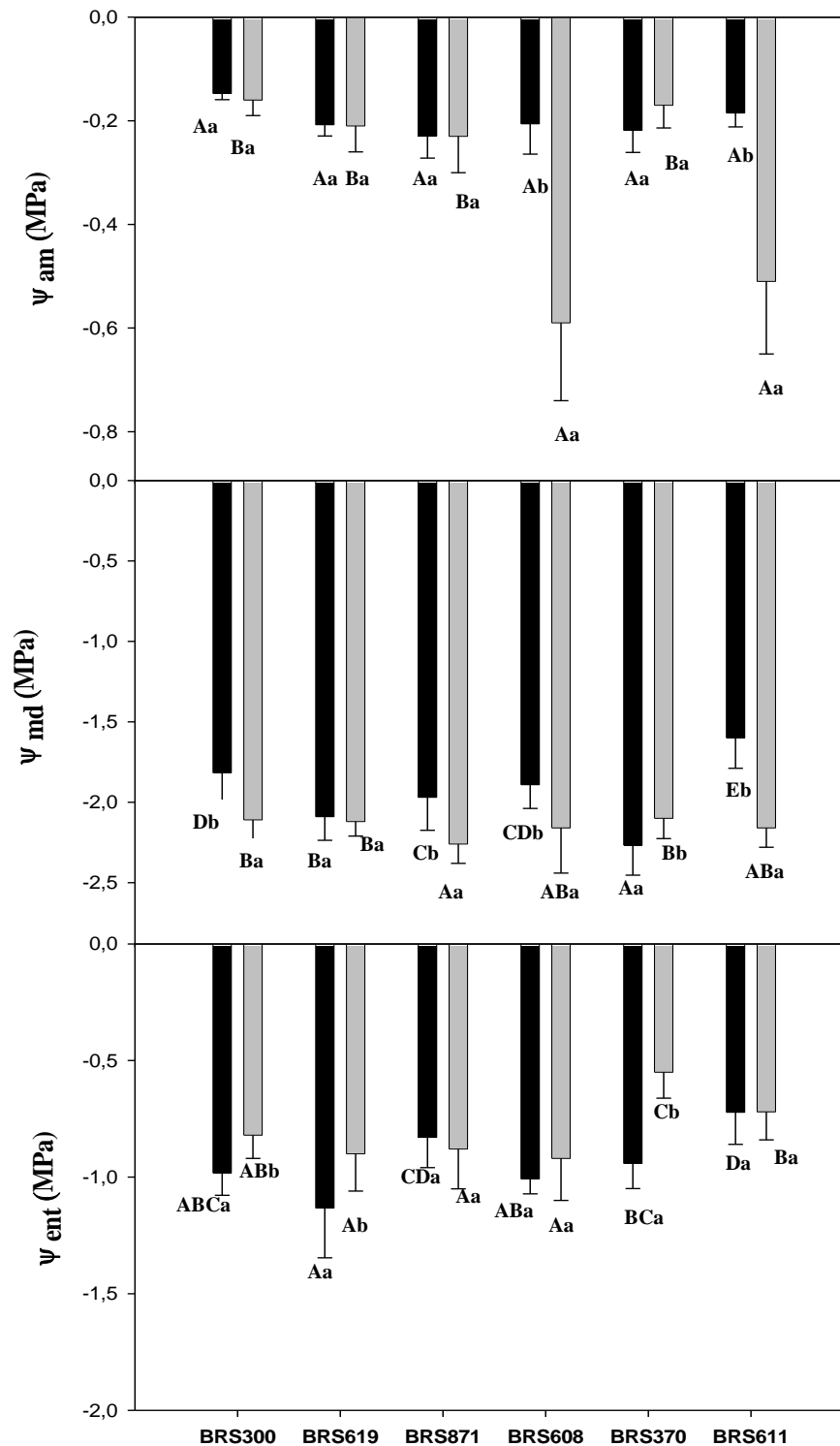
### 3.3 POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR E EFICIÊNCIA NO USO DA ÁGUA

Em relação ao potencial hídrico foliar antemanhã ( $\Psi_{am}$ ), os clones BRS300, BRS619, BRS871 e BRS370 não apresentaram diferenças significativas entre seus potenciais hídricos, comparando-se o período seco com chuvoso. No entanto, os diferentes períodos de precipitação diminuíram o *status* hídrico dos clones BRS608 e BRS611 no período chuvoso (Figura 2). No período seco, os clones apresentaram valores semelhantes de potenciais hídricos. Adicionalmente, no período chuvoso, os clones BRS300, BRS619, BRS871 e BRS370 apresentaram os maiores potenciais hídricos em relação aos clones BRS608 e BRS611.

Para potencial hídrico ao meio dia ( $\Psi_{md}$ ), os maiores potenciais nos clones BRS300, BRS619, BRS871, BRS608 e BRS611 foram verificados no período seco, exceto para o clone BRS370 que apresentou maior potencial no período chuvoso. Analisando essa variável em cada período isolado, verificou-se que, no período seco o clone BRS611 apresentou maior potencial hídrico foliar ao meio dia ( $\Psi_{md} = -1,6$  MPa) em comparação ao clone BRS370 ( $\Psi_{md} = -2,3$  MPa). No período chuvoso, o menor valor de potencial hídrico foliar foi para o clone BRS871, com cerca de  $-2,3$  MPa (figura 3).

Quando se observou o potencial hídrico ao entardecer, verificou-se que os menores potenciais hídricos ao entardecer ( $\Psi_{ent}$ ) foram registrados para o clone BRS619 cerca de  $-1,1$  MPa, no período seco.

De maneira geral, os clones mantiveram seus potenciais hídricos ao amanhecer ( $\Psi_{am}$ ) sempre acima de  $-1$ MPa, tanto no período seco quanto no período chuvoso (Figura 2). No entanto, os menores potenciais hídricos ao meio dia ( $\Psi_{md}$ ) apresentados por alguns clones no período chuvoso, podem estar relacionados ao baixo nível pluviométrico no mês de abril, pois, mesmo ainda sendo um período chuvoso, exibiu precipitação abaixo de 150 mm, inferior aos índices pluviométricos dos outros meses do mesmo período (Figura 1,3). Por outro lado, verificou-se que os clones de guaranazeiro, apesar de apresentarem baixo potencial hídrico ao meio dia, mostraram-se tolerantes à seca, exibindo rápida recuperação de sua turgescência ao entardecer, ficando os potenciais hídricos acima de  $-1,2$  MPa, tanto no período seco quanto no chuvoso (Figura 2). Contudo, variações no potencial hídrico foliar podem ocorrer em respostas às adubações realizadas nas plantas. Em estudos com solos de baixa fertilidade, Silva *et al.*, 2008 verificaram que os tratamentos com adição de fósforo e fósforo + cálcio e fósforo + cálcio + gesso, em algumas espécies provocaram a diminuição do potencial hídrico.



**Figura 2:** Comparação do potencial hídrico foliar antemanhã ( $\Psi_{am}$ ), ao meio dia ( $\Psi_{md}$ ) e ao entardecer ( $\Psi_{ent}$ ) de clones de guaranzeiro, em períodos distintos de precipitação (■ seco e □ chuvoso). As barras verticais indicam o desvio padrão. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para potencial hídrico foliar, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=5).

Sob o ponto de vista funcional, a sensibilidade da planta em reagir fisiologicamente às oscilações a partir de seus potenciais hídricos, indicam modificações no metabolismo vegetal para que seja possível ajustar seus mecanismos de defesa contra a desidratação rápida e, com isso, tolerar períodos de estresse hídrico. Variações de potencial hídrico foram encontradas em espécies lenhosas submetidas a 30 dias de estresse hídrico. Os valores variaram de -0,3 para -0,9 MPa em *Mimosa caesalpiniiifolia*, -0,5 para -1,0 MPa em *Enterolobium contortisiliquum*, e de -0,7 para -1,0 MPa em *Tabebuia áurea* (Silva *et al.* 2003). Em plantas de cultivares de cafeeiro, os menores valores observados de  $\Psi_{am}$  ocorreram em meses de menor disponibilidade hídrica nas cultivares Mundo Novo (-1,3 MPa), na cultivar Obatã (-1,6 MPa) e na cultivar Ouro verde (-1,7 MPa) (Kobayashi *et al.*, 2008).

Em relação à eficiência intrínseca do uso da água (EIUA), verificou-se que os clones de guaranazeiro não apresentaram diferenças em relação a esta variável quando se comparou os períodos de precipitação. No entanto, quando se observou cada período isolado, verificou-se que no período seco as folhas do clone BRS300 apresentaram maiores valores de EIUA do que as dos clones BRS619, BRS608, BRS370 e BRS611. A boa performance do clone BRS300 pode ser devida a baixa condutância estomática (ver Tabela 1, cap II), aliada manutenção da turgescência, pelos valores de potencial hídrico apresentado (Figura 2), além da manutenção dos valores de potássio, nutriente de fundamental importância na regulação estomática (Tabela 7).

Para a eficiência no uso da água (EUA), observou-se que as folhas do clone BRS619 apresentaram aumentos da ordem de 35%, no período chuvoso. Para os demais clones, não foram observadas, diferenças entre período seco e chuvoso (Tabela 9). Esse aumento na EUA no BRS619 no período chuvoso pode estar relacionado às baixas taxas de transpiração encontradas para esse clone no mesmo período. Quando comparado o período seco com o chuvoso, as folhas dos clones de guaranazeiro apresentaram desempenhos semelhantes em relação a EUA, mantendo sua EUA sob variações na disponibilidade hídrica (Silva *et al.*, 2008). Adicionalmente, altos valores de EUA, como ocorreu no clone BRS619 no período chuvoso, podem ser uma desvantagem em ambientes com uma variação sazonal da disponibilidade de água no solo, pois a eficiência do uso da água expressa o comportamento momentâneo das trocas gasosas na folha. Assim, essa variável pode mudar quando ocorrem oscilações nas condições de difusão do CO<sub>2</sub> ou da H<sub>2</sub>O. (Stratton e Goldstein, 2001).

**Tabela 9:** Eficiência intrínseca no uso da água [(EIUA)  $\mu\text{mol}(\text{CO}_2).\text{mol}^{-1}(\text{H}_2\text{O})$ ] e eficiência no uso da água [(EUA)  $\text{mmol}(\text{CO}_2).\text{mol}^{-1}(\text{H}_2\text{O})$ ] em folhas de clones de guaranazeiro, em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Clones	Período	EIUA	EUA
<b>BRS300</b>	Seco	A50,8 $\pm$ 8,6 a	A2,5 $\pm$ 0,3a
	Chuvoso	A46,0,8 $\pm$ 3,4a	A2,8 $\pm$ 0,4a
<b>BRS619</b>	Seco	B29,6 $\pm$ 0,2a	A2,0 $\pm$ 0,1b
	Chuvoso	AB35,5 $\pm$ 10,8a	A2,7 $\pm$ 0,3a
<b>BRS871</b>	Seco	AB37,6 $\pm$ 0,3a	A2,2 $\pm$ 0,0a
	Chuvoso	AB39,5 $\pm$ 6,2a	A2,6 $\pm$ 0,2a
<b>BRS608</b>	Seco	B35,2 $\pm$ 4,9a	A2,4 $\pm$ 0,3a
	Chuvoso	AB36,2 $\pm$ 4,0a	A2,5 $\pm$ 0,4a
<b>BRS370</b>	Seco	B32,2 $\pm$ 5,9a	A2,4 $\pm$ 0,2a
	Chuvoso	B32,3 $\pm$ 3,7a	A2,2 $\pm$ 0,3a
<b>BRS611</b>	Seco	B32,2 $\pm$ 3,9a	A2,3 $\pm$ 0,2a
	Chuvoso	AB41,8 $\pm$ 6,6a	A2,4 $\pm$ 0,3a

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas à esquerda para clones e minúsculas a direita para períodos, não diferem pelo Teste de Tukey  $P \leq 0,05$ .

#### **4. CONCLUSÕES**

Apesar dos solos apresentaram baixa fertilidade, com elevada acidez, baixa capacidade de troca catiônica efetiva, além de exibirem alta saturação por alumínio, provocando indisponibilidade dos nutrientes para os clones de guaranazeiro, sendo necessária correção da acidez, os seis clones analisados apresentaram boa produção de frutos, mantendo a meta da empresa.

O estado nutricional das folhas de guaranazeiro foi diferenciado em função do regime pluviométrico, de maneira geral, as plantas apresentaram aumentos nos teores de nutrientes no período seco.

Os diferentes períodos de precipitação não influenciaram no potencial hídrico dos clones de guaranazeiro. Entretanto, a variação na disponibilidade hídrica interferiu no estado nutricional das plantas. Além disso, os clones apresentaram tolerância às variações diurnas na hidratação dos tecidos, o que foi evidenciado pela recuperação dos seus potenciais hídricos no fim do dia.

## Capítulo II

### Características fotossintéticas e anatômicas de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação cultivados sob plantio comercial

#### 1. INTRODUÇÃO

---

Dentre a grande diversidade de plantas amazônicas, o guaranazeiro (*Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke), planta da família Sapindaceae, destaca-se por suas propriedades farmacológicas e características de suas sementes, que podem ser usadas de formas múltiplas (Suframa, 2006). No entanto, independente da forma comercial elaborada no final da cadeia produtiva, é determinante a estruturação de mais e maiores plantios de guaranazeiro e, sobretudo, que os materiais usados nesses plantios de produção sejam testados quanto aos seus desempenhos em termos de respostas as condições abióticas.

Mesmo sendo uma característica geneticamente determinada, sabe-se que a produtividade pode ser alterada por mudanças nos fatores abióticos como água, CO<sub>2</sub>, irradiância, temperatura e nutrientes. Assim, a estrutura e funcionalidade de certos tipos de tecidos podem exercer importante influência em variáveis fisiológicas que aumentem ou não a produtividade primária, uma vez que as plantas podem responder diferentemente a fatores abióticos, mesmo sendo provenientes de mesmo material genético (Gonçalves *et al.*, 2006; Ferreira, 2009; Barber, 2009).

Portanto, variáveis como as trocas gasosas contribuem para que a produtividade primária atinja níveis satisfatórios. O fato é que, destacadamente, na fisiologia foliar os estômatos regulam as taxas difusivas de CO<sub>2</sub> e água. Adicionalmente, sabe-se que altas taxas de fluxo difusivo de vapor de água da folha para a atmosfera, pode ser condição necessária para as plantas manterem a temperatura foliar em condições de alta irradiância e, por conseguinte, altas temperaturas do ar. Por sua vez, altas temperaturas e baixa disponibilidade hídrica quase sempre são fatores do meio que apresentam alta correlação, potencializando os fatores estressantes nas plantas. Nessas condições, dependendo da anatomia foliar, os processos fisiológicos, principalmente a transpiração, podem ser intensificados ao ponto de

provocar danos severos às plantas (Brodribb, 2003; Kozlowski *et al.*, 1991; Lawlor, 2009). Ademais, o tamanho, a densidade e a abertura estomática vêm sendo estudados como características importantes para seleção de plantas com alta capacidade de assimilação de CO<sub>2</sub> e que sejam eficientes quanto ao uso da água (Gonçalves *et al.*, 2006). De maneira que, o comportamento estomático é influenciado por fatores intrínsecos da planta, como a dimensão e o número de estômatos por unidade de área foliar, responsáveis pelas variações de resistência estomática que dependem da espécie, cultivar, posição e superfície da folha, abaxial ou adaxial (Oliveira *et al.*, 2005; Cordeiro, 2009).

Estudos com clones jovens de guaraná, (BRS-CG611 e BRS-CG372), em condições de viveiro, demonstraram que a alta densidade estomática e a baixa condutância estomática são características importantes para a seleção de clones com boa capacidade para assimilar carbono e que sejam eficientes no uso da água (Gonçalves *et al.*, 2006).

Portanto, a expectativa é que aspectos anatômicos, associados às características fisiológicas sejam utilizados para monitorar o desempenho dos clones no campo sob condições de plantios comerciais. Ademais, acredita-se que os padrões na morfologia foliar das espécies estejam relacionados com a evolução de cada grupo de acordo como o material genético que cada um possui, como também, às condições ambientais, principalmente o *status* hídrico e a intensidade de luz disponível (Gallado e Jiménez, 2002).

Considerando as questões acima mencionadas, o objetivo deste trabalho foi investigar as características fisiológicas (fotossíntese líquida, respiração no escuro, transpiração e condutância estomática) e morfo-anatômicas das folhas dos clones de guaranazeiro, cultivadas sob plantio comercial, em diferentes períodos de precipitação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

---

### 2.1. ÁREA DE ESTUDO

O experimento foi conduzido em plantio comercial de guaranazeiro localizado na Fazenda da Agropecuária Jayoro, Município de Presidente Figueiredo, AM, Brasil (01°57'24" S, 60°08'31" W), distante cerca de 120 km da cidade de Manaus, ao longo da rodovia BR-174. A precipitação média na área de estudo durante a pesquisa foi de 256,3 mm no período seco e 357,5 no período chuvoso. O experimento foi instalado utilizando-se plantas adultas de seis clones de guaranazeiro (BRS300, BRS619, BRS871, BRS608, BRS370 e BRS611) com três anos de idade. As plantas foram manejadas segundo os cronogramas de adubação e controle fitossanitário da empresa (ver Tabela 1, capítulo I).

### 2.2. DETERMINAÇÃO DAS TROCAS GASOSAS

As determinações das taxas de fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática ( $g_s$ ) foram realizadas por meio de um analisador de gás infravermelho (IRGA) portátil, operando em sistema aberto, modelo LI-COR 6400 (Licor, Lincoln, Nebraska, USA), conforme metodologia descrita por Santos Jr. *et al.* (2008). Os dados foram obtidos entre 08h00min h e 12h00min h em folhas completamente expandidas situadas no terço médio das plantas e com aspecto fitossanitário adequado. As medições foram realizadas aleatoriamente sendo a leitura dos dados para cada clone sempre realizada em diferentes horários a fim de minimizar os erros por tendência. Para cada clone foram selecionados três indivíduos por repetição e uma folha para leitura de cada indivíduo, em cinco repetições para cada clone, totalizando 15 leituras para cada tratamento. Os dados de trocas gasosas foram obtidos para uma densidade de fluxo de fótons (PPDF) entre 0 e 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e câmara foliar ajustada para concentração de  $\text{CO}_2$ , temperatura e vapor de  $\text{H}_2\text{O}$  em torno de  $385 \pm 10 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ,  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $21 \pm 1 \text{ mmol mol}^{-1}$ , respectivamente, segundo metodologia descrita por Santos Jr., 2008.



### 2.3 ANATOMIA FOLIAR

As características morfo-anatômicas foram determinadas em folhas em bom estado fitossanitário e completamente expandidas. Para cada clone foram coletadas folhas de quatro indivíduos diferentes por clone, situadas no terço médio das plantas. O material coletado foi acondicionado em frascos de vidro com uma solução de FAA (formol, álcool, ácido acético) e conduzido para o laboratório de Botânica Florestal (LABAF-UFAM). Depois, este material foi dividido em dois grupos, para as observações paradérmicas e para observações da secção transversal. Para as observações paradérmicas, as amostras foram colocadas em estufa a 60°C durante quatro dias em solução FAA, tempo necessário para dissociação das epidermes inferior e superior, em seguida colocaram-se os cortes em placa de petri com água destilada e procedeu-se a limpeza do material com pincel nº 0. Após a separação da epiderme inferior e da epiderme superior do mesofilo, os fragmentos foram corados com fucsina básica 0,05% e depois realizadas as leituras por meio do programa ANATQUANT 2. O UFV. As seguintes variáveis foram determinadas: o número de estômatos, o número de células epidérmicas (CE), o índice estomático (IE) e a densidade estomática (DE).

Para as observações da secção transversal foram retirados campos aleatórios da região mediana da folha, colocados em solução de peróxido de hidrogênio e ácido acético glacial (1:1) para clareamento dos cortes e em seguida, corados com Astrablau-fucsina e determinadas as seguintes variáveis: espessura da epiderme adaxial, espessura da epiderme abaxial, espessura do parênquima paliçádico e espessura do parênquima lacunoso (Roeser, 1962).

As quantificações das variáveis anatômicas foram obtidas a partir de quatro campos aleatórios para cada repetição, sendo quatro repetições, totalizando 16 campos para cada clone. Os campos para ambos os grupos foram observados com objetivas de 20x10 e 40x20 no microscópio eletrônico modelo Zeiss Germany e fotografados com máquina Canon Power Shot AG20. As variáveis foram quantificadas pelo programa ANAT QUANTI 2.0 UFV.

#### 2.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado para trocas gasosas foi em blocos casualizados (DBC) obedecendo a esquema fatorial (6x2) com cinco repetições, sendo constituído dos seguintes fatores: seis clones e dois períodos de precipitação. Para as análises anatômicas foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado obedecendo ao mesmo esquema fatorial anterior (6x2) com quatro repetições. Os resultados foram submetidos às análises de variâncias e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). O programa estatístico utilizado foi o SYSTAT 10.2.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE CLONES DE GUARANAZEIRO

De maneira geral, as maiores taxas fotossintéticas ( $A_{max}$ ), quando comparado o período seco com o chuvoso, foram encontradas no período chuvoso nos clones BRS619 e BRS608 (Tabela 1). A elevada atividade na fotossintética encontrada no clone de BRS619 pode estar associada às maiores disponibilidades de magnésio e potássio encontradas nas folhas desse clone no período chuvoso (ver capítulo I, Tabela1). No período seco, não foram verificadas diferenças entre os clones ( $P=0,31$ ). No entanto, no período chuvoso, os clones BRS619 e BRS608 apresentaram maiores taxas fotossintéticas quando comparados com os demais clones. Esse fato pode ser atribuído aos altos índices de desempenho ( $PI_{abs}$ ) relacionados à utilização eficiente da energia capturada no fotossistema II apresentados por esses clones no mesmo período (ver tabela 1, capítulo III). Em estudos com plantas de café, a fotossíntese potencial ficou próxima de  $12 \mu\text{mol}(\text{CO}_2)\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Amaral *et al.*, 2008). Adicionalmente, a redução na taxa fotossintética no período seco quando comparado com o chuvoso, pode estar relacionada à baixa disponibilidade de água no solo, associada a uma maior demanda evaporativa da atmosfera e à elevada disponibilidade de radiação (Gomes *et al.*, 2008).

Para a respiração no escuro ( $R_d$ ), nos diferentes clones de guaranazeiro, os distintos períodos de precipitação não influenciaram nos seus valores ( $P=0,510$ ). Adicionalmente, não foram encontradas diferenças entre os clones, nos períodos isolados ( $P=0,730$ ) (Tabela 1). No entanto, de maneira geral, os maiores valores para  $R_d$  foram observadas no período de maior precipitação. Diferenças nas taxas de respiração no escuro têm sido usadas como critério para a discriminação de linhagens com baixas taxas de respiração e elevada capacidade de acumular biomassa (Wilson e Jones, 1982). Neste estudo, as taxas respiratórias ( $R_d$ ) apresentadas pelos clones, em condições de campo, foram próximas às taxas respiratórias ( $R_d$ ) encontradas para plantas jovens de guaranazeiro em condições de casa de vegetação, que apresentaram valores da ordem de  $1,8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Gonçalves 2006). Portanto, as plantas de guaranazeiro, variam pouco as taxas  $R_d$  entre os estágios iniciais de crescimento e as condições de produção. Tal fato pode ser explicado pela maior demanda de energia pelas plantas em crescimento.

**Tabela 1:** Características fotossintéticas em plantas de clones de guaranazeiro. Fotossíntese ( $A_{\max}$ ), respiração no escuro ( $R_d$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração (E), crescendo em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Parâmetros	BRS300		BRS619		BRS871		BRS608		BRS370		BRS611	
	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
$A_{\max}$ ( $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	A 14,9 $\pm 0,7$ a	B 14,0 $\pm 0,5$ a	A 15,4 $\pm 0,6$ b	A 17,2 $\pm 0,3$ a	A 14,1 $\pm 0,8$ a	B 15,4 $\pm 0,7$ a	A 15,1 $\pm 0,7$ b	A 16,4 $\pm 0,8$ a	A 14,9 $\pm 0,7$ a	B 15,8 $\pm 0,2$ a	A 14,5 $\pm 1,1$ a	A 14,9 $\pm 0,9$ a
$R_d$ ( $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	A 2,0 $\pm 0,5$ a	A 2,1 $\pm 0,64$ a	A 2,2 $\pm 0,2$ a	A 2,1 $\pm 0,8$ a	A 2,3 $\pm 0,3$ a	A 1,6 $\pm 0,5$ a	A 2,0 $\pm 0,3$ a	A 1,7 $\pm 0,4$ a	A 1,94 $\pm 0,52$ a	A 2,1 $\pm 0,2$ a	A 1,6 $\pm 0,5$ a	A 1,8 $\pm 1,4$ a
$g_s$ ( $\text{mol}(\text{H}_2\text{O})\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	C 0,3 $\pm 0,1$ a	C 0,3 $\pm 0,04$ a	A 0,5 $\pm 0,0$ a	A 0,6 $\pm 0,1$ a	B 0,4 $\pm 0,1$ a	BC 0,4 $\pm 0,1$ a	ABC 0,4 $\pm 0,1$ a	AB 0,5 $\pm 0,1$ a	AB 0,50 $\pm 0,12$ a	AB 0,5 $\pm 0,04$ a	AB 0,5 $\pm 0,1$ a	C 0,3 $\pm 0,1$ b
E ( $\text{mol}(\text{H}_2\text{O})\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	B 5,8 $\pm 1,0$ a	C 5,4 $\pm 0,59$ a	A 7,5 $\pm 0,4$ a	ABC 6,4 $\pm 0,8$ b	AB 6,4 $\pm 0,4$ a	BC 5,9 $\pm 0,5$ a	AB 6,3 $\pm 0,6$ a	AB 6,8 $\pm 0,9$ a	AB 6,3 $\pm 0,72$ b	A 7,2 $\pm 0,8$ a	AB 6,6 $\pm 0,38$ a	ABC 6,0 $\pm 0,6$ a

Nas linhas, médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão (n=5).

As plantas de guaranazeiro apresentaram taxas respiratórias similares, porém a condutância estomática ( $P=0,032$ ) e a transpiração ( $P=0,010$ ) foram diferenciadas (Tabela 1). Quando comparado os valores da condutância estomática (gs) dos clones nos dois períodos avaliados, verificou-se que no período chuvoso, o clone BRS611 reduziu em 40% sua condutância estomática, enquanto que os demais clones não apresentaram diferenças entre si. Os clones de guaranazeiro não apresentaram taxas fotossintéticas controladas pela abertura estomática, diferentemente das plantas de cafeeiro, que em estudos anteriores apresentaram fotossíntese amplamente controlada pela abertura estomática (Gomes *et al.*, 2008). Por outro lado, comparando os clones em cada período, verificou-se que no período seco, o clone BRS619 apresentou os maiores valores de gs, enquanto que o BRS300 apresentou os menores. No período chuvoso, o BRS619 manteve a gs nos mesmos patamares do período seco, mas os menores valores foram para o clone BRS611, enquanto que o BRS871 não sofreu influência dos distintos períodos de precipitação.

Quanto às taxas transpiratórias (E), as respostas diferenciadas para (E) foram observadas para os clones BRS619 e BRS370, quando comparado os diferentes períodos de precipitação (Tabela 1). O BRS619 apresentou redução de 15% na taxa de transpiração (E) no período chuvoso, enquanto que, o BRS370 aumentou sua taxa de transpiração em 14% no mesmo período. Estas respostas, aparentemente contraditórias podem fazer parte das diferenças estruturais e/ou funcionais que esses clones desenvolvem visando aperfeiçoar suas respostas aos fatores do meio. Mais especificamente, no clone BRS619, os baixos valores de (E) no período chuvoso podem ter influenciado maior eficiência no uso da água (EUA) nesse período (ver capítulo II, Tabela 9). Além do mais, de maneira geral, o clone BRS619 no período de menor precipitação, apesar de ter apresentado boa performance fotossintética, mostrou taxas de condutância estomática (gs) e transpiratória elevadas, inferindo-se que este clone não regulou seu fechamento estomático em detrimento da economia hídrica, devido às altas temperaturas observadas em campo. Por outro lado, o clone BRS300 apresentou as menores taxas de perdas de água (Gomes *et al.*, 2008). Os resultados deste estudo concordam com os obtidos por Prado (2004) que trabalhou com 22 espécies lenhosas em condições naturais, obtendo valores médios de  $0,3 \text{ mols (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para condutância estomática na estação seca. Além do que, baixa correlação entre fotossíntese e a condutância estomática pode indicar ausência de uniformidade na abertura estomática (Costa e Marengo, 2007).

Outro ponto a destacar, é o fato do guaranazeiro em plantio aberto comportam-se fisiologicamente como espécies florestais, é respaldado pela planta apresentar taxas de fotossíntese, condutância estomática e transpirações foliares próximas às apresentadas por

árvores (Silva *et al.*, 2008; Cordeiro *et al.*, 2009). Sabe-se que o guaranazeiro é uma liana, que em florestas tem hábito trepador, sujeito às perturbações ambientais, e ao desenvolvimento de plasticidade fenotípica como mecanismo de aclimação (Schnitzer e Bongers, 2002; Rezende *et al.*, 2007), característica importante presente nos clones de *Paullinia cupana*.

### 3.2 ANATOMIA FOLIAR DE CLONES DE GUARANAZEIRO

Por manter contato direto com o ambiente, a epiderme está sujeita a modificações estruturais em decorrência de vários fatores ambientais (Voltan *et al.*, 1992) . Notadamente, nas amostras observadas, verificou-se que a epiderme de *Paullinia cupana* apresenta poucos tricomas na parte abaxial, não sendo encontrados nas amostras da parte adaxial.

Em relação à anatomia foliar (Tabela 2), observou-se que os diferentes períodos de precipitação influenciaram na variação do número de células epidérmicas abaxial nos clones de guaranazeiro ( $P=0,005$ ). Nos clones BRS619 e BRS871, o número de células epidérmicas abaxial aumentou 16,6% e 10,6%, respectivamente, no período chuvoso. Por outro lado, no clone BRS300 esta variável reduziu em 13,1% no período chuvoso, Não foi encontrada diferença para o número de células epidérmicas entre os clones no período seco ( $P=0,060$ ). Entretanto, no período chuvoso, os clones BRS871 e BRS619 apresentaram os maiores valores médios para o número de células epidérmicas abaxiais ( $P=0,0006$ ).

**Tabela 2:** Número de células epidérmicas, de estômatos, índice estomático e densidade estomática em folhas de clones de guaranazeiro, crescendo em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

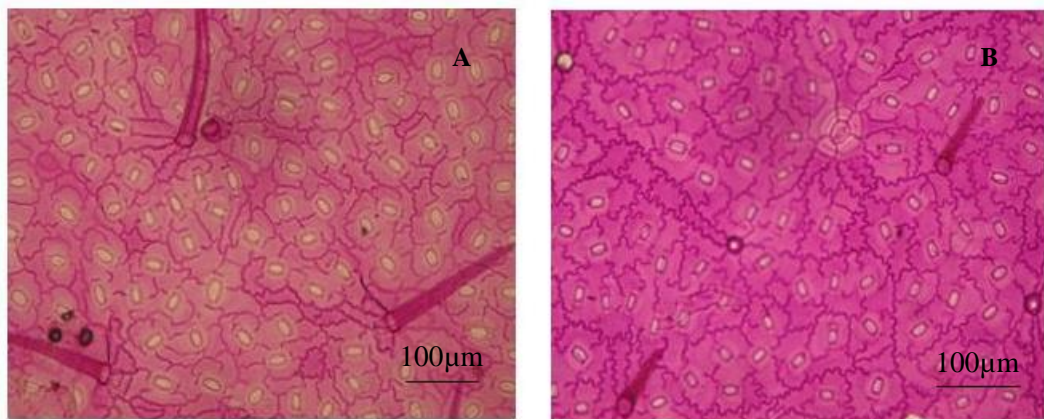
Clones	Período	Número de células epidérmicas (mm <sup>2</sup> )	Número de estômatos (mm <sup>2</sup> )	Índice estomático (%)	Densidade estomática (mm <sup>2</sup> )
BRS300	Seco	A 284,5 ± 13,0 a	AB 90,6 ± 8,2 a	AB 24,2 ± 2,2 a	AB 287,0 ± 26,1 a
	Chuvoso	B 247,1 ± 15,4 b	B 78,8 ± 6,6 b	A 24,2 ± 0,6 a	B 249,6 ± 21,0 b
BRS619	Seco	A 261,4 ± 19,7 b	AB 89,2 ± 8,2 a	A 25,5 ± 1,5 a	AB 282,5 ± 26,0 a
	Chuvoso	A 304,9 ± 6,8 a	A 93,4 ± 8,7 a	A 23,4 ± 1,8 a	A 295,7 ± 27,4 a
BRS871	Seco	A 279,3 ± 18,7 b	AB 89,9 ± 6,9 a	AB 24,4 ± 1,7 a	AB 284,8 ± 21,8 a
	Chuvoso	A 308,9 ± 18,4 a	AB 89,5 ± 8,7 a	A 22,4 ± 0,7 a	AB 283,5 ± 27,7 a
BRS608	Seco	A 274,8 ± 10,9 a	B 78,1 ± 1,8 a	B 22,1 ± 0,4 a	B 247,4 ± 5,5 a
	Chuvoso	AB 269,4 ± 7,2 a	B 79,6 ± 4,2 a	A 22,8 ± 1,3 a	A 252,2 ± 15,4 a
BRS370	Seco	A 280,4 ± 17,7 a	A 102,4 ± 2,8 a	A 26,7 ± (0,6) a	A 324,2 ± 8,9 a
	Chuvoso	A 295,8 ± 43,0 a	A 93,5 ± 2,5 b	A 24,2 ± (1,6) b	A 296,1 ± 8,0 a
BRS611	Seco	A 283,6 ± 29,2 a	A 94,8 ± 6,8 a	AB 25,2 ± 1,7 a	A 300,1 ± 21,5 a
	Chuvoso	AB 288,9 ± 6,8 a	AB 90,0 ± 4,0 a	A 23,8 ± 1,2 a	AB 285,0 ± 12,7 a

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão ( $n=4$ ).

O número de estômatos foi influenciado pela disponibilidade hídrica ( $P=0,002$ ) (Tabela 2). No clone BRS300 foi verificada redução de aproximadamente 13% no número e na densidade de estômatos, no período chuvoso (Figura 1). Por outro lado, no mesmo período, no clone BRS370 ocorreu redução de 8,5% e 9,4% no número de estômatos e na densidade estomática, respectivamente. O número, índice e a densidade estomática foram maiores no clone BRS370, independente do período de precipitação.

Plantas submetidas a déficit hídrico podem aumentar em cerca de 50% o número de estômatos, porém com redução de tamanho (Silva *et al.*, 2005). Nos clones BRS300 e no clone BRS370, observou-se maior número de estômatos no período seco. Para esses clones, sugere-se que o mecanismo de plasticidade fisiológica requerido para a manutenção de suas taxas fotossintéticas nos mesmos patamares dos demais clones, possa estar relacionada ao aumento do número de células estomáticas. Ressalvando-se que, o clone BRS370, ainda aliou

esse aumento no número de estômatos com reduções nas taxas transpiratórias no período seco. O aumento da densidade estomática pode afetar positivamente o processo de trocas gasosas, evitando que a fotossíntese seja limitada sob diferentes condições ambientais. O número de estômatos em plantas de *Cupania vernalis*, cultivadas em pleno sol, foi maior do que o verificado em planta sob sombra. Essa alteração foi correlacionada com a diminuição da resistência à difusão de gases (Lima Jr, 2006).



**Figura 1:** Fotomicrografias paradérmicas do limbo foliar: Número de estômatos da epiderme abaxial de folha de clone BRS300 em diferentes períodos de precipitação: A – BRS300 no período seco e B – BRS300 no período chuvoso (\_\_\_µm100).

Quanto ao comprimento estomático, este não foi significativo entre os clones nos diferentes períodos de precipitação ( $P=0,172$ ) (Tabela 3). Embora, tenha sido verificado, no clone BRS608 maior comprimento estomático, tanto no período seco, quanto no chuvoso. A largura estomática ( $P=0,002$ ) e o comprimento ostiolar ( $P=0,014$ ), sofreram redução de 9,4% no clone BRS871, no período chuvoso. Por outro lado, o clone BRS611 apresentou aumento de cerca de 12,3% no comprimento ostiolar no mesmo período (Tabela 3). O clone BRS871 apresentou maior comprimento ostiolar no período seco, enquanto que o BRS608 se destacou no chuvoso. Essas características podem ajudar a explicar a manutenção das taxas de condutância estomática, transpiratória e fotossintética dos clones BRS871.

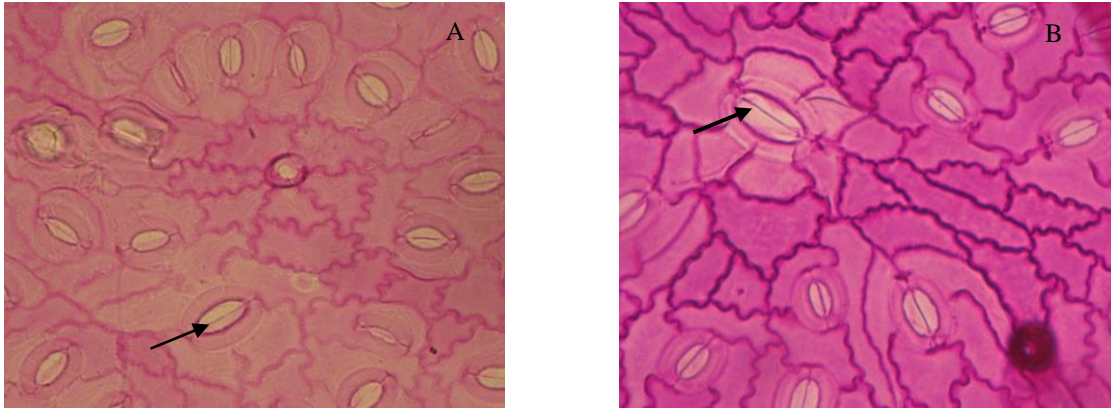


**Tabela 3:** Comprimento ostomático, largura estomática e comprimento ostiolar, em folhas de clones de guaranazeiro, crescendo em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Clones	Período	Comprimento estomático (µm)	Largura estomática (µm)	comprimento ostiolar (µm)
BRS300	Seco	AB 37,8 ±1,8 a	A 33,0 ±1,3a	ABC 21,3 ±0,7a
	Chuvoso	AB 39,1 ±1,1 a	A 31,7 ±1,3a	B 20,7 ±1,0a
BRS619	Seco	AB 36,6 ±2,2a	ABC 30,0 ±3,3a	ABC 21,2 ±1,2a
	Chuvoso	AB 38,5 ±1,2a	AB 29,5 ±1,7a	B 20,5 ±1,2a
BRS871	Seco	AB39,1 ±2,5a	AB 30,8 ±1,2a	A 23,7 ±1,2a
	Chuvoso	AB 36,8 ±1,9a	B 27,9 ±1,1b	AB 22,4 ±0,6a
BRS608	Seco	A 39,6 ±2,0a	BC 28,4 ±3,6a	AB 22,9 ±2,0a
	Chuvoso	A 39,6 ±2,8a	AB 28,6 ±1,4a	A 25,1 ±2,6a
BRS370	Seco	B 35,6 ±1,8a	C 26,7 ±1,4a	C 20,1 ±1,1a
	Chuvoso	B 35,8 ±2,8a	B 26,1 ±1,5a	B 20,6 ±1,3a
BRS611	Seco	AB 36,1 ±1,2a	BC 27,7 ±2,3a	BC 20,4 ±1,8a
	Chuvoso	AB 37,8 ±0,9a	AB 28,2 ±2,0a	AB 22,9 ±0,6b

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão ( $n=4$ ).

Os diferentes períodos de precipitação não influenciaram na espessura da epiderme adaxial ( $P=0,301$ ). No entanto, verificou-se que, a maioria dos clones de guaranazeiro apresentou maior espessura em termos absolutos no período seco (Tabela 4). Verificando-se cada período isolado, no período seco, a espessura da epiderme adaxial no clone BRS300 foi maior em comparação com a dos clones BRS871 e BRS611 quando comparado com os demais. No período chuvoso, novamente o clone BRS300 apresentou maior espessura de epiderme adaxial em comparação com os demais clones.



**Figura 2:** Fotomicrografias parâdermicas do limbo foliar - Comprimento ostiolar (seta): A - clone BRS871 no período de seco e B – clone BRS608 no chuvoso (40x).

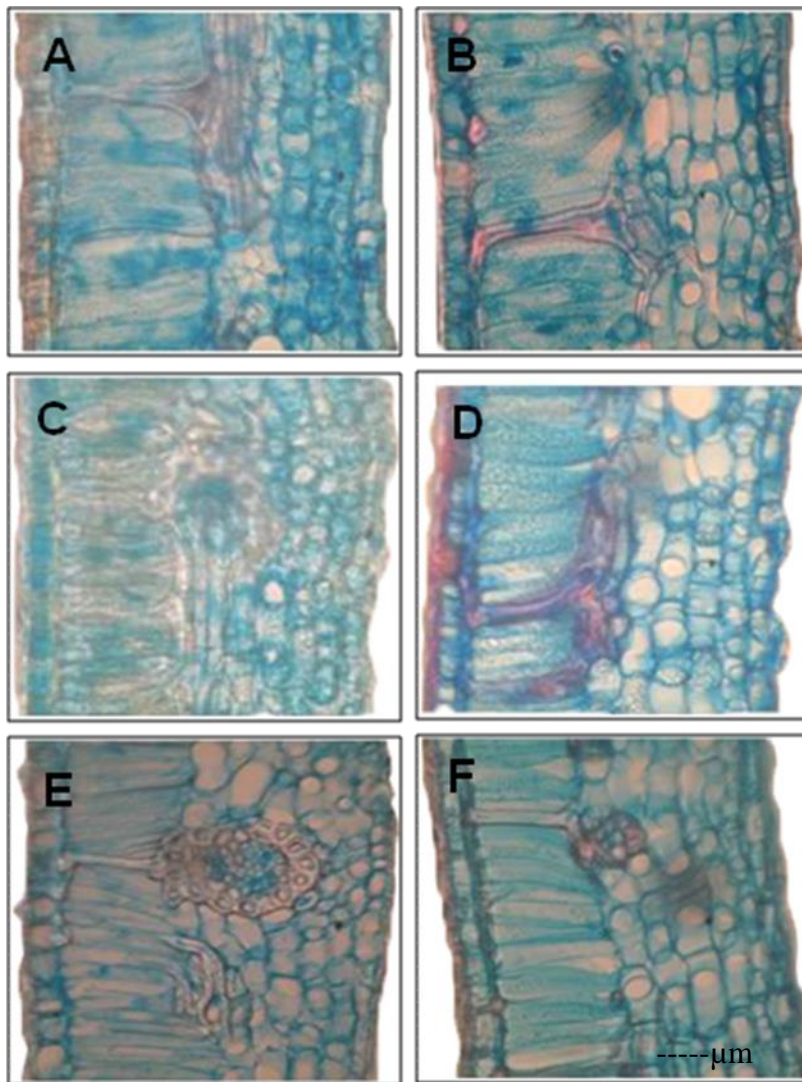
Em relação a influencia dos diferentes períodos de precipitação na espessura parenquimática, pode-se observar que os clones aumentaram a espessura do parênquima lacunoso ( $P=0,008$ ) e paliçádico ( $P=0,001$ ) desse no período de maior precipitação (Tabela 4). O clone BRS300 apresentou aumento de cerca de 16% de parênquima paliçádico no período chuvoso em comparação com o período seco, sendo que este clone também apresentou valores superiores dessa variável em cada período isolado, quando comparado com os demais clones (Figura 3). Por outro lado, os clones BRS871, em relação a outros clones, apresentaram os menores valores de parênquima paliçádico, tanto no período seco, quanto no período chuvoso. Comparando-se a espessura de parênquima lacunoso entre os dois períodos, verificou-se que o clone BRS871 e BRS611 apresentaram aumentos significativas no período chuvoso, cerca de 16,5% e 26% respectivamente em relação ao período seco (Figura 3). Independente dos períodos de precipitação observados pode-se notar que o clone BRS370 se destacou dos demais, por apresentar uma maior espessura de parênquima lacunoso.

As células do parênquima paliçádico e lacunoso dos clones BRS871 e BRS611 sofreram adensamento no período seco, como observado nas fotomicrografias dos tecidos foliares. Contudo, foi observado aumentos no tamanho horizontal (Figura 3). Aumentos das células do parênquima paliçádico na estação chuvosa foram observados em plantas de cafeeiro, além do que aumentos na espessura das células do parênquima paliçádico são resultantes de um alongamento no sentido abaxial, que pode ser indiferente em relação à área do limbo e em relação à espessura da folha (Gomes, 2008). Similarmente, maiores espessuras dos tecidos do mesofilo foliares foram encontrados na espécie *Cupania vernalis* crescidas a pleno sol (Lima Jr, 2005).

**Tabela 4:** Espessura da epiderme adaxial, abaxial, parênquima paliçádico e lacunoso, em folhas de clones de guaranazeiro, crescendo em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).

Clones	Período	Epiderme ( $\mu\text{m}$ )		Parênquima ( $\mu\text{m}$ )	
		Adaxial	abaxial	Paliçádico	Lacunoso
BRS300	Seco	A 21,8 $\pm$ 2,2a	A 16,7 $\pm$ 2,9a	A 100,2 $\pm$ 1,7a	B 98,0 $\pm$ 7,3a
	Chuvoso	A 21,5 $\pm$ 0,2a	A 16,6 $\pm$ 0,6a	A 116,1 $\pm$ 3,4b	B 100,5 $\pm$ 13,0a
BRS619	Seco	AB 18,1 $\pm$ 3,2a	A B 17,4 $\pm$ 4,1a	A 97,1 $\pm$ 11,6a	B 94,3 $\pm$ 11,1a
	Chuvoso	AB 17,4 $\pm$ 1,2 a	B 15,0 $\pm$ 0,5a	AB 105,8 $\pm$ 7,1a	B 101,3 $\pm$ 9,6a
BRS871	Seco	B 16,3 $\pm$ 4,8a	BC 13,8 $\pm$ 1,7a	C 73,7 $\pm$ 6,3a	B 94,4 $\pm$ 7,8a
	Chuvoso	B 16,1 $\pm$ 1,5a	BC 12,8 $\pm$ 0,5a	D 78,2 $\pm$ 3,0a	B 110,4 $\pm$ 7,6b
BRS608	Seco	AB 17,5 $\pm$ 3,7a	B 15,3 $\pm$ 0,5a	AB 87,7 $\pm$ 5,7a	A 140,1 $\pm$ 7,8a
	Chuvoso	AB 18,6 $\pm$ 2,2a	B 15,0 $\pm$ 0,6a	BC 94,1 $\pm$ 4,9a	A 136,6 $\pm$ 16,5a
BRS370	Seco	AB 17,3 $\pm$ 2,4a	A 16,8 $\pm$ 1,6a	AB 87,9 $\pm$ 8,3a	A 143,3 $\pm$ 12,2a
	Chuvoso	B 15,4 $\pm$ 1,3a	AB14,8 $\pm$ 3,6a	BCD 90,6 $\pm$ 11,2a	A 137,3 $\pm$ 9,0a
BRS611	Seco	B 16,4 $\pm$ 0,9a	C 13,4 $\pm$ 0,3a	AB 86,6 $\pm$ 12,8a	B 93,2 $\pm$ 11,1a
	Chuvoso	B 15,8 $\pm$ 1,3a	A 14,5 $\pm$ 1,5a	CD 87,4 $\pm$ 4,6a	AB117,3 $\pm$ 10,0b

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão ( $n=4$ ).



**Figura 3:** Fotomicrografia de tecido parenquimático: A - clone BRS300 no período seco e B – clone BRS300 no período chuvoso, C - clone BRS871 no período seco, D – clone BRS871 no período chuvoso, E - clone BRS611 no período seco e F – clone BRS871 no período chuvoso (\_\_\_µm40x).

#### **4. CONCLUSÕES**

Os clones de guaranazeiro BRS619 e BRS608 apresentaram respostas diferenciadas nas taxas fotossintéticas nos diferentes períodos de precipitação que foram submetidos.

Os diferentes períodos de precipitação influenciaram no número de células adaxial, no número de estômatos e na espessura parenquimática nos clones de guaranazeiro.

O ambiente de cultivo influenciou a capacidade das plantas de guaranazeiro apresentar plasticidade fenotípica, como mecanismo de aclimação às diferentes condições ambientais.

### Capítulo III

## Teores de pigmentos cloroplastídicos e rendimentos fotoquímicos do fotossistema II em clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação cultivados sob plantio comercial

### 1. INTRODUÇÃO

---

As plantas tropicais podem apresentar grande variedade de respostas de aclimação a partir de mudanças fisiológicas, morfo-anatômicas e comportamentais às diversas condições do ambiente em que vivem (Marshall *et al.*, Dumbroff, 1999; Chen e Cheng, 2009, Ferreira *et al.*, 2009). Portanto, os fatores climáticos, de maneira geral, relacionam-se com a capacidade dos plantios crescerem e se desenvolverem nas condições específicas do meio, como é o caso das plantas Amazônicas que se adéquam às diferenças pluviométricas e às altas irradiâncias (Salati e Marques, 1984).

Assim, levando-se em consideração as condições ambientais da Região Amazônica, como os solos com baixa fertilidade, as altas irradiâncias e irregularidades quanto à distribuição de chuvas, como por exemplo, em anos de El Niño, gerando microclimas diferenciados, o cultivo de algumas espécies que exibem potencial econômico como, por exemplo, o guaranazeiro, apresenta dificuldades no manejo de práticas fitotécnicas. Em plantios comerciais, de modo particular, os problemas nos tratos culturais, estão geralmente relacionadas aos aspectos fenotípicos, pois muitos clones apresentam funcionalidades diferenciadas em termos de produção, em resposta ao microclima de determinada Região.

No que diz respeito às respostas das plantas às variações nos fatores ambientais, estas envolvem modificações no aparato fotossintético, os quais podem melhorar ou não a eficiência na captura e utilização da luz na fotossíntese (Chow *et al.*, 1990). Algumas plantas respondem de forma positiva às variações do meio, outras não conseguem desenvolver mudanças adaptativas que permitam ajustes e, por consequência, suportar as alterações nos fatores abióticos, resultando quase sempre em danos no aparato fotossintético (Gonçalves *et al.*, 2006).

Portanto, quando plantas são submetidas a altas intensidades luminosas, dependendo da espécie, pode ocorrer aumento na taxa de degradação das clorofilas, resultando assim em menores concentrações de clorofila total na folha (Hendry e Price, 1993). Contudo, em contrapartida, plantas sob altas irradiâncias podem sintetizar mais carotenóides como forma de proteção do seu aparato fotossintético (Jones e Porter, 1986). Este aumento na concentração dos carotenóides está relacionado à dissipação térmica originária da energia de excitação. Melhorando o desempenho e a sobrevivência das plantas frente às condições de excesso de luz (Scholes *et al.*, 1997). Todavia, esse processo de dissipação de energia é relativamente complexo e induzido pelo acúmulo de prótons no lúmem dos tilacóides, o qual é desencadeado pelo excesso de luz, causando forte acidificação do lúmem induzindo a conversão enzimática da violaxantina a zeaxantina (Demmig-Adams *et al.*, 1987; Demmig-Adams, 1990; Gilmore, 1997).

Além disso, plantas submetidas a altas irradiâncias, podem apresentar fotoinibição, atribuída ao decréscimo da eficiência do fotossistema II. Conseqüentemente, as plantas que não são capazes de conversões eficientes de energia no centro de reação, sobrecarregam os transportadores de elétrons no fotossistema II, levando a dissipação dessa energia na forma de calor ou emissão de fluorescência. Entretanto, essa dissipação de energia, depende da condição de crescimento da planta, do estado nutricional, da disponibilidade hídrica no solo e da temperatura (Demmig-Adams e Adams, 1996).

Danos causados pela fotoinibição têm sido estudados em folhas de plantas por meio do monitoramento da fluorescência da clorofila *a*, técnica rápida, precisa e não destrutiva que tem sido usada para investigar os danos causados por estresses bióticos ou abióticos pelos quais as plantas podem passar quando expostas a temperaturas elevadas, altas irradiâncias, deficiência hídrica, salinidade, ataque de insetos ou fungos, herbicidas, etc. (Kitao *et al.*, 2000; Thomas e Turner, 2001; Oliveira *et al.*, 2002; Gonçalves *et al.*, 2005; Contran *et al.*, 2009; Sartori e Loreto, 2009). Dessa forma, a partir dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* é possível produzir informações precisas sobre os processos fotoquímicos da fotossíntese, principalmente, no que se refere à eficiência fotoquímica do fotossistema II (Krause e Weis, 1991; Scholes e Horton, 1993; Gonçalves *et al.*, 2005).

Neste contexto, aspectos relacionados à ecofisiologia do guaranazeiro que seriam de muita utilidade para o manejo da cultura ainda são pouco estudados, a despeito do elevado valor dos produtos comerciais do guaraná que representam o segundo item mais exportado na balança comercial do Estado do Amazonas. Independente desta importância, a cultura ainda apresenta-se um tanto desconhecida para o produtor em relação ao seu

estabelecimento, crescimento e desenvolvimento em campo. Assim, espera-se que estudos sobre as características ecofisiológicas do guaranazeiro que elucidem a tolerância a altas irradiâncias em condições de campo, possam contribuir para programas de melhoramento genético dessa cultura, visando o manejo da produção e a sustentabilidade dos plantios. No entanto, para condições variáveis dos fatores abióticos as pesquisas ainda precisam ser intensificadas.

Portanto, considerando a possibilidade de selecionar clones mais eficientes quanto à captura e ao uso da luz, além de menos sensíveis a elevadas irradiâncias, o objetivo do presente estudo foi determinar os teores de pigmentos cloroplásticos e investigar a eficiência fotoquímica do fotossistema II por meio das variáveis de fluorescência da clorofila *a* de clones de guaranazeiro sob plantio comercial em períodos distintos de precipitação (seco e chuvoso).



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

---

### 2.1. ÁREA DE ESTUDO

O experimento foi conduzido em plantio comercial de guaranazeiro localizado na Fazenda da Agropecuária Jayoro, Município de Presidente Figueiredo, AM, Brasil (01°57'24" S, 60°08'31" W), distante a cerca de 120 km da cidade de Manaus, ao longo da rodovia BR-174. A precipitação média da área de estudo durante a pesquisa foi de 256,3 mm no período seco e 357,5 no período chuvoso. O experimento foi instalado utilizando-se plantas adultas de seis clones de guaranazeiro (BRS300, BRS619, BRS871, BRS608, BRS370 e BRS611) com três anos de idade. As plantas foram manejadas segundo os cronogramas de adubação e controle fitossanitário da empresa (ver Tabela 1, capítulo I).

### 2.2 ANÁLISE DOS PIGMENTOS CLOROPLASTÍDICOS

Para a determinação dos teores de clorofilas *a*, *b* e carotenóides foram coletadas quatro folhas do terço médio de cada planta, envolvidas em papel alumínio, armazenadas em caixas térmicas com gelo e levadas ao Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (MCT-INPA). As folhas foram imediatamente secas em estufa a 65°C até obtenção de massa constante. E seguida, as folhas secas foram moídas e pesadas em balança analítica. Então, 0,025g de material seco e moído foi colocado em tubos de ensaios, adicionando-se 10 ml de DMSO (dimetilsulfoxido). Em seguida foram agitadas em vortex durante 15 s e colocadas em estufa pré-aquecida a 70°C durante 30 min. Posteriormente, as amostras foram colocadas em bancadas ao abrigo de luz até atingirem temperatura ambiente. Finalmente, as absorvâncias foram lidas a 663nm, 645nm e 480 nm, com auxílio de espectrofotômetro (Jenway 6105 U.V./Vis) (Hiscox e Israelstan 1979). Os teores de clorofila *a*, *b* e carotenóides, foram estimados, assim como foram calculados, as razões Chl *a/b* e Chl total/carotenóide (Arnon, 1949; Lichtenthaler 1987).

### 2.3. ANÁLISE DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a*

As determinações dos parâmetros relacionadas à fluorescência da clorofila *a* foram feitas em folhas maduras em bom estado fitossanitário, utilizando-se um fluorômetro portátil (Handy PEA - v 1,30 - Hansatech Instruments, Norfolk, UK), entre 8 e 12h. As folhas selecionadas foram adaptadas ao escuro durante 30 minutos, utilizando-se cliques apropriados. Após a adaptação, as folhas foram expostas a um pulso saturante de luz de  $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , com comprimento de onda de 650 nm, por 1 segundo, condição em que se obtiveram as respostas relacionadas aos transientes da fluorescência da clorofila *a*, os quais foram carregados e calculados utilizando *software* específico (Handy PEA software - v 1,30).

Os parâmetros absorção de energia por centro de reação (ABS/RC), captura de energia por centro de reação (TRo/RC), transporte de elétron por centro de reação (ETo/RC) e dissipação de energia por centro de reação (DIO/RC), relacionados ao fluxo específico de energia no centro de reação foram obtidos. Além destes, também foi determinado o fluxo fenomenológico: a densidade de centros de reação por seção transversal (RC/CS), absorção de energia por seção transversal (ABS/CS), a energia de dissipação por seção transversal (DIO/CS), a taxa máxima de energia capturada por seção transversal (TRo/CS) e o transporte de elétrons por seção transversal (ETo/CS). Também foram determinados os rendimentos fotoquímicos relacionados à máxima eficiência quântica do fotossistema II (TRo/ABS), à máxima eficiência de excitação não fotoquímica (DIO/ABS) à probabilidade da energia de excitação mover um elétron após a quinona A ETo/TRo à probabilidade de um fóton absorvido mover um elétron após  $Q_A$  (ETo/ABS) e o índice de desempenho ( $PI_{ABS}$ ) (Gonçalves *et al.*, 2007).

### 2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado para fluorescência da clorofila *a* e para a determinação dos teores de pigmentos cloroplastídicos foi blocos casualizados obedecendo a esquema fatorial (6x2) com cinco repetições (cinco blocos), sendo constituído dos seguintes fatores: seis clones e dois períodos de precipitação. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . O programa estatístico utilizado foi o SYSTAT 10.2.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

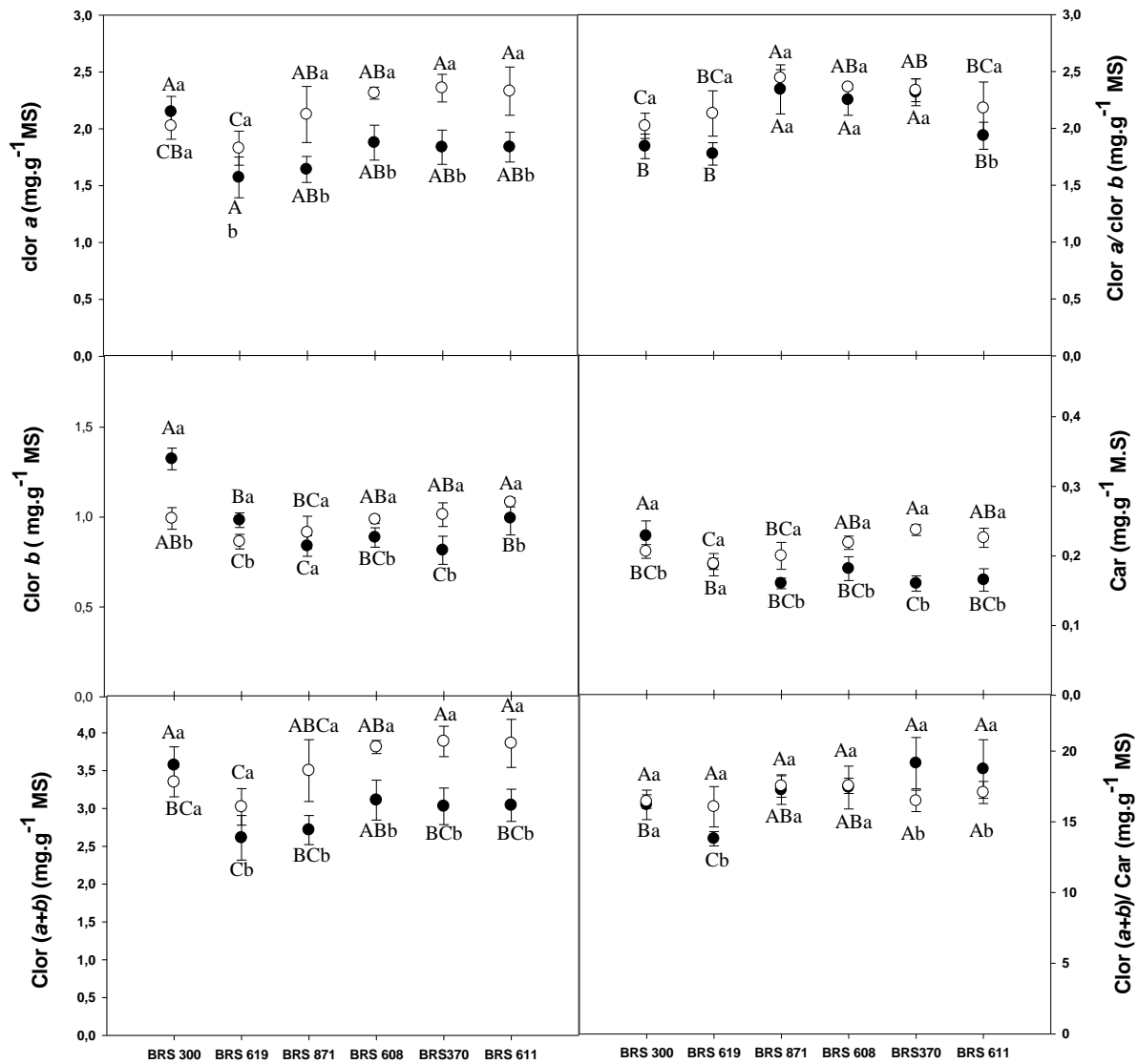
#### 3.1 TEORES DE PIGMENTOS CLOROPLASTÍDICOS EM FOLHAS DE CLONES DE GUARANAZEIRO

Comparando os diferentes períodos de precipitação, em relação aos teores de Chl *a*, verificou-se que os teores dos pigmentos cloroplastídicos foram significativamente superiores nos clones no período chuvoso, com exceção do clone BRS300, que não apresentou diferenças significativas nesse período (Figura 1). As diferenças existentes entre os clones ocorreram tanto no período seco quanto no chuvoso ( $P=0,002$ ). No período seco, verificou-se que a maior média nesse período foi para o clone BRS300. No período chuvoso, as folhas dos clones BRS370 e BRS611 apresentaram teores superiores de Chl *a*, comparando com os teores nas folhas dos clones BRS619 e BRS300.

Em relação aos teores de Chl *b* em função das interações dos fatores clone x períodos, ( $P=0,00$ ), verificaram-se maiores valores no período chuvoso, com exceção dos clones BRS300 e BRS619, os quais apresentaram maiores teores de Chl *b* no período seco (Figura 1). Observando-se o desempenho dos clones no período seco, o BRS300 apresentou maior valor médio ( $2,15 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ ) e o menor valor médio foi para o clone BRS619 ( $0,86 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ ). No período chuvoso, os maiores teores de Chl *b* foram para o clone BRS611 ( $1,08$ ) e os menores para o clone BRS619 ( $0,86 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ ).

Os clones apresentaram teores de Chl total maiores no período chuvoso. Novamente o clone BRS300 não apresentou diferenças de Chl total nesse período (Figura 1). No entanto, no período seco, o clone BRS300 apresentou diferenças significativas quando comparado com outros clones, exibindo os maiores teores de Chl total ( $3,57 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ ) e os menores valores foram apresentados pelo clone BRS619 ( $2,61 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ ). No período chuvoso, o clone BRS370 se destacou dos demais, apresentando médias de teores de Chl total em torno de  $3,9 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ .

Nos diferentes períodos de precipitação, verificou-se que a razão Chl *a/b* foi influenciada pelas diferenças na precipitação ( $P=0,001$ ), sendo os maiores valores significativos no período chuvoso para os clones BRS300, BRS619 e BRS611. Os demais clones, não apresentaram diferenças quando comparados à razão Chl *a/b* nos diferentes períodos de precipitação (Figura 1).



**Figura 1:** Concentração de pigmentos cloroplastídicos em folhas de clones de guaranzeiro, em períodos distintos de precipitação, (●) para período seco e (○) período chuvoso. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas para períodos e maiúsculas para clones, não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras verticais representam desvios padrão ( $n=5$ ).

No período seco, os clones BRS871, BRS608 e BRS370 apresentaram as maiores médias para a razão Chl *a/b*, não havendo diferenças entre os mesmos. No período chuvoso, o BRS871, exibiu diferenças dos demais por apresentar os maiores valores de média para esta variável.

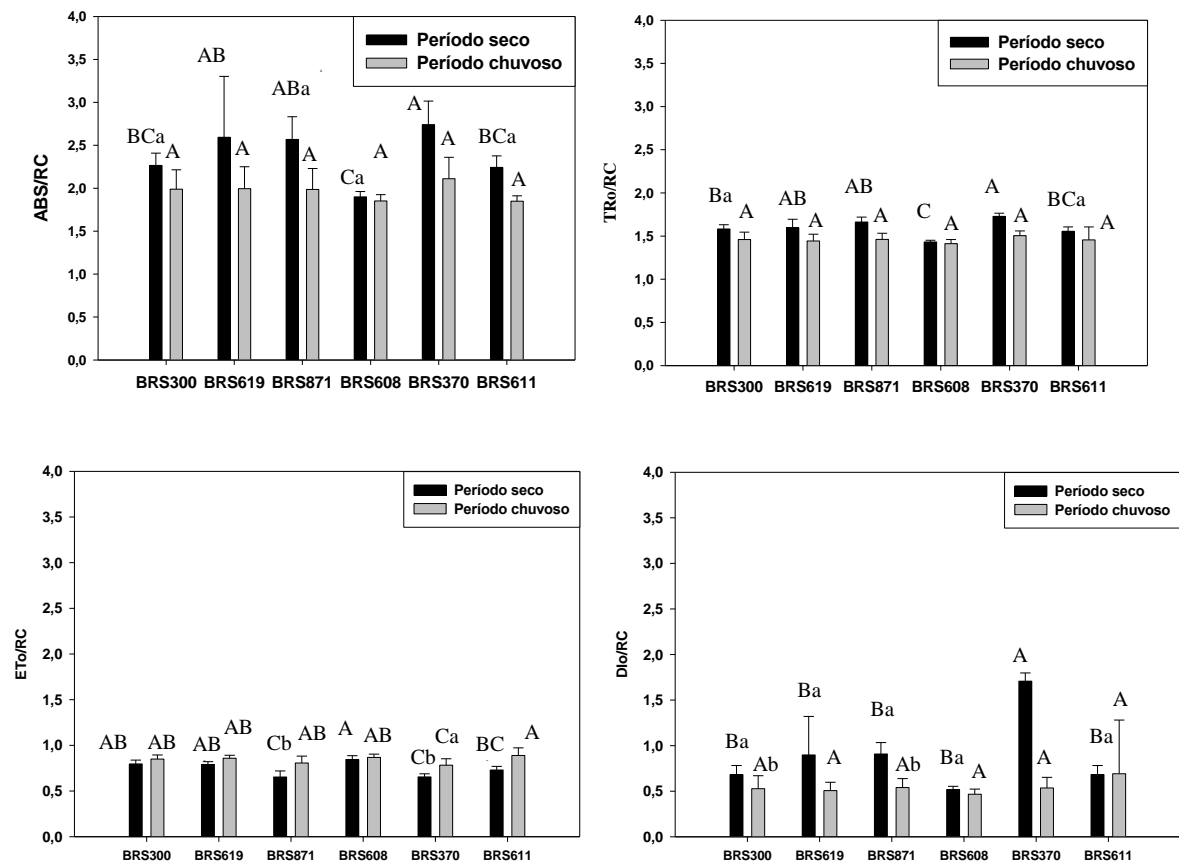
Os teores de clorofilas foliares encontrados para os seis clones foram mais altos no período chuvoso em relação ao seco, podendo-se inferir que no período chuvoso, por apresentar melhor distribuição pluviométrica ao longo dos meses, as plantas podem fazer uso mais eficiente de nutrientes, como nitrogênio (N) e magnésio (Mg), os quais compõem a molécula de clorofila. No período seco, os clones encontram condições adversas como possíveis danos causados por estresse, como déficit hídrico, altas temperaturas e irradiação, provocando fotodestruição da clorofila (Mendes, *et al.*, 2001). Com exceção do clone BRS300 que garantiu maior teor de clorofila nesse período pelo maior acúmulo de (Mg) foliar e também pela fotoproteção aumentada pela maior síntese de carotenóides.

Na comparação dos teores de carotenóides nos períodos distintos de precipitação, observou-se que estes foram superiores no período chuvoso, para as folhas de BRS619, BRS871, BRS370 e BRS611. Entretanto, para as folhas de BRS300, os teores de carotenóides foram significativamente superiores no período seco (Figura 1). No período seco, os teores de carotenóides foram significativamente maiores nas folhas do clone BRS300 (0,23 mg g<sup>-1</sup> MS), apresentando teores superiores às folhas do clone BRS370 e BRS871. No período chuvoso, o clone BRS370 novamente apresentou maiores teores elevados, diferenciando-se dos teores nas folhas do clone BRS619.

Em relação aos valores da razão Chl total/carotenóides, quando se comparou os clones nos períodos distintos de precipitação, indicaram aumentos para os clones BRS619, BRS370 e BRS611 no período chuvoso em comparação ao período seco. Enquanto que, nos clones BRS300, BRS871 e BRS608 não foram verificadas diferenças. Os valores da razão Chl total/carotenóides apresentaram diferenças entre os clones, tanto no período seco quanto no chuvoso. No período seco, as folhas do clone BRS370 apresentaram valores superiores razão Chl total/carotenóides em relação às folhas do clone BRS619 e BRS300, havendo diferenças entre as mesmas. No período chuvoso, as folhas dos clones de guaranazeiro não apresentaram diferenças estatísticas entre as plantas analisadas. As clorofilas tendem a serem fotooxidadas sob alta irradiância, e como os carotenóides podem prevenir as fotooxidações da clorofila, a razão clorofila total/carotenóides (Chltot/Cx+c) tem sido utilizada como um indicador potencial de danos fotooxidativos causados pelo excesso de luz (Hendry e Price, 1993).

### 3.2 FLUXO ESPECÍFICO DE ENERGIA NO CENTRO DE REAÇÃO

Estudando a cinética da fluorescência da clorofila *a* de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação, observaram-se aumentos significativos nas variáveis absorção por centro de reação (ABS/RC) ( $P=0.001$ ), captura de energia por centro de reação (TRo/RC) ( $P=0.031$ ) e dissipação de energia por centro de reação (DIO/RC) para a maioria dos clones no período seco, enquanto que, ocorreu decréscimo significativo ( $P=0,015$ ) em alguns clones no transporte de elétrons por centro de reação (ETo/RC) (Figura 2).

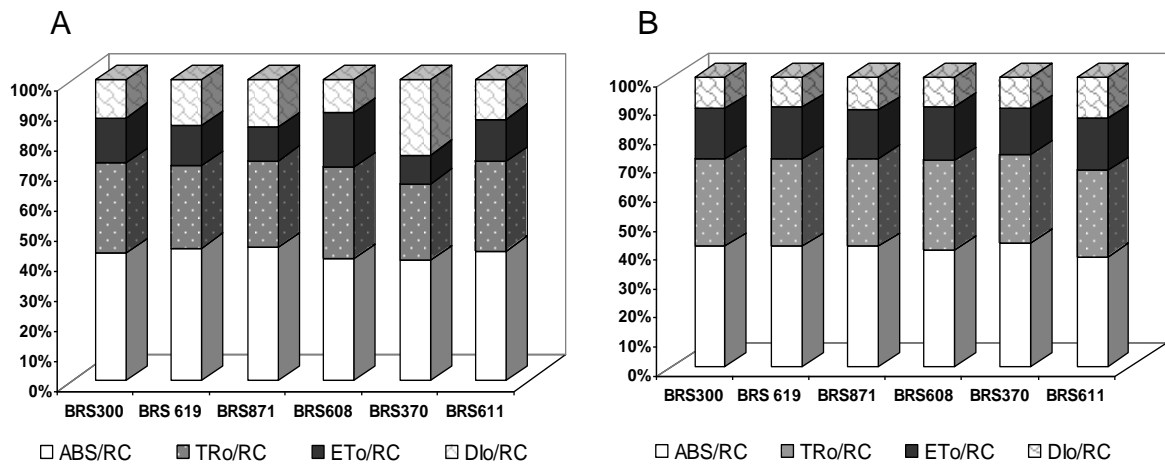


**Figura 2:** Fluxo específico de energia no centro de reação de clones de guaranazeiro em períodos distintos de precipitação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras verticais representam desvios padrão ( $n=5$ ).

Comparando os dois períodos de precipitação, os clones BRS619, BRS871 e BRS370 apresentaram aumentos em torno de 29% nas suas ABS/RC no período de menor precipitação. Aumentos em torno de 15% também foram verificados para a TRo/RC nas folhas do clone BRS370. Em relação ao transporte de elétrons, o clone BRS871 apresentou decréscimo de quase 20% no ETo/RC. No mesmo período, aumentos de dissipação de energia foram encontrados para os clones BRS619, BRS871 e BRS370 em aproximadamente 76,5%, 68,5% e 216,7%, respectivamente. No período seco, a demanda de energia no fotossistema II foi maior, uma vez que os clones aumentaram sua absorção e captura. No entanto, não ocorreu eficiência no transporte de elétron, provocando, assim, sobrecarga no fotossistema II, com conseqüente aumento de dissipação de energia na forma de calor e fluorescência (Contran *et al.*, 2009).

Observando-se os clones em cada período isolado, verificou-se que, no período seco, o BRS370 apresentou maior absorção (ABS/RC= 2,74) e captura de energia (TRo/RC=1,73). Os menores valores dessas variáveis foram observados para o clone BRS608 (ABS/RC= 1,90) e (TRo/RC=1,43), respectivamente. No entanto, esses clones diferiram quanto ao transporte e dissipação de energia, sendo que o clone BRS370 apresentou baixo transporte de energia (ETo/RC= 0,65) e alta dissipação (DIo/RC=1,71). O clone BRS608 apresentou alto transporte de energia e a mais baixa dissipação (DIo/RC=0,52) entres os clones, no mesmo período. No que se refere ao clone BRS871, este apresentou boa absorção e captura de energia quando comparado com outros clones, porém, baixo transporte de elétron (ETo/RC= 0,65). Além do mais, sua dissipação (DIo/RC=0,91) foi a segunda mais alta no período. No período chuvoso, os clones apresentaram comportamentos semelhantes em relação à absorção, captura e dissipação de energia. No entanto, para o transporte de elétrons, apresentaram comportamento diferenciado. O clone BRS611 apresentou maior média de ETo/RC= 0,89 e o menor valor médio foi verificado no clone BRS370 (ETo/RC= 0,78).

Em relação à taxa de contribuição de cada valor no fluxo específico de energia, no período seco, verificou-se que o clone BRS370 apresentou as menores contribuições para ETo/RC (9,5%) e maiores dissipações de energia, cerca de 25% (Figura 3A). Adicionalmente, a ABS/RC nos seis clones, no período seco foi superior a 40%. A captura de energia ficou em torno de 25% a 30% e a mais alta porcentagem de ETo/RC foi encontrada no clone BRS608 (18%) (Figura 3A). No período chuvoso (Figura 3B), a porcentagem de ABS/RC foi de aproximadamente 45% e TRo/RC em torno de 30%. O menor valor de média para o ETo/RC foi para BRS370, em torno de 16%, e o maior valor verificou-se para BRS608 (19%), o BRS608 apresentou maior dissipação de energia (ABS/RC=14%), no mesmo período.



**Figura 3:** Comparação da porcentagem de contribuição de cada valor de Fluxo específico de energia no centro de reação com o total entre categorias no período seco (A) e período chuvoso (B). Barras verticais representam desvios padrão (n=5).

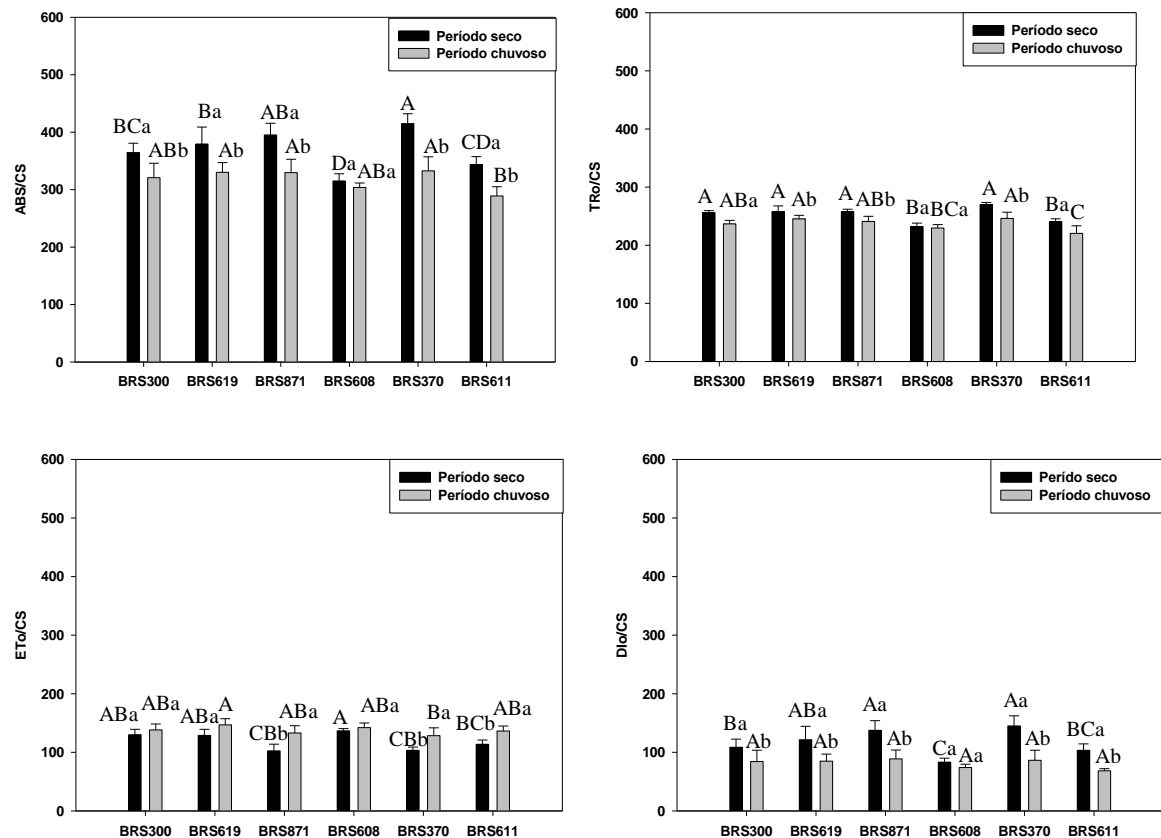
### 3.3. FLUXO FENOMENOLÓGICO DE ENERGIA POR SECÇÃO TRANSVERSAL

Em relação ao fluxo fenomenológico de energia, observou-se que alguns dos clones exibiram aumentos significativos na ABS/CS ( $P=0,003$ ), TRo/CS ( $P=0,039$ ) e DiO/CS ( $P=0,003$ ), no período seco, enquanto que, ocorreu decréscimo significativo no ETo/CS ( $P=0,018$ ) (Figura 4). Os clones BRS611 e BRS370 exibiram os maiores aumentos na absorção de fótons por seção transversal, sendo  $ABS/CS=50\%$  e  $ABS/CS=25\%$ , respectivamente, no período seco. Além do mais, observou-se que, os clones BRS611 e BRS370 também exibiram aumentos significativos na TRo/CS, 9% e 10%, respectivamente. Por outro lado, os menores aumentos de ABS/CS e TRo/CS foram observados para o BRS608. Em relação ao ETo/CS, os clones BRS871 e BRS370, apresentaram as maiores reduções no transporte de elétrons por seção transversal,  $ETo/CS=23\%$  e  $ETo/CS=20\%$ , respectivamente, e também os maiores aumentos de dissipação de energia (BRS871=55% e BRS370=68%), nesse período. Aumentos nos parâmetros de dissipação de energia podem ser efeitos da acumulação de quinona A reduzida ( $QA^-$ ) (Contran *et al.*, 2009).

No que diz respeito ao desempenho dos clones em cada período, no período seco, o BRS370 apresentou maior  $ABS/CS=414,92$ ,  $TRo/CS=269,93$  (Figura 4). Entretanto, sua  $ETo/CS$  foi a menor do período, aliada a alta dissipação de energia ( $ABS/CS=144,99$ ). No período chuvoso, as maiores  $ABS/CS$  e  $TRo/CS$  foram para BRS619 e BRS370, mas a maior



média de transporte de elétrons foi para o clone BRS619. Os clones nesse período não apresentaram diferenças para dissipação de energia.



**Figura 4:** Análise do Fluxo Fenomenológico de energia por seção transversal em folhas de clones de guaranazeiro em diferentes períodos de precipitação. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras verticais representam desvios padrão ( $n=5$ ).

### 3.4 RENDIMENTOS FOTOQUÍMICOS DO FOTOSISTEMA II

No que diz respeito à densidade de centros de reação por seção transversal (RC/CS), os clones apresentaram valores médios semelhantes, quando comparados os dois períodos de precipitação, com exceção para o clone BRS871 ( $P=0,02$ ) (Tabela 1). Este clone apresentou redução de 5% para RC/CS, no período seco. A explicação para esse fato pode ser resultado das altas taxas de dissipação de energia tanto por centro de reação, quanto por seção transversal, no mesmo período (Figura 2, 3, 4). Taxas de dissipações altas, aliadas a baixa

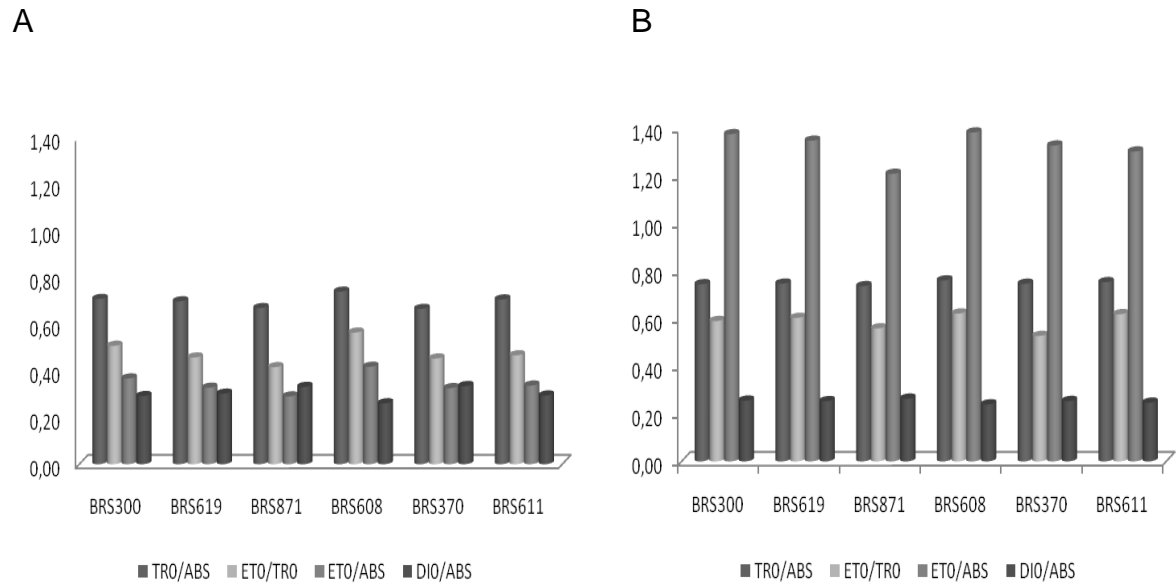
densidade de RC/CS, podem indicar maiores susceptibilidades dos clones à exposição a altas irradiancias (Gonçalves e Santos-Júnior, 2005).

Comparando os diferentes períodos de precipitação, quanto à eficiência fotoquímica do fotossistema II (TRo/ABS), verificaram-se reduções para TRo/ABS ( $P=0,019$ ), exceto para o clone BRS608, o qual não apresentou diferenças (Figura 5 e Tabela 1). Em consequência dos baixos valores para TRo/ABS exibidos pelos clones, tanto no período seco, quanto no chuvoso, bem com as reduções ocorridas nessa variável de um período para outro, pode-se afirmar que as plantas de guaranazeiro, apresentaram leve estresse por altas radiações. Valores de TRo/ABS abaixo de 0,8 indicam estresse por altas irradiancias (Maxwell e Johnson, 2000). No entanto, esse estresse foi compensado pelas regulações internas de cada planta, uma vez que as plantas apresentaram boa performance fotossintética nos diferentes períodos de precipitação (taxas de fotossíntese máxima em torno de 14 a 15  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

Por sua vez, o índice de desempenho dos clones foi alterado nos diferentes períodos de precipitação ( $P=0,001$ ) (Tabela 1). Os clones de guaranazeiro reduziram seus  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  no período seco, sendo as maiores reduções verificadas nos clones BRS370 (62%) e no BRS871 (57%). Essas reduções nos clones BRS370 e BRS871, podem ser atribuídas a reduções significativas no ETo/ABS (76% e 75%, respectivamente) e aumentos significativos na DIo/ABS, em torno de 26% para BRS871 e 32% para o clone BRS370. O clone BRS608 apresentou as menores reduções no período seco no seu  $\text{PI}_{\text{ABS}}$ , cerca de 26%. Este fato pode ser atribuído ao seu bom desempenho na ETo/TRo e DIo/ABS, variáveis que sofreram pouca alteração entre os períodos em relação às reduções apresentadas pelos demais clones, apenas cerca de 9%. O Índice de desempenho ( $\text{PI}_{\text{ABS}}$ ) é considerado uma variável muito sensível para identificar estresses por alta irradiancia e, tem sido amplamente utilizado para comparar as reações fotoquímicas primárias, pois combinam três principais medidas funcionais que ocorrem no fotossistema II, à absorção de energia, a captura de energia de excitação e a conversão de energia de excitação para o transporte de elétrons (Chen e Cheng, 2009).

Quanto ao desempenho dos clones em cada período isolado, verificou-se que, no período seco, a maior densidade de RC/CS foi apresentada pelo clones BRS619 e a menor para BRS611. Com relação à TRo/ABS, o clone BRS608 apresentou os maiores valores e os menores valores foram para os clones BRS871 e BRS370. O clone BRS608 apresentou o maior  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  nesse período e, o menor valor foi obtido pelo clone BRS370. Os altos valores de índice de desempenho para o BRS608, no período seco, foram atribuídos à eficiência no ETo/TRo e na ETo/ABS, aliado à baixa dissipação (Tabela 1 e Figura 5-A). No período

chuvoso não foram verificadas diferenças entre os clones para TRo/ABS, ETo/ABS e DIO/ABS. Apenas a ETo/TRo foi diferenciada nesse período (Figura 5-B).



**Figura 5:** Comparação da Taxa de Rendimento Fotoquímico do fotossistema II em folhas clones de guaraná, (A) período seco e (B) período chuvoso. Barras verticais representam desvios padrão (n=5).

**Tabela 1:** Taxa de Rendimento Fotoquímico do Fotosistema II em folhas de clones de guaranazeiro, crescendo em diferentes períodos de precipitação (seco e chuvoso).

Parâmetros	BRS300		BRS619		BRS871		BRS608		BRS370		BRS611	
	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
<b>RC/CS</b>	AB 162,78 ±4,17 <sup>a</sup>	AB162,85 ±6,36a	A 166,19 ±6,61a	A 170,65 ±6,66a	AB157,12 ±2,22b	AB165,36 ±7,46a	AB162,44 ±4,00a	AB163,76 ±5,59a	AB 157,63 ±3,82a	AB164,52 ±4,77a	B 154,56 ±3,17a	B 158,11 ±11,04a
<b>TRo/ABS</b>	AB 0,71 ±0,02b	A 0,74 ±0,03a	BC 0,70 ±0,02b	A 0,75 ±0,02a	C 0,67 ±0,01b	A 0,74 ±0,03a	A 0,74 ±0,01a	A 0,76 ±0,01a	C 0,67 ±0,02b	A 0,75 ±0,03a	ABC 0,71 ±0,02b	A 0,75 ±0,03a
<b>Dio/ABS</b>	BC 0,29 ±0,02a	A 0,26 ±0,03b	AB 0,30 ±0,02a	A 0,25 ±0,02b	A 0,33 ±0,01a	A 0,26 ±0,03b	C 0,26 ±0,01a	A 0,24 ±0,01a	A 0,33 ±0,02a	A 0,25 ±0,03b	ABC 0,29 ±0,02a	A 0,25 ±0,03b
<b>ETo/TRo</b>	AB 0,51 ±0,05b	AB 0,59 ±0,05a	BC 0,46 ±0,06b	AB 0,60 ±0,05a	C 0,42 ±0,07b	AB 0,56 ±0,07a	A 0,56 ±0,04b	A 0,62 ±0,02a	BC 0,45 ±0,03b	B 0,53 ±0,06a	BC 0,47 ±0,07b	A 0,62 ±0,03a
<b>ETo/ABS</b>	A 0,37 ±0,04b	A 1,38 ±0,23a	A 0,33 ±0,05b	A 1,35 ±0,04a	A 0,29 ±0,06b	A 1,21 ±0,15a	A 0,42 ±0,04b	A 1,38 ±0,11a	A 0,33 ±0,03B	A 1,33 ±0,13a	A 0,34 ±0,06b	A 1,30 ±0,17a
<b>PI<sub>ABS</sub></b>	AB1,84 ±0,67b	AB 3,34 ±0,59a	B 1,57 ±0,53b	A 3,46 ±0,63a	B 1,16 ±0,13b	AB 2,67 ±0,73a	A 2,56 ±0,36b	A 3,48 ±0,35a	B 0,92 ±0,12b	B 2,41 ±0,59a	B 1,54 ±0,52b	AB 3,34 ±0,55a

Nas linhas, médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas à direita para períodos e maiúsculas a esquerda para clones, não diferem pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Os valores são médias  $\pm$  desvios padrão (n=5).

## 4 CONCLUSÕES

Os clones de guaranazeiro apresentaram modificações na cinética da fluorescência da clorofila *a* quando submetidos a diferentes períodos de precipitação. Os maiores aumentos de ABS/RC, TRo/RC, Dio/RC e ABS/CS, TRo/CS e Dio/CS foram apresentados no período de menor precipitação. No entanto, nesse período os clones não foram eficientes quanto ao ETo/RC e ETo/CS.

Em relação ao desempenho no uso de energia pelos clones, o clone BRS608 destacou-se por apresentar as menores variações de  $PI_{ABS}$  entre os períodos em estudo.

As maiores concentrações para pigmentos cloroplastídicos foram encontradas no período chuvoso, exceto para o clone BRS300, que apresentou os maiores valores de pigmentos cloroplastídicos no período seco.

O clone BRS871 apresentou maiores valores de razão chl *a/b* e o clone BRS370, apresentou os maiores valores de razão Cht/car, garantindo a esses clones maiores tolerâncias ao estresse por alta irradiância, aspecto a ser considerado na seleção de clones visando à implantação de novas cultivares.

## Capítulo IV

### **Conteúdo de metilxantinas em diferentes tecidos de clones de *Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke cultivados sob plantio comercial**

#### **1. INTRODUÇÃO**

---

A biossíntese de estruturas complexas como alcalóides, terpenóides e derivados de fenilpropanóides é considerada uma das principais funções do metabolismo secundário nas plantas. Esses compostos apresentam ampla diversidade em estruturas e tamanhos sendo, encontrados e distribuídos por todo o reino vegetal (Collin, 2001; Verpoorte *et al.*, 2002). No entanto, se forem apenas analisados os metabólitos secundários obtidos de espécies lenhosas e que tiveram alguma atividade biológica determinada, serão encontrados cerca de 940 compostos naturais ativos, distribuídos em dezenas de classes distintas de substâncias químicas (Verpoorte *et al.*, 2002).

Embora esses compostos secundários encontrem-se presentes em concentrações bem menores nas plantas, quando comparadas com os metabólitos primários (carboidratos, lipídeos e proteínas), a maioria deles tem encontrado aplicações comerciais como fármacos, corantes, aromas, inseticidas, etc. (Klein *et al.*, 2009). Como existe uma grande demanda por parte da indústria por esses compostos, a produção pelas plantas nem sempre é satisfatória. Todavia, os metabólitos secundários, frequentemente, estão restritos a uma espécie ou gênero e, muitas vezes, podem ser ativados somente durante determinada fase do crescimento ou estágio do desenvolvimento vegetal, em estações específicas do ano, ou mesmo sob condições de estresse (Velloso *et al.*, 2009). Alguns grupos de plantas caracterizam-se, marcadamente, por “investirem” elevados recursos metabólicos no metabolismo secundário, do qual resultam substâncias de baixo peso molecular, às vezes produzidas em pequenas quantidades, como no caso das metilxantinas (Verpoorte e Memelink, 2002).

Independente destas especificidades, os produtos do metabolismo secundário apresentam estruturas variadas, sendo provenientes de três rotas biossintéticas conhecidas: acetato, mevalonato e chiquimato (Martins, 2000). As rotas bioquímicas das principais classes dos compostos secundários dependem do metabolismo primário. Essa relação ocorre por meio

de compostos intermediários como o acetil-CoA, ácido pirúvico, ácido chiquímico e alguns aminoácidos (Simões *et al.*, 1999).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos, quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Dentre esses metabólitos secundários de grande importância estão os alcalóides, os quais constituem uma grande família com mais de 15.000 metabólitos secundários nitrogenados, encontrados em aproximadamente 20% das espécies de plantas vasculares (Taiz e Zeiger, 2004). Os alcalóides são sintetizados a partir de poucos aminoácidos comuns, como a lisina, tirosina e triptofano. Contudo o esqueleto de carbono de alguns alcalóides apresenta um componente derivado da rota dos terpenos.

Entre os alcalóides de importância comercial, destaca-se a cafeína, cuja síntese se dá a partir da adenina e guanina, por meio da rota biossintética que inclui a xantosina por um caminho que contém três passos de metilação sendo dependente da S-adenosil-L-metionina (SAM). Neste contexto as N-metiltransferases têm papel importante (Mazzafera *et al.*, 1994; Kato, 1999). Dessa forma, a xantosina é convertida em metilxantosina, depois em metilxantina, teobromina e, finalmente, em cafeína. Essa rota metabólica constitui a principal rota da biossíntese da cafeína, com entradas alternativas para xantosina 5P-monofosfato (XMP) e 7-metil XMP-7-metilxantosina (Kato *et al.*, 1999; Mizuno *et al.*, 2002).

A cafeína (1, 3,7-trimetilxantina) exibe relativa abrangência entre vegetais com destaque para o cacau (*Theobroma cacao*) (Senanayake e Wijesekera, 1971), o café (*Coffea arabica* L.) (Fujimori e Ashihara, 1994; Mazzafera, 1996), a Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) (Fujimori e Ashihara, 1990; Reginato *et al.*, 1999) e o guaranazeiro (*Paullinia cupana*) (Weckerle *et al.*, 2003).

Em geral, sob condições de estresse, algumas plantas têm a capacidade de aumentar a produção de alcalóides, como a cafeína e a teobromina, que podem atuar como substâncias de defesa contra insetos e fungos, além de contribuírem para a manutenção foliar (Mazzafera *et al.*, 1996; Verpoorte *et al.*, 2000). A cafeína pode desempenhar função como o armazenamento de nitrogênio, pois contém quatro átomos de nitrogênio em sua molécula (Mazzafera *et al.*, 1996). Mesmo desempenhando várias funções, a cafeína nas plantas ainda não tem sua ação completamente esclarecida. Os estudos atuais apontam duas hipóteses para a atividade da cafeína: defesa química para proteger o tecido jovem de predadores como larva de insetos e função alelopática ou autotóxica, inibindo a germinação de outras sementes (Ashihara e Suzuki 2004).

Do ponto de vista da importância econômica, a cafeína destaca-se por estar presente em diferentes produtos industrializados (café, chá, chocolates, refrigerantes à base de cafeína), podendo-se afirmar que cerca de 80% da população do planeta faz uso dessa substância todos os dias, embora seja muito difícil quantificar precisamente seu consumo (Strain e Griffiths, 2000). Os poucos estudos sobre a cafeína, estão voltados para as plantas de café, por esta espécie ser um dos principais produtos agrícolas na pauta das exportações de diversos países, incluindo o Brasil (Silva e Reis, 2001). Em contraste, a cafeína proveniente principalmente de extratos de guaraná ainda é pouco investigada, apesar de o guaraná ser a provável fonte vegetal mais rica de cafeína (Mehr *et al.*, 1996).

Assim, o guaranazeiro encontra-se entre as muitas espécies amazônicas com potencial econômico pelas características de suas sementes, que podem ser usadas de formas múltiplas como, por exemplo, na fabricação de xarope (concentrado), bastão (ralado obtém-se o pó), ou pó acondicionado em frascos e/ou cápsulas gelatinosas (Suframa, 2003). Desse modo, as sementes de guaraná, por apresentarem altos teores de substâncias como a teobromina (vasodilatadora), teofilina (broncodilatadora) e cafeína (2,5-5%), propícias para serem usadas nas indústrias farmacêuticas e de bebidas, constituem-se em interessante alternativa de exploração agrícola para o Estado (Lima *et al.*, 2005).

Em termos globais de produção de sementes, os números ainda são relativamente modestos. Neste cenário, o Brasil destaca-se por ser praticamente o único produtor mundial de guaraná, com pequenas exceções para Amazônia peruana e venezuelana. O Brasil possui áreas plantadas no Amazonas (centro de dispersão da espécie), no Pará, no Acre, em Rondônia e mais recentemente nos Estados do Mato Grosso e da Bahia. No país, a produção está perto de 4000 toneladas/ano, sendo que desta produção 70% é direcionada para as indústrias de refrigerantes gaseificados sob forma de xarope e apenas 30% são comercializado sob a forma de pó, bastão e extrato para consumo interno e exportação (Suframa, 2003).

Considerando então a elevada demanda do mercado nacional e internacional para a produção das metilxantinas, fazem-se necessárias investigações sistemáticas sobre o conteúdo e acúmulo deste composto orgânico em diferentes tecidos da planta do guaranazeiro. Portanto, devido à ausência de estudos que discriminem os conteúdos das metilxantinas nos diversos tecidos vegetais de guaranazeiro e, que possa ser empregados nas pesquisas de fisiologia vegetal e de fitomelhoramento, este trabalho teve como objetivo investigar os teores de metilxantinas em diferentes órgãos/tecidos do guaranazeiro, como folhas, galhos, caules e raízes, inflorescências, casca do fruto, além de tecidos de estocagem e/ou propágulos sexuais, como sementes em diversos estágios de desenvolvimento.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

---

### 2.1. ÁREA DE ESTUDO

O experimento foi conduzido em um plantio comercial de guaranazeiro na Fazenda da Agropecuária Jayoro, Município de Presidente Figueiredo, AM, Brasil (01°57'24" S, 60°08'31" W), a cerca de 120 km da cidade de Manaus-AM, ao longo da rodovia BR-174. O experimento foi instalado utilizando-se plantas adultas de quatro clones de guaranazeiro (BRS300, BRS619, BRS871 e BRS608) com dois anos de idade, cultivados sob plantio comercial.

### 2.2. COLETA DAS AMOSTRAS

Para a determinação das metilxantinas, foram coletadas três plantas inteiras de cada clone de guaranazeiro (BRS300, BRS619, BRS871 e BRS608). Em seguida, foram separadas as raízes grossas (RG) e finas (RF), os galhos grossos (GG) e finos (GF), as folhas novas (FN), maduras (FM) e velhas (FV), inflorescências e frutos. Os frutos foram separados das sementes e todas as amostras foram imediatamente secas em estufa a 80°C até obtenção de massa constante. As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (MCT- INPA).

Para a separação das amostras foram utilizados os seguintes critérios:

- Raízes: grossas (raiz  $\geq$  1,5 cm de diâmetro) e finas (raiz  $\leq$  1,5 cm de diâmetro)
- Galhos: grossos (caule lenho) e finos (caule herbáceo)
- Folhas: novas (lançamento foliar), maduras (completamente expandida) velhas (folha no início da senescência)
- Inflorescências: botões flores
- Fruto Imaturo: fruto com  $\pm$  45 dias de amadurecimento
- Fruto Maduro: fruto com coloração amarelo-avermelhada e com abertura da cápsula.

### 2.3. PREPARO DOS EXTRATOS DE METILXANTINAS

As amostras de metilxantinas foram preparadas a partir de 0,120 g de material seco moído, pesado em balança de precisão, colocado em tubos com tampas rosqueadas e, em seguida, foram adicionados 5 mL de metanol 80% (V/V). Os tubos foram devidamente fechados e colocados em banho-maria a 65° C, durante 1h, com agitação ocasional (agitação lenta). Completada esta etapa, as amostras foram retiradas do banho e deixadas em repouso até atingirem a temperatura ambiente. Uma alíquota de 200 µl foi retirada e diluída para 1000 µl. As amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada (GMCLab - Gilson Mod I - PMC 880). A partir desse material foi retirada uma alíquota de 100 µl para análises no cromatógrafo (FPLC UPC-900) (Protocolo-Laboratório de Fisiologia Vegetal - UNICAMP).

### 2.4 PREPARO DOS PADRÕES E CURVA ANALÍTICA DE CAFEÍNA, TEOFILINA E TEOBROMINA

As soluções estoques dos padrões foram preparadas pela diluição de cada composto em água deionizada. Para realização da curva padrão de cafeína, utilizaram-se concentrações de 0,5; 1; 2; 5; 10; 20 e 30 µg. mL<sup>-1</sup> de padrão de cafeína (Merk). Para a curva padrão de teofilina, utilizaram-se concentrações de 0,5; 1; 4; 10 e 20 µg. mL<sup>-1</sup> de padrão de teofilina (Merk). Na curva padrão de teobromina, utilizaram-se concentrações de 0,05; 0,1; 1; 4; 10 e 20 µg. mL<sup>-1</sup> de padrão de teobromina (Protocolo-Laboratório de Fisiologia Vegetal - UNICAMP)

### 2.5. ANÁLISE EM CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A determinação do teor das metilxantinas (%) foi realizada por Cromatografia Líquida de Alto Eficiência (FPLC UPC-900), utilizando-se uma coluna de fase-reversa C-18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) Supelco. O gradiente foi composto por metanol a 80 % e ácido acético a 0,5 %, com fluxo de eluição de 0,8 mL.min<sup>-1</sup>. A determinação de cafeína, teofilina e teobromina feita no comprimento de onda  $\lambda = 280$  nm.

## 2.6. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

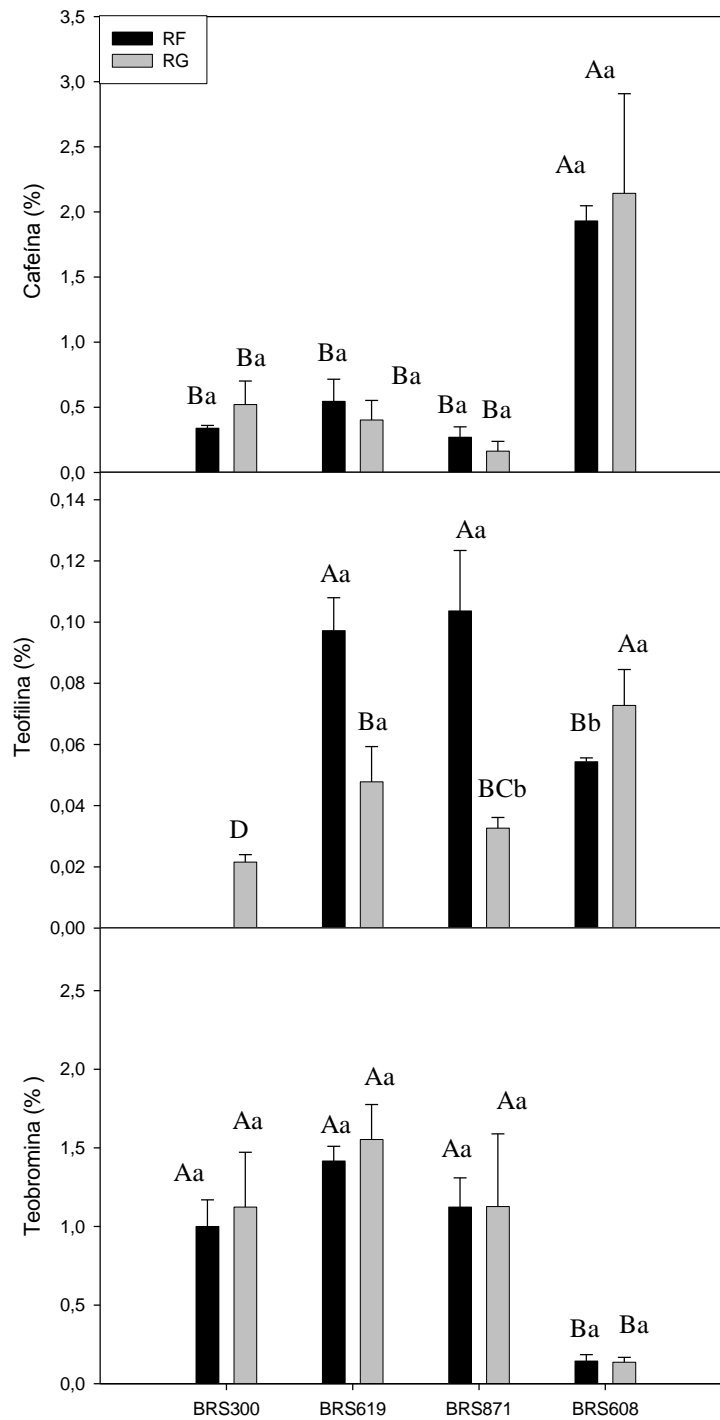
O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Para as análises das amostras de raízes o esquema fatorial foi 4x2, sendo composto dos seguintes fatores: quatro clones (BRS300, BRS619, BRS871 e BRS608), dois tipos de raízes (raiz grossa e fina) e três repetições. Para os galhos o esquema fatorial foi 4x2, sendo composto dos seguintes fatores: quatro clones (BRS300, BRS619, BRS871 e BRS608), dois tipos de galhos (galho grosso e fino). Para as análises das amostras de folhas o esquema fatorial foi 4x3, sendo composto dos seguintes fatores: quatro clones (BRS300, BRS619, BRS871 e BRS608), três estádios de desenvolvimento da folha (jovem, madura e velha). Para as análises de fruto o esquema fatorial foi 4x3, sendo composto dos seguintes fatores: quatro clones (BRS300, BRS619, BRS871 e BRS608), três partes do fruto (casca, casquilho e semente) e três repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a  $P \leq 0,05$ . O programa estatístico utilizado foi o SYSTAT 10.2.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

#### 3.1. TEORES DE METILXANTINAS NAS RAÍZES

Na comparação entre raízes grossas e finas não foi verificado resultados significativos ( $P=0,319$ ). No entanto quando comparados os clones, verificou-se resultados significativos ( $P=0,001$ ). O clone BRS608, quando comparado com os demais, apresentou maior teor de cafeína, enquanto que o clone BRS871 apresentou menor teor, tanto nas raízes finas, quanto nas raízes grossas (Figura 1). Por outro lado, os maiores teores de teofilina nas raízes finas foram obtidos nos clones BRS619 e BRS871, no clone BRS300 não foram detectada presença de teofilina. Nas raízes grossas, o clone BRS608 apresentou os maiores teores de teofilina e os menores teores foram encontrados no clone BRS300. No entanto, na comparação entre raízes finas e grossas, observou-se que as raízes finas do clone BRS619 apresentaram duas vezes mais teofilina e no clone BRS871 foi verificado aumento de três vezes nos teores de teofilina nessas raízes. Em relação aos teores de teobromina, os clones BRS300, BRS619 e BRS871 apresentaram os maiores teores, tanto nas raízes finas, quanto nas raízes grossas, e os menores teores de teobromina foram obtidos no clone BRS608. Quando se comparou raízes finas e grossas quanto ao teor de teobromina, os clones não apresentaram diferenças entre si (Figura 1).



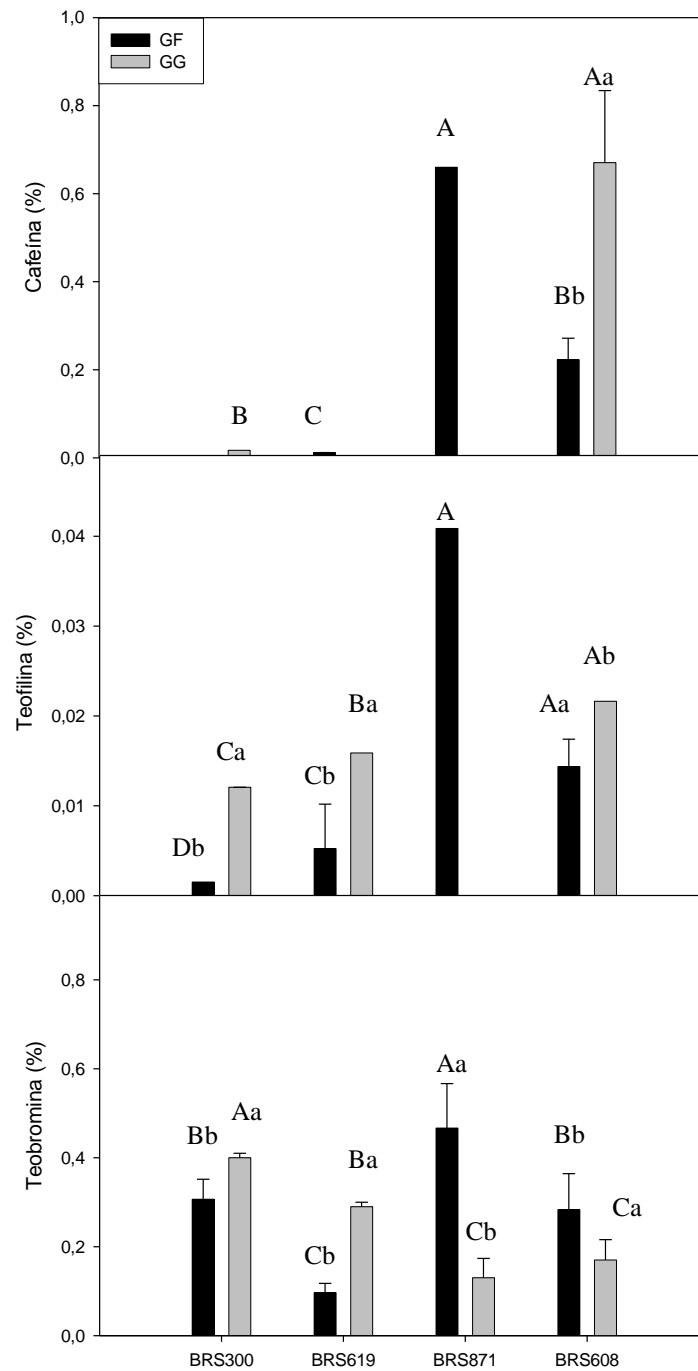
**Figura 1:** Teores de metilxantinas nas raízes de clones de guaranazeiro. Raiz Fina (RF) e Raiz Grossa (RG). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para raiz, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão ( $n=3$ ).

### 3.2. TEORES DE METILXANTINAS NOS GALHOS DE CLONES DE GUARANAZEIRO

As determinações dos teores de cafeína nos galhos dos clones de guaranazeiro indicaram que o BRS871 apresentou os maiores teores de cafeína nos galhos finos, enquanto que no clone BRS300, não foram detectados teores de cafeína (Figura 2). Nos galhos grossos, o maior teor de cafeína foi encontrado no clone BRS608 e o menor no clone BRS300. Não foi detectada a presença de cafeína nos galhos grossos dos clones BRS619 e BRS871. O teor de cafeína encontrado para o clone BRS608 foi maior nos galhos grossos em comparação com os galhos finos. Resultados semelhantes foram encontrados em *P. cupana* e *P. pachycarpa*, onde o conteúdo de purina do córtex está positivamente correlacionado com a idade do caule, sendo encontrados 0,5 a 2,5% de cafeína no córtex velho (Weckerle *et al.*, 2003).

Os maiores teores de teofilina foram encontrados para o clone BRS871 nos galhos finos e os menores teores para o clone BES300 (Figura 2). Nos galhos grossos, os maiores teores de teofilina foram obtidos no clone BRS608 e os menores valores foram apresentados pelo clone BRS300.

No que tange aos teores de teobromina, os clones BRS871 e BRS608, apresentaram maiores teores de teobromina nos galhos finos do que nos galhos grossos. Por outro lado, os clones BRS300 e BRS619 apresentaram maiores teores de teobromina nos galhos grossos. Em *P. cupana* e *P. pachycarpa*, o conteúdo de teobromina no eixo do córtex-tronco, tronco-córtex e tronco de madeira foram 0,006%, 0,018% e 0,001%, respectivamente. Em todos os sete indivíduos analisados, a concentração de teobromina no córtex-tronco foi, pelo menos, dez vezes maior do que na casca da árvore e três a quatro vezes maiores do que no eixo do córtex (Weckerle *et al.*, 2003). A concentração de teobromina no córtex do caule de *P. yoco* é maior, sendo tradicionalmente utilizado pelos nativos da Colômbia e do Equador para preparar uma bebida rica em cafeína. Essas evidências sugerem que, os conteúdos de purinas no do gênero *Paullinia* são preferencialmente estocados nas partes mais antigas como caule e não brotos novos, conforme dados obtidos para plantas de café (*Coffea* spp.) (Weckerle *et al.*, 2003).



**Figura 2:** Teores de metilxantinas nos galhos de clones de guaranazeiro. Galho grosso (GG) e galho fino (GF). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para galhos, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3).

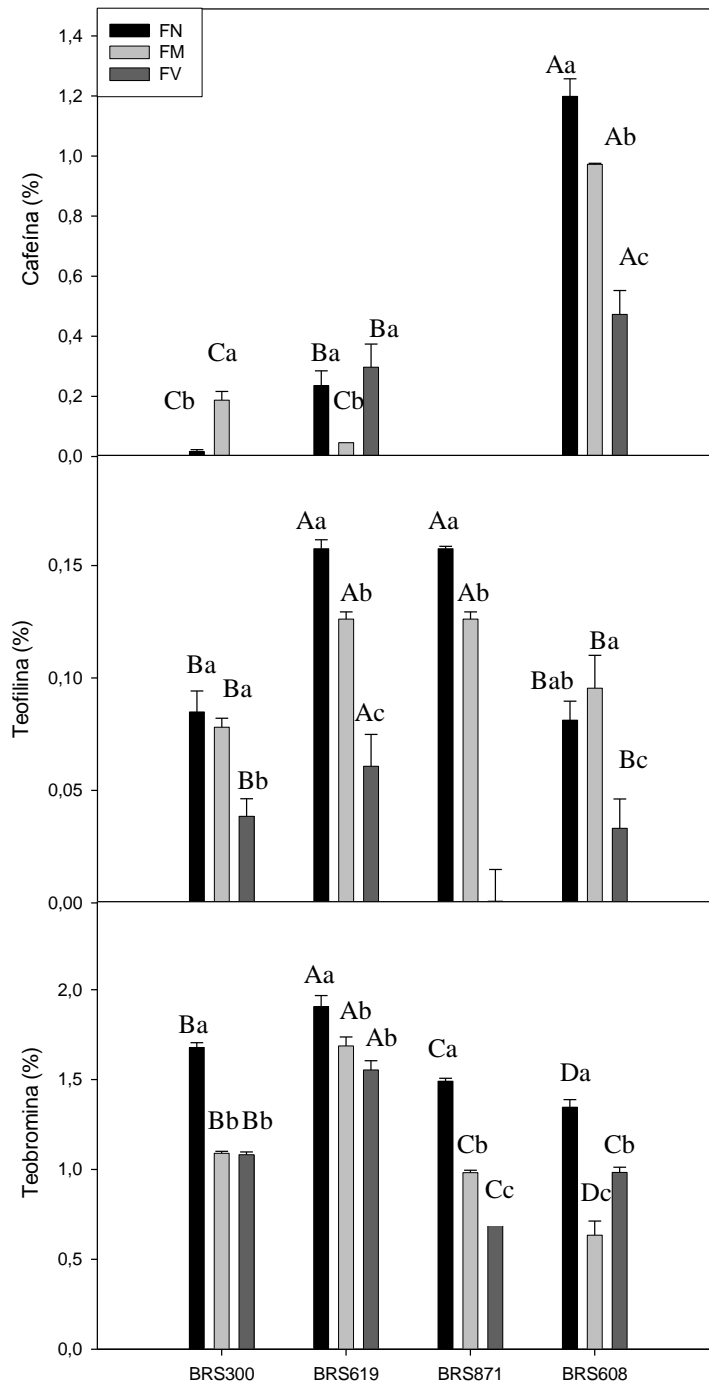
### 3.3. TEORES DE METILXANTINAS NAS FOLHAS DE CLONES DE GUARANAZEIRO

Os maiores teores de cafeína foram encontrados nas folhas do clone BRS608 em todas as idades analisadas (folha nova, madura e velha) (Figura 3). No clone BRS300 não foi detectada a presença de cafeína nas folhas velhas e no clone BRS871 não foi detectada cafeína em nenhum tipo de folha. No entanto, quando se comparou o teor de cafeína nas folhas entre as idades, o clone BRS300 apresentou cerca de 10 vezes mais cafeína nas folhas maduras do que nas folhas novas. No clone BRS619, o teor de cafeína nas folhas novas foi três vezes maior nas folhas velhas quatro vezes em relação às folhas maduras. Para o clone BRS608, o teor de cafeína foi seis vezes maior nas folhas novas e 2,5 vezes maior nas folhas velhas, quando comparado com as folhas maduras.

Os maiores teores de teofilina foram encontrados nas folhas dos clones BRS619 e BRS871, tanto nas folhas novas quanto nas folhas maduras (Figura 3). Em relação ao teor de teofilina nas folhas velhas, o clone BRS619 apresentou os maiores teores em relação aos demais, sendo que no clone BRS871 não foi observada a presença de teofilina. Por outro lado, quando se comparou os teores de teofilina entre as folhas, verificou-se que o clone BRS300 apresentou cerca de 2 vezes mais teofilina nas folhas maduras do que as folhas velhas. O clone BRS619 apresentou cerca de 2,5 vezes mais teofilina nas folhas novas e 2 vezes nas folhas maduras, quando comparado com os teores observados nas folhas velhas.

Em relação ao teor de teobromina nas folhas de guaranazeiro, verificaram-se maiores teores nas folhas novas de todos os clones analisados e menores teores nas folhas velhas, exceto para o clone BRS608. Este clone apresentou os menores teores de teobromina nas folhas maduras. Comparando-se os teores de teobromina entre folhas de cada clone, verificou-se que, o clone BRS300 apresentou 1,5 vezes mais teobromina nas folhas novas em comparação com as folhas maduras e folhas velhas. No clone BRS871, os teores de teobromina foram 1,5 e 1,6 vezes maiores nas folhas novas em comparação com as folhas maduras e folhas velhas, respectivamente. O clone BRS608 apresentou cerca de 2,1 e 1,3 vezes maiores teores de teobromina nas folhas novas em comparação com as folhas maduras e velhas, respectivamente.





**Figura 3:** Teores de metilxantinas nas folhas de clones de guaranazeiro. Folhas novas (FN), folhas maduras (FM) e folhas velhas (FV). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para idade de folhas, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3).

De modo geral, na maioria das folhas dos clones analisadas, verificou-se maior acúmulo de teobromina do que as outras metilxantinas analisadas, exceto para o clone BRS608. Os teores de cafeína e teobromina encontrados para o clone BRS608 foram superiores aos teores encontrados em plantas de *I. paraguariensis* (0,65% de cafeína e 0,12% teobromina) e na espécie *I. paraguariensis* var. *vestita* (0,003% de cafeína e aproximadamente 0,22%). Nas espécies *I. brevicuspis*, *I. dumosa* e, em *I. microdonta* verificou-se ausência de metilxantinas (Reginato *et al.*, 1999).

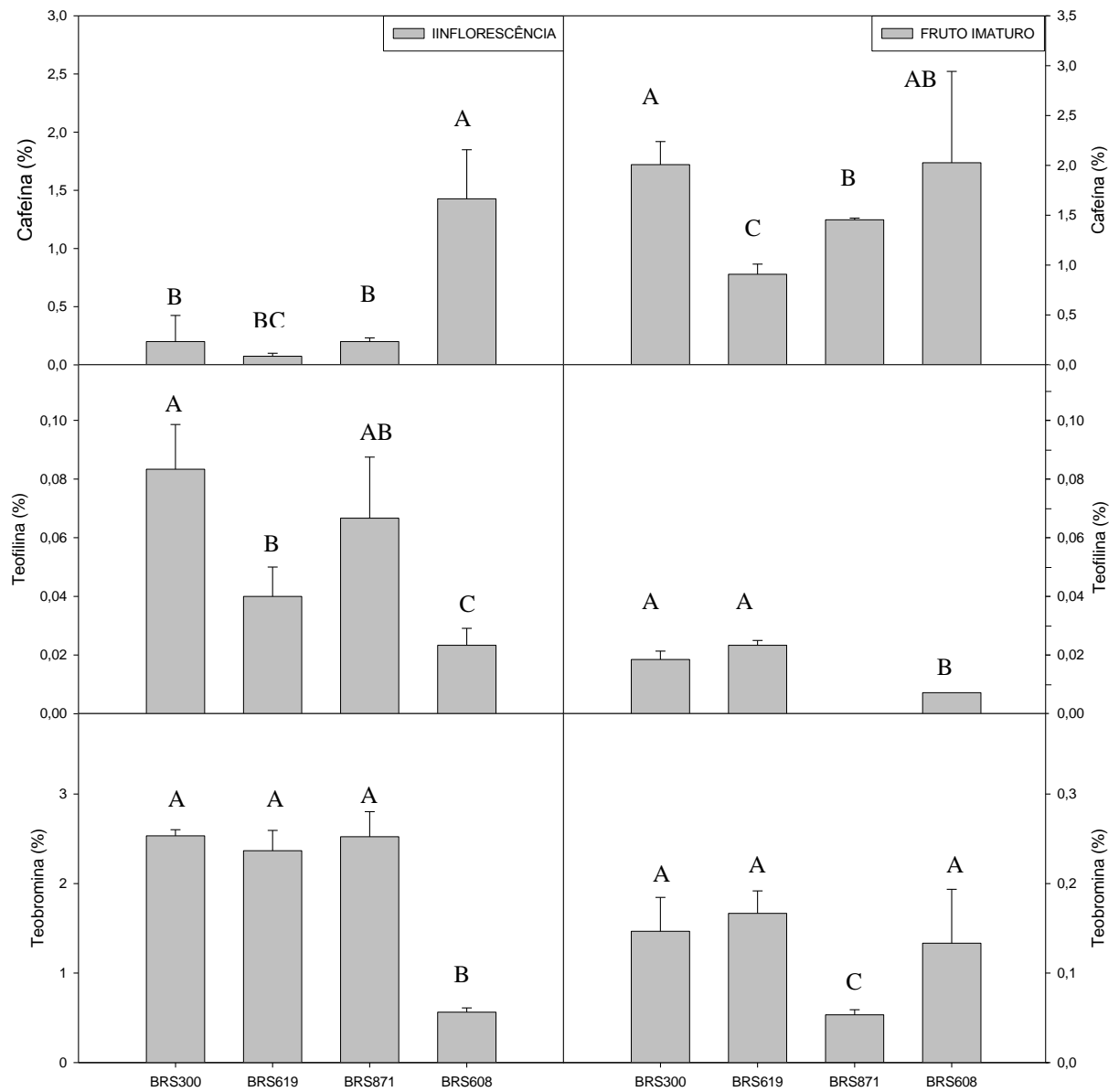
#### 3.4. TEORES DE METILXANTINAS NAS INFLORESCÊNCIAS E FRUTO IMATURO DE CLONES DE GUARANAZEIRO

Os teores de cafeína foram analisados nas inflorescências dos clones de guaranazeiro (Figura 4). O clone BRS608 apresentou teores cerca de 20 vezes maior em comparação com o clone BRS619 e 7,1 vezes maior em comparação com os clones BRS300 e BRS871. Os clones BRS300, BRS619 e BRS871 não apresentaram diferenças entre si. Em relação ao teor de cafeína nos frutos imaturos, os clones BRS300 e BRS608 apresentaram os maiores teores comparados com os demais clones, sendo que no BRS300, o teor de cafeína foi 2,2 vezes maior que no BRS619. Os maiores teores de teofilina foram detectados nos clones BRS300 e BRS871, sendo que o BRS300 apresentou teor de teofilina cerca de 4 vezes maior que o BRS608 e 2 vezes maior quando comparado com o BRS619 (Figura 4). O clone BRS871 apresentou teores de teofilina cerca de 3 vezes maior que os encontrados no clone BRS608. Quanto aos teores de teofilina nos frutos imaturos, verificou-se que o clone BRS300 apresentou 2,6 vezes maior teor de teofilina nos frutos imaturos e o clone BRS619 apresentou 3,2 vezes maior teor comparado com os valores encontrados no clone BRS608, enquanto que, no clone BRS871 não foram detectados teores de teofilina.

Os teores de teobromina nas inflorescências dos clones BRS300, BRS619 e BRS871 apresentaram valores cerca de 5 vezes maiores que àqueles obtidos no clone BRS608. No que se refere ao teor de teobromina nos frutos imaturos, observou-se que os clones BRS300, BRS619 e BRS608 apresentaram teor de teobromina, cerca de 3 vezes maiores quando comparado com os teores apresentados pelo clone BRS871.

De uma maneira geral, comparando os teores das metilxantinas na inflorescência e fruto imaturo, pode-se observar que, o clone BRS608 se destacou por apresentar maior teor de cafeína na inflorescência e os clones BRS300, BRS619 e BRS871 apresentaram os menores

teores. Esses resultados são semelhantes de teores de cafeína encontrados em chá de flores de 10 diferentes espécies de *Camellia sinensis* analisadas por processo HPLC isocrático onde foram observados variações entre 0,3% a 0,8% de cafeína (Lin *et al.*, 2003). Por outro lado, os clones BRS300, BRS619 e BRS871 apresentaram os maiores teores de teofilina e teobromina nas inflorescências, diferente dos resultados encontrados em flores de *P. pachycarpa*, nos quais apenas vestígios de teobromina foram detectados (Weckerle *et al.*, 2003). No que se refere ao fruto imaturo, verificou-se que os teores de cafeína foram maiores nos quatro clones. No entanto, os teores de teofilina e teobromina foram menores que os encontrados nas inflorescências. Contrariamente a esses resultados, teores de cafeína em frutos quase maduros não foram detectados de *P. pachycarpa* (Weckerle *et al.*, 2003).



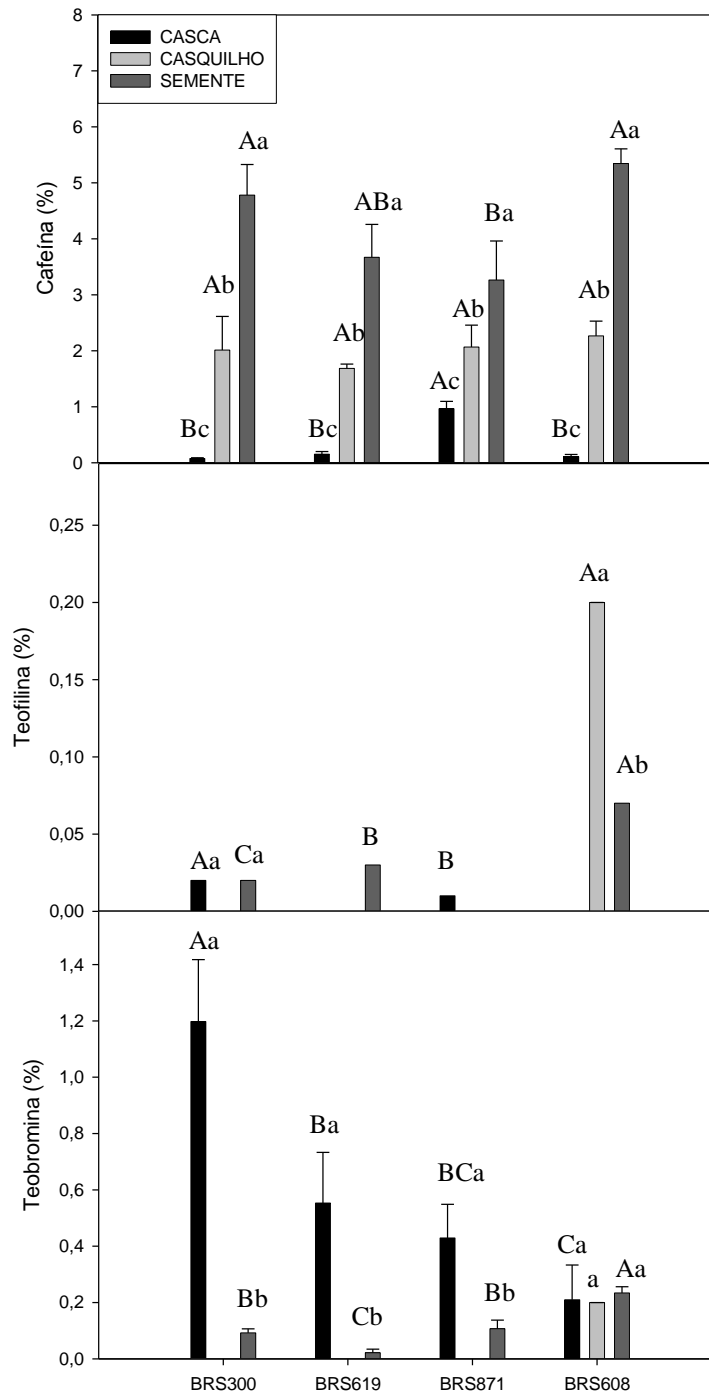
**Figura 4:** Teores de metilxantinas nas inflorescências e fruto imaturo de clones de guaranazeiro. Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3).

### 3.5. TEORES DE METILXANTINAS NOS FRUTOS MADUROS DE CLONES DE GUARANAZEIRO

Em relação aos teores de cafeína no fruto do guaranazeiro observou-se que, na casca, os maiores teores foram encontrados no clone BRS871 e os menores nos clones BRS300, BRS619 e BRS608. Estes clones não apresentaram diferenças entre si. No casquilho, os teores de cafeína ficaram no mesmo patamar (em torno de 2%), não apresentando diferenças entre os clones.

Em relação às sementes, os maiores teores de cafeína foram detectados nos clones BRS608 (5,3%) e BRS300 (4,8%) e os menores teores foram observados para os clones BRS619 (3,7%) e BRS871 (3,3%). O clone BRS871 apresentou os menores teores de cafeína, cerca de 1,7 vezes menor que os teores apresentados pelo clone BRS608, 1,5 vezes menor que os teores apresentados pelo clone BRS300 e 1,1 vezes menor que os teores apresentados pelo clone BRS619. No entanto, quando comparados os teores de cafeína entre as partes dos frutos, verificou-se a seguinte ordem: semente>casquilho>casca.

Quanto ao teor de teofilina nos frutos de guaranazeiro, observou-se maiores teores no casquilho do clone BRS608. No clone BRS300 não foram detectada teofilina nos casquilhos. No clone BRS619 verificou-se ausência de teofilina na casca e no casquilho. No casquilho e na semente do clone BRS871 não foi detectada teofilina. Por outro lado, analisando os teores de teobromina nas diferentes partes do fruto de guaranazeiro, verificaram-se maiores teores dessa metilxantina na casca dos clones BRS300 (1,2%), BRS619 (0,6%) e BRS871 (0,4%), não sendo detectada a presença de teobromina no casquilho dos clones BRS300, BRS619 e BRS871. Para os teores de teobromina na semente, os maiores teores foram encontrados no clone BRS608. Quando comparado os teores de teobromina na casca e na semente de cada clone, verificou-se que o clone BRS300 apresentou cerca de 12 vezes mais teobromina na casca do que na semente. No clone BRS619 obteve-se cerca de 30 vezes mais teobromina na casca em comparação com a semente.



**Figura 5:** Teores de metilxantinas nos frutos de clones de guaranazeiro. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para clones e minúsculas para partes do fruto, não diferem pelo teste de Tukey  $P \leq 0,05$ . Barras verticais representam desvios padrão (n=3).

O banco de germoplasma de café do Instituto Agronômico de Campinas possui muitos acessos de *Coffea arabica* da Etiópia, considerado o principal centro de diversidade genética em plantas de café. Uma avaliação do teor de cafeína de grãos de 99 progênies revelaram variabilidade intra e inter-descendentes. Em 68 progênies da Região de Kaffa encontraram-se valores de cafeína no intervalo 0,46-2,82% (média de 1,18%), e em 22 progênies da Região Illubabor esses valores variaram entre 0.42 a 2.90% (média de 1,10%). Essa variabilidade pode ser explorada em programas de melhoramento visando à produção de grãos com baixo teor de cafeína (Silvarolla *et al.*, 2000). Os resultados obtidos nesta pesquisa com o guaranazeiro também podem servir para as mesmas finalidades. Isto é, orientar programas de melhoramento, quanto aos teores nos diferentes órgãos e/ou tecidos de estocagem das metilxantinas.

A teobromina é dominante nas sementes de *T. cacao* e, sabe-se que a composição desse alcalóide muda com a idade das plantas. A teobromina é um alcalóide encontrado principalmente no pericarpo jovem, mas a cafeína é o principal componente em pericarpo maduro. Esse composto parece ser formado a partir da teobromina, metilação 1-N e reações desmetilação 7-N, respectivamente, sendo que, existe a possibilidade de que alguns alcalóides de purina sejam translocados do pericarpo das sementes. Entretanto, em *T. cacao* a maioria dos alcalóides de purina encontrados em sementes parecerem ser sintetizadas dentro da semente (cotilédones e eixo embrionárias) (Zheng *et al.*, 2004).

#### **4. CONCLUSÃO**

A cafeína foi detectada em todas as partes dos clones de guaranazeiro, exceto nas folhas do clone BRS871.

Todos os clones apresentaram teores de teofilina, nas raízes, galhos, folhas e inflorescências. Nos frutos imaturos foi detectada teofilina em todos os clones, exceto no BRS871. Nas cascas, também foram encontrados teofilina em todos os clones, com exceção dos clones BRS619 e BRS608. No casquilho, apenas nos clones BRS300 e BRS871 não foram detectados a teofilina. Nas sementes, apenas o BRS871 não apresentou esta metilxantina.

Em todas as partes analisadas dos clones de guaranazeiro foi encontrada teobromina, com exceção do casquilho, onde essa metilxantina foi apenas detectada no clone BRS608.



### 3. CONCLUSÕES FINAIS

Os clones de guaranazeiro apresentaram estratégias distintas de acúmulo de nutrientes nas folhas quando cultivados em diferentes períodos de precipitação, apesar de estarem estabelecidos em solos de baixa fertilidade, concentrando aumentos nos teores de nutrientes no solo no período seco.

Os diferentes períodos de precipitação não influenciaram no potencial hídrico dos clones de guaranazeiro. Os clones com melhores desempenhos fotossintéticos foram os clones BRS619 e BRS608. Adicionalmente, as plantas apresentaram plasticidade fenotípica, como mecanismo de aclimatação a diferentes condições ambientais.

As maiores concentrações para pigmentos cloroplastídicos foram encontradas no período chuvoso. Os clones BRS871 e BRS370 mostraram-se mais tolerantes ao estresse por altas irradiâncias. Os clones de guaranazeiro apresentaram modificações na cinética da fluorescência da clorofila *a* quando submetidos a diferentes períodos de precipitação. O clone BRS608 se destacou por apresentar as menores variações de  $PI_{ABS}$  entre os períodos estudados.

Em quase todas as partes dos clones de guaranazeiro foram detectados teores de metilxantinas, sendo mais evidente nos clones BRS300 e BRS608.

Os diferentes clones estudados apresentaram estratégias distintas para tolerarem as distribuições heterogêneas de precipitação e altas temperaturas, fato justificado por apresentarem exigências diferenciadas na captura de energia luminosa, absorção de água e de nutrientes.

Os clones de guaranazeiro, apesar de apresentarem material genético idênticos, exibiram diferenças em relação às suas características fenotípicas em respostas aos fatores abióticos, apresentando estratégias distintas para tolerância à baixa fertilidade dos solos, às distribuições heterogêneas de precipitação e às altas temperaturas que ocorrem na Região Amazônica.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

##### INTRODUÇÃO GERAL

Bjorkman, O.; Demmig-Adams, B. 1994. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion and dissipation in leaves of higher plants. In: Schulze, C. D.; Caldwell, M. M. (eds). *Ecophysiology of photosynthesis*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, 17-47.

Chaves Filho, J.T.; Seraphin, E.S. 2001. Alterações no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, 24(2):199-204.

Clement, C. R.; Val, A.L.; Oliveira, J. A. 2003 O desenvolvimento do sustentável na Amazônia. *T & C Amazônia*, 1(3)37: 1577–1584.

Demmig-Adams, B. 1990. Carotenoids and photoprotection: A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochimistry Biophysiology. Acta*, 1020:1-24.

Demmig-Adams, B.; Adams, W.W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43:599-626.

Dewar, R.C.; Medlyn, B. E.; MCMurtrie, R.E. 1998. A mechanistic analysis of light and carbon use efficiencies. *Plant, Cell and Environment*, 21:573-588.

Ducke, A.1937. Diversidade dos guaranáis. *Rodriguésia*, 3(10): 155-156.

EMBRAPA. *Reunião Técnica da Cultura do guaraná – Resumos da reunião*. Editado por André Luiz Atroch. Embrapa Amazônia Ocidental – Manaus, AM, 42p. 2001.

Escobar, J.R; Corrêa, M.P.F.; Aguilera, F.P. 1984. Estruturas florais, floração e técnicas para a polinização controlada do guaranazeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 19(5): 615-622.

Gonçalves, J.F. de C.; Santos-Junior, U.M. dos; Silva, J.F. da; Arruda, M.R. de; Bonates, L.C. de; Fernandes, A.V. 2006. Physiological and anatomical characteristics of leaves of two clones of guarana. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41(3): 393-398.

Kozlowski, T.T., Kramer, P.J.; Pallardy, S.G. 1991. *The Physiological Ecology of Woody Plants*. Academic Press, San Diego, 657p.

Krause, G.H.; Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42: 313-349.

Lee, D.W.; Baskaran, K.; Mansor, M.; Mohamad, H.; Yap, S.K. 1996. Irradiance and spectral quality affect Asian tropical rain forest tree seedling development. *Ecology*, 7:568-580.

- Lima, W.P.; Carnevali-Jr, L.C.; Eder, R.; Rosa, L.F.B.P.; Bacchil, E.M.; Seelaender, M.C.L. 2005. Lipid metabolism in trained rats: Effect of guarana (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation. *Clinical Nutrition*, 24: 1019-1028.
- Lleras, E. Considerações sobre distribuição geográfica e taxonômica do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) e taxa afins na Amazônia. In: Simpósio Brasileiro do Guaraná, 1., 1983, Manaus. Anais... Manaus: EMBRAPA-UEPAE Manaus, p. 281-292. 1984.
- Mazzafera, P.; Yamaoka-Yano, D.M. ; Vitória, A.P. 1996. Para que serve a cafeína em plantas? *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 8(1): 67-74.
- Mehr, C.B.; Biswal, R.N.; Collis, J.L. 1996. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Caffeine from Guarana. *The Journal of Supercritical Fluids*, 9: 185-191.
- MDIC/SECEX/Sistema Alice. <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/>. Acessado em 07/07/2010.
- Mooney, H.A.; Ehleringer, J.R.; 1997. Photosynthesis. In: Plant Ecology. Crawley, M.J. (ed.). Second Edition. Black Well Science. 1-27pp.
- Mulkey, S.S.; Kitajima, K.; Wright, S.J. 1996. Plant physiological ecology of tropical forest canopies. *Tree*, 11(10):408-412.
- Nascimento-Filho, F.J. do; Atroch, A. L.; Sousa, N.R.; Garcia, T.B.; Cravo, M. da S.; Coutinho, E.F. 2001. Divergência genética entre clones de guaranazeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 16(3): 501-506.
- Nascimento-Filho, F.J.; CRUZ, C.D.; Garcia, T.B. 1992. Divergência genética em plantas jovens de guaranazeiro e possibilidades de melhoramento. *Pesquisa. Agropecuária Brasileira*, Brasília, 27(12): 1571-1577.
- Nogueira, R.J.M.C.; Silva Jr, J.F. da. 2001. Resistência estomática, tensão de água no xilema e teor de clorofila em genótipos de gravioleira. *Scientia Agricola*, 58(3): 491-495.
- Pinto, A.C.; Silva, D.H.S; Bolzani, V. da S.; Lopes, N.P.; Epifanio, R. de A. 2002. Produtos naturais atualidade, desafios e perspectivas. *Química Nova*, 25(1): 45-61.
- Rodríguez-Concepción, M.; Forés, O.; Martínez-García, J.F.; Gonzalez, V.; Phillips, M.A. e Boronat, A. 2003. Distinct light-mediated pathways regulate the biosynthesis and exchange of isoprenoid precursors during Arabidopsis seedling development. *The Plant Cell*, 16(1): 144-156.
- Silva, J.A. da; Reis, R.P. Custos de redução do café na Região de lavras – mg: estudo de casos. 2001 *Ciências agrotecnica*, 25(6): 1287-1294.
- Sousa, N. R. *Conservação de recursos fitogenéticos da Amazônia em coleções diversificadas - Avaliação do estabelecimento de doze espécies*. Manaus: Embrapa. CPAA, 1997. 14p. (Embrapa-CPAA. Boletim de Pesquisa, 2).

Strain, E.C.; Griffiths, R.R. 2000. Caffeine related disorders. In: Sadock, B.J.; Sadock, VA Kaplan & Sadock's *Comprehensive Textbook of Psychiatry - Baltimore*, Lippincott, 7th., p. 982-90.

Stuefer, J.F.; Huber, H. 1998. Differential effects of light quantity and spectral light quality on growth, morphology and development of two *Stoloniferous potentilla* species. *Oecologia*, 117:1-8.

Suframa – Superintendência da Zona Franca de Manaus, 2003. Potencialidades regionais de Viabilidade Econômica – Guaraná, Sumário Executivo, Manaus: Am, *Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio*.

Thornley, J.H.M. 1998. Dynamic model of leaf photosynthesis with acclimation to light and nitrogen. *Annals of Botany*, 81:421-430.

Verpoorte, R.; Memelink, J. 2002. Engineering secondary metabolite in plants. *Cur. Opinion in Biotech.*, 13:181-187.

Verpoorte, R.; Van Der Heijden, R.; Memelink, J. 2000. Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production. *Transgenic Res.*, 9: 323-343.

Warwick, N.W.M.; Thukent 2006. Water relations of phyllodinous and non-phyllodinous Acacias, with particular reference to osmotic adjustment. *Physiologia Plantarum*, 127: 393–403.

## **CAPÍTULO I**

André, E.M.; Cruz, M. C.P., Ferreira, M. E.; Palma, L. A. S. 2003. Frações de zinco em solo arenoso e suas relações com disponibilidade para. *Revista Brasileira Ciência Solo*, 27: 451-459.

Chepote, R.E.; Santana, M.B.M.; Sacramento, C.K. 1984. Sintomas de deficiências minerais em guaraná. *Revista Theobroma*, 14(4): 305-312.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2 ed. 2006. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Rio de Janeiro, Embrapa/CNPS. 306pp.

Epstein, E.; Bloom, A. *Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas*. Londrina, Editora Planta. 2006.

Falcão, N.P. de; Silva, J.R.A. da; 2004. Características de adsorção de fósforo em alguns solos da Amazônia central; *Acta Amazonica*, 34(03): 357-342.

FAO/UNESCO. 1988. *Soil map of the world: revised legend*. World Soil Resources Report 60. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 119pp.

Figueroa, S.N; Nobre, C.A. 1990. Precipitations Distribution Over Central and Western Tropical South America. *Climanálise*, 5 (6): 36-45.

Jorge, J.A. 1986. *Física e manejo de solos tropicais*. Edição 1986. Campinas. *Instituto Campineiro de Ensino Agrícola*. 328p.

- Kobayashi, E.S.; Saka, E.I.; Silva, E.A.; Arruda, F. B.; Silveira, J.M.C.; Souza, P.S.; Pires, R.C. .M. 2008. Variação sazonal do potencial da água nas folhas de cafeeiro em mococa, SP. *Bragantia*, 67: (2)421-428.
- Kochian, L.V.; Hoekenga, O.A.; Piñeros, M.A. 2004. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 55: 459–493.
- Kousky, V.E.; Kagano, M.T. 1981. A climatological study of the tropospheric circulation over the Amazon region. *Acta Amazonica*, 11(4): 743 – 758.
- Lehmann, J.; Cravo, M. S.; Macedo, J. L.V.; Moreira, A.; Schroth, G. 2001. Phosphorus management for perennial crops in central Amazonian upland soils. *Plant and Soil*, 237(2): 309-319.
- Liu, Q.; Yang, J.L.; HE, J.L.S.; Li, Y.Y.; Zheng, S.J. 2008. Effect of aluminum on cell wall, plasma membrane, antioxidants and root elongation in triticale. *Biologia Plantarum*, 52(1): 87-92.
- Lopes, A.S.; Guilherme, L.R.G. *Boletim Técnico 02: Interpretação de Análise do Solo: Conceitos e Aplicações*. ANDA – Associação Nacional para Difusão de Adubos, São Paulo, julho de 1992.
- Luizão, F.J.; Luizão, R.C.C. 1997. *Matéria orgânica do solo em Roraima*. P366-379. In: Barbosa, R., Ferreira, E.I.G., Castellon, E.G. (eds). 1997. Homem, Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima. INPA.
- Malavolta, E. *Manual de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 631p.
- Malavolta, E. *Manual de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 631p.
- Malavolta, E.; Favarin, J.L.; Malavolta, M.; Cabral, C.P.; Heinrichs, R.; Silveira, J.S.M. 2002. Repartição dos nutrientes nos ramos, folhas e flores do cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(7): 1017-1022.
- Malavolta, E.; Violante Neto, A. *Nutrição mineral, calagem, gessagem e adubação dos citrus*. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, 1989. 153p.
- Marschner, H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. 2 ed. New York, Academy Press. 889p.
- Mazzafera, P.; Yamaoka-Yano, D.M. ; Vitória, A.P. 1996. Para que serve a cafeína em plantas? *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 8(1): 67-74.
- Murphy, J.; Riley, J.P. 1965. A modified single solution method for estimation of phosphate in natural matters. *Anal Chemistry Acta*, 27:3-36.
- Nascimento Filho, F.J.; Atroch, A.L.; Cruz, C.D.; Carneiro, P.C.S. 2009. Repetibilidade da produção de sementes em clones de guaraná. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 44: (6).

- Neves, E.J.M.; Reissmann, C.B.; Ferreira, C.A.; Bellote, A.F.J.; Dünisch, O. 1999. Nutritional status of *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn, and *Virola surinamensis* (Rol.) Warb. growing on poor soils in the Brazilian Amazon Region. *BFH Mitteilungen*. 193: 71-78.
- Nogueira, F.D.; Silva, E.B.; Guimarães, P.T.G. *Adubação Potássica do Cafeeiro*: sulfato de potássio. Washington: SOPID, 2001. 81p.
- Paiva, R. ; Oliveira, Leonardo, M. 2006. Fisiologia da produção Vegetal. Ed. II. Editora UFLA. Universidade Federal de Lavras,104p.
- Peixoto, P.H.P; Cambraia, J. 2009. Composição de ácidos graxos em raízes de sorgo sob estresse de alumínio. *Bragantia*, Campinas, 68(1): 29-33.
- Pires, A.A.; Monnerat, P. H.; Marciano, C.R.; Pinho, L.G. R.; Zampirolli, P.D. Rosa, R.C.C.; Muniz, R.A. 2008. Efeito da adubação alternativa do maracujazeiro amarelo nas características químicas e físicas do solo. *Revista Brasileira Ciências Solo*, 32:1997-2005.
- Pozza, A.A.A.; Guimarães, P.T.G.; Romaniello, M.M.; Pozza, E.A.; Carvalho, J. G.E. 2002. Suprimento de fósforo na produção e intensidade da cercosporiose de mudas de cafeeiro em tubetes. *Ciências Agrotécnica*, Lavras. 26(5): 970-976.
- Ribeiro, C.; Madeira, M.; Araújo, M. C. 2002. Decomposition and nutrient release from leaf litter of *Eucalyptus globulus* grown under different water and nutrient regimes. *Forest Ecology and Management*. 171:31-41.
- Rodrigues, J.E.LF.; Lourenço, R.S.; Lucchesi, A.A.; Medrado, M.J.S. 1990. *Efeito de níveis de nitrogênio e fósforo no desenvolvimento de mudas de guaranazeiro (paullinia cupana (Mart) Duck) em condições de viveiro*. Na: ESALQ, Piracicaba, 47 (parte 1): 135-146.
- Salati, E.; Marques, J. *Climatology of the Amazon region. In The Amazon - Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*. Sioli, H. (ed.). Dr. W. Junk Publishers, 763 p. 1984.
- Santos Jr., U.M. 2008. *Fisiologia e indicadores de estresse em arvores: estado nutricional, trocas gasosas e desempenho fotossintético em espécies arbóreas crescendo em ambientes alagados na Amazônia central*. Tese de Doutorado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Manaus-AM. 161pp.
- Santos, C.A.C.; Brito, J.I.B. 2007. Análise dos índices de extremos para o semi-árido do Brasil e suas relações com TSM e IVDN. *Revista brasileira meteorologia*, 22: 3.
- Sarmiento, L.; Bottner, P. 2002. Carbon and nitrogen dynamics in two soils with different fallow times in the high tropical Andes: indications for fertility restoration. *Applied Soil Ecology*, 19:79-89.
- Scholander, P.F.; Hammel, H.T.; Bradstreet, E.D.; Hemmingsen, E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148:39-46.
- Seneviratne, G. 2002. Litter quality and nitrogen release in tropical agriculture: a synthesis, *Biology and Fertility of Soils*, 31 (1): 60-64.
- Silva, C.E.M. da S.; Gonçalves, J.F. de C.; Feldpausch, T.R. 2008. Water-use efficiency of tree species following calcium and phosphorus application on an abandoned pasture, central Amazonia, Brazil. *Environmental and Experimental Botany*, 64: 189–195.

Silva, D.D. da; Chierice, G.O.; Galhiane, M.S., Chaar, J.S.; Mouchrek-Filho, V.E. 2003. Quantificação do linalol no óleo essencial da *Aniba duckei* korstermans utilizando uma nova coluna capilar poly4-md em cromatografia gasosa. *Química Nova*, 26(4): 461-465.

Silva, F. C. 1999. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária. 370 p.

Solomon, D.; Lehmann, J.; Zech, W. 2000. Land use effects on soil organic matter properties of chromic luvisols in semi-arid northern Tanzania: carbon, nitrogen, lignin and carbohydrates. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 78:203-213.

Stratton, L.C.; Goldstein, G. 2001. Carbon uptake, growth and resource-use efficiency in one invasive and six native Hawaiian dry forest tree species. *Tree Physiology*, 22: 1327-1334.

Theodoro V.C.A.; Alvarenga, M.I.N.; Guimarães R.J.; Souza C.A.S. 2003. Alterações químicas em solo submetido a diferentes formas de manejo do cafeeiro. *Revista Brasileira Ciência Solo*, 27: 6.

Tolosa, F.J.X.; Vester, H. F. M.; Marcial, N.R. ; Albores, J.C.; Lawrence, D. 2003. Leaf litter decomposition of tree species in three successional phases of tropical dry “secondary forest in Campeche, México. *Forest Ecology and Management*. 174:401-412.

Turner, N.C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 58:339-366.

Uvo, C.R.B. e Nobre, C.A., 1989: A Zona de Convergência Intertropical (ZCIT) e a precipitação no norte do Nordeste do Brasil. *Parte I: A Posição da ZCIT no Atlântico Equatorial*. *Climanalise*, 4(7): 34 – 40.

Zanão Júnior L.A.; Coelho, P.H.M.; Fontes, R. L.F.; Ávila, V.T.; Kawamura, I.K. 2009. Severidade da mancha-marrom em trigo cultivado com diferentes formas de nitrogênio e doses de manganês. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33:1199-1206.

## **CAPÍTULO II**

Amaral, J. A.T.; Rena, A.B.; Amaral, J.F.T. 2008. Crescimento vegetativo sazonal do cafeeiro e sua relação com fotoperíodo, frutificação, resistência estomática e fotossíntese. *Bragantia*, 67(2): 421-428.

Barber, J. 2009. Photosynthetic energy conversion: natural and artificial. *Chem. Soc. Rev.*, 38:185–196.

Brodribb, T.J.; Holbrook, N.M. 2003. Stomatal Closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology*, 132: 2166-2173.

Cordeiro, E.M; Pinheiro, A.H.; Santos Filho, B.G. 2009. Physiological and morphological responses of young mahogany (*Swietenia macrophylla* King) plants to drought Yvens. *Forest Ecology and Management*, 258 (2009): 1449–1455.

- Costa, G. F.; Marenco, R.A. 2007. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amazonica*, 37(2) : 229 – 234
- Ferreira M.J., Gonçalves, J.F. de C. Ferraz, J.B.S. 2009. Photosynthetic parameters of young Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H. B.) plants subjected to fertilization in a degraded area in Central Amazonia. *Photosynthetica* 47(4): 616-620.
- Gallardo, L. H.; Jiménez, M. E. 2002. Anatomía foliar de *Pilocarpus oudotianus* tul. (Rutaceae). *Caldasia*, 24(2): 269-275.
- Gomes, I.A.C.; Castroi, E.M.; Soares, A.M.; Alves, J.D.; Alvarenga, M.I.; Alves, E.; Barbosa, J.P.R.A.; Fries, D.F. 2008. Alterações morfofisiológicas em folhas de *coffea arabica* l. cv. “oeiras” sob influência do sombreamento por *Acacia mangium* willd. *Ciência Rural* 38:1.
- Gonçalves, J.F. de C.; Santos-Junior, U. M. dos; Silva, J.F. da; Arruda, M.R. de; Bonates, L.C. de; Fernandes, A.V. 2006. Physiological and anatomical characteristics of leaves of two clones of guaraná. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(3): 393-398.
- Kozlowski, T.T., Kramer, P.J.; Pallardy, S.G. 1991. *The Physiological Ecology of Woody Plants*. Academic Press, San Diego, 657p.
- Lawlor, D.W. 2009. Musings about the effects of environment on photosynthesis. *Annals of Botany* 103: 543–549.
- Lima Jr, E.C.L.; Alvarenga, A.A.; Castro, E.M.; Vieira, C.V.; Barbosa, J.P.R.A.D. 2006. Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Revista Árvore*, 30(1): 33-41.
- Lima, W.P; Carnevali-Jr, L.C.; Eder, R.; Rosa, L.F.B.P.; Bacchil, E.M.; Seelaender, M.C.L. 2005. Lipid metabolism in trained rats: Effect of guarana (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation. *Clinical Nutrition*, 24: 1019-1028.
- Nascimento-Filho, F.J.; CRUZ, C.D.; Garcia, T.B. 1992. Divergência genética em plantas jovens de guaranazeiro e possibilidades de melhoramento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 27(12): 1571-1577.
- Oliveira, A. D.; Fernandes, E.J.; Rodrigues, T. de J.D. 2005. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em feijão. *Engenharia Agrícola*, 25(1): 86-95.
- Prado, C.H.B.A. 2004. Seasonal leaf gas Exchange and water potential in a woody cerrado species community. *Brzilian Journal Plant Physiology*, 16(1): 7-16.
- Rezende, A.A.; Ranga, N.T.; Pereira, R.A.S. 2007. Lianas de uma floresta estacional semidecidual, Município de Paulo de Faria, Norte do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(3): 451-461.
- Rezende, A.A.; Ranga, N.T.; Pereira, R.A.S. 2007. Lianas de uma floresta estacional semidecidual, Município de Paulo de Faria, Norte do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(3): 451-461.
- Roeser, K.R. 1962. Die Nadel der Schwaerzkiefer Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. *Mikrokosmos*, 61: 33-36.



Santos Jr., U.M. 2008. *Fisiologia e indicadores de estresse em arvores: estado nutricional, trocas gasosas e desempenho fotossintetico em especies arboreas crescendo em ambientes alagados na Amazonia central*. Tese de Doutorado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia – INPA. Manaus-AM. 161pp.

Schnitzer ,S.A, Bongers, F. 2002. The ecology of lianas and their role in forests. *Trends in Ecology and Evolution*, 17: 223-230.

Silva, C.E.M. da S.; Gonçalves, J.F. de C.; Feldpauschb, T.R. 2008. Water-use efficiency of tree species following calcium and phosphorus application on an abandoned pasture, central Amazonia, Brazil. *Environmental and Experimental Botany*, 64: 189–195.

Silva, L.M.; Alquini, Y.; Cavallet, V.J. 2005. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. *Acta botônica brasileira*. 19(1): 183-194.

Silva, L.M.; Alquini, Y.; Cavallet, V.J. 2005. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. *Acta botônica brasileira*. 19(1): 183-194.

Suframa – Superintendência da Zona Franca de Manaus- 2006. Potencialidades regionais de Viabilidade Econômica – Guaraná, SUMÁRIO Executivo, Manaus: Am, *Ministério do Desenvolvimento Indústria e comércio Exterior*, 14p. Disponível em: <http://www.suframa.com.br>. Acessado em: 16.03.2006.

Voltan, R.B.Q; Fahl, J.I.; Carelli, M.L.C. 1992. Variação na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal* 4(2): 99-105.

Wilson, D., Jones, J.G. 1982. Effect of selection for dark respiration rate of mature leaves on crop yields of *Lolium perenne* cv. 523. *Annal Botany*, 49:313-20.

### **CAPÍTULO III**

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 52:257-262.

Chen, L.; Cheng, L. 2009. Photosystem 2 is more tolerant to high temperature in apple (*Malus domestica* Borkh.) leaves than in fruit peel. *Photosynthetica*, 47 (1): 112-120.

Chow, W.S.; Melis A.; Anderson, J.M. 1990. Adjustments of photosystem stoichiometry in chloroplasts improve the quantum efficiency of photosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 7502–7506.

Contran, N., Paoletti, E., Manning, W.J., Tagliaferro, F. 2009. Ozone sensitivity and thylenediurea protection in ash trees assessed by JIP chlorophyll a fluorescence transient analysis, *Photosynthetica* 47: 68-78.

Demmig-Adams, B. 1990. Carotenoids and photoprotection: A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta*, 1020:1-24.

Demmig-Adams, B.; Adams, W.W.; Baker, D.H.; Logan, B.A.; Bowling, D.R.; Verhoeven, A.S. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum*, 98:253-264.

Demmig-Adams, B.; Winter, K.; Kriger, A.; Czygan, F.C. 1987. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiology*, 84:218-224.

Ferreira, M.J., Gonçalves, J.F. de C. Ferraz, J.B.S. 2009. Photosynthetic parameters of young Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H. B.) plants subjected to fertilization in a degraded area in Central Amazonia. *Photosynthetica* 47(4): 616-620.

Gilmore, A.M. 1997. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiologia Plantarum*, 99:197-209.

Gonçalves, J.F. de C.; Santos-Junior, U. M. dos; Silva, J.F. da; Arruda, M.R. de; Bonates, L.C. de; Fernandes, A.V. 2006. Physiological and anatomical characteristics of leaves of two clones of guaraná. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41(3): 393-398.

Gonçalves, J.F.C., Santos Júnior, U.M. 2005: Utilization of the chlorophyll a fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 17: 307-313.

Gonçalves, J.F.C.; Santos Jr., U.M.; Nina Jr., A.R.; Chevreuil, L.R. 2007. Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown under two irradiance environments. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 19(3): 171-184.

Hendry, G.A.F., Price, A.H.: Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. – In: Hendry, G.A.F., Grime, J.P. (ed.): *Methods in Comparative Plant Ecology*. Pp. 148-152. Chapman & Hall, London 1993.

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

Jones, B.L.; Porter, J.W. 1986. Biosynthesis of carotenes in higher plants. *CRC. Critical Review of Plant Science*, 3:295-324.

Kitao, M.; Lei, T.T.; Koike, T.; Tobita, H.; Maruyama, Y.; Matsumoto, Y.; Ang, L. 2000. Temperature response and photoinhibition investigated by chlorophyll fluorescence measurements for four distinct species of dipterocarp trees. *Plant Physiology*, 109:284-290.

Krause, G.H.; Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42: 313-349.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigment of photosynthetic biomembranes. In: S.P. Colowick & N.O. Kaplan (eds.). *Methods in enzymology*, v. 148, Academic Press, New York, pp. 350-382.

Marshall, J.G.; Dumbroff, Erwin B. 1999. Turgor Regulation via Cell Wall Adjustment in White Spruce. *Plant Physiology*, 119: 313–319.

Maxwell, K.; Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(354): 659-668.

Mendes, M.M.; Gazarini, L. C.; Rodrigues, M.L. 2001. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments – effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environmental and Experimental Botany*, 45: 165-178.

Oliveira, J.G.; Alves, P.L.C.A.; Magalhães, A.C. 2002. The effect of chilling on the photosynthetic activity in coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. The protective action of chloroplastid pigments. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 14(2):95-104.

Salati, E.; Marques, J. *Climatology of the Amazon region. In The Amazon - Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin. Sioli, H. (ed.). Dr. W. Junk Publishers, 763 p. 1984*

Sartori, P.H.S. e Loreto, É.L.S. 2009. Medidor de Fluorescência Caseiro. *Química nova na escola*, 31:2.

Scholes, J.D.; Press, M.C.; Zipperlen, S.W. 1997. Differences in light energy utilization and dissipation between dipterocarp rain forest tree seedlings. *Oecologia*, 109:41-48.

Scholes, J.D.; Horton, P. 1993. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence: simultaneous measurements. In: Hendry, G.A.F.; Grime, J.P. (eds.). *Methods in comparative plant ecology*. Chapman and Hall, London, pp. 130-136.

Thomas, D.S.; Turner, D.W. 2001. Banana (*Musa* sp.) leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence in response to soil drought, shading and lamina folding. *Sci. Hort.*, 90:93-108.

#### **CAPITULO IV**

Ashihara, H.; Suzuki, T. 2004. Distribution and biosynthesis of caffeine in plants. *Frontiers in Bioscience*, 9: 1864-1876.

Collin, H.A. 2001. Secondary product formation in plant tissue cultures. *Plant Growth Regul.*, 34:119-134.

Fujimori, N.; Ashihara, H. 1990. Adenine metabolism and the synthesis of purine alkaloids in flowers *Camellia*. *Phytochemistry*, 29: 3513-3516.

Fujimori, N.; Ashihara, H. 1994. Biosynthesis of thebromine and caffeine in developing leaves of *Coffea arabica*. *Phytochemistry*, 36: 1359-1361.

- Kato, M.; Mizuno, K.; Fujimura, T.; Iwama, M.; Irie, M.; Crozier, A.; Ashihara, H. 1999. Purification and characterization of caffeine synthase from tea leaves. *Plant Physiology*, 120: 579-586.
- Klein, T.; Longhini, R.; Bruschi, M.L.; Mello, J.C.P. 2009. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Rev Ciências Farmacêutica Básica Aplicada*, 30(3): 241-248.
- Lima, W.P; Carnevali-Jr, L.C.; Eder, R.; Rosa, L.F.B.P.; Bacchil, E.M.; Seelaender, M.C.L. 2005. Lipid metabolism in trained rats: Effect of guarana (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation. *Clinical Nutrition*, 24: 1019-1028.
- Lin, Y., Wu, S.; Lin, J. 2003. Determination of Tea Polyphenols and Caffeine in Tea Flowers (*Camellia sinensis*) and Their Hydroxyl Radical Scavenging and Nitric Oxide Suppressing Effects. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 51 (4): 975–980.
- Martins, P.M. 2000. *Influência da temperatura e da velocidade do ar de secagem no teor e da composição química do óleo essencial de capim limão (cymbopogon citratus (d.c.) stapf.)*. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG).
- Mazzafera, P.; Wingsle, G.; Olsson, O.; Sandberg, G. 1994. S-adenosyl-l-methionine:theobromine 1-N-methyltransferase, an enzyme catalyzing the synthesis of caffeine in coffee. *Phytochemistry*, 37: 1577-1584.
- Mazzafera, P., Yamaoka-Yano, D. M., Vitória, A. P. 1996. Para que serve a cafeína em plantas? *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 8(1): 67-74.
- Mehr, C.B.; Biswal, R.N.; Collis, J.L. 1996. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Caffeine from Guarana. *The Journal of Supercritical Fluids*, 9: 185-191.
- Reginatto, F.H.; Athayde, M.L.; Gosmann, G.; SchenkeL, E. P. 1999. Methylxanthines accumulation in *Ilex* Species - Caffeine and theobromine in ervamate (*Ilex paraguariensis*) and other *Ilex* Species. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Campinas, 10(6): 443-446,
- Reginatto, F.H.; Athayde, M.L; Gosmann, G.; Schenke, E. 1999. Methylxanthines Accumulation in *Ilex* Species - Caffeine and Theobromine in Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) and Other *Ilex* Species. *Journal Brazilian Chemica Society*, 10(6): 443-446.
- Senanayake, U.M.; Wijesekera, R.O.B. 1971. Theobromine and caffeine content of the cocoa bean during its growth. *Journal Science Food Agriculture*, 22: 262-263.
- Silva, J.A. da; REIS, R.P. Custos de rodução do café na região de lavras – mg: estudo de casos. 2001 *Ciências agrotecnica*, 25(6): 1287-1294.
- Silvarolla, M.B.; Mazzafera, P.; Lima, M.M.A. 2000. Caffeine content of Ethiopian *Coffea arabica* beans. *Genetics and Molecular Biology*, 23(1): 213-215.
- Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosman, G.; De Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. 1999. *Farmacognosia- da planta ao medicamento*. Florianópolis: UFSC. 821p.

Strain, E.C.; Griffiths, R.R. 2000. Caffeine related disorders. In: Sadock, B.J.; Sadock, V.A. Kaplan & Sadock's *Comprehensive Textbook of Psychiatry - Baltimore*, Lippincott, 7th., p. 982-90.

Suframa – Superintendência da Zona Franca de Manaus, 2003. Potencialidades regionais de Viabilidade Econômica – Guararná, SUMÁRIO Executivo, Manaus: Am, *Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio*.

Velloso, M.A.L.; Abreu, I.N.; Paulo Mazzafera, P. 2009. Indução de metabólitos secundários em plântulas de *Hypericum brasiliense* Choisy crescendo *in vitro*. *Acta Amazonica*, 39(2): 267 – 272.

Verpoorte, R.; Memelink, J. 2002. Engineering secondary metabolite in plants. *Cur. Opinion in Biotech.*, 13: 181-187.

Verpoorte, R.; Collin, A.; Memelink, J., 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Biochem. Rev.*, 1: 13-25.

Weckerle, C.S.; Stutz, M.A.; Baumann, T.W. 2003: Purine alkaloids in *Paullinia*. *Phytochemistry*, 64:735–742.

Zheng, X.; Koyama, Y.; Nagai, C.; Ashihara, H. 2004. Biosynthesis, accumulation and degradation of theobromine in developing *Theobroma cacao* fruits. *Journal of Plant Physiology*, 161(4): 363-369.