

EFEITO DE BAIIXAS TEMPERATURAS SOBRE
TECIDOS VEGETAIS (REVISÃO)

JOÃO BATISTA TEIXEIRA
FISIOLOGIA VEGETAL

EMBRAPA

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO

EFEITO DE BAIXAS TEMPERATURAS SOBRE TECIDOS VEGETAIS
(REVISÃO)

JOÃO BATISTA TEIXEIRA
FISIOLOGIA VEGETAL

CONTEÚDO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. EFEITO DE BAIXAS TEMPERATURAS EM TECIDOS VEGETAIS	2
2.1. Efeito do resfriamento	2
2.2. Efeito do congelamento	5
2.2.1. Medição da tolerância ao congelamento	7
2.2.2. Mudanças na tolerância ao congelamento	7
2.2.3. Fatores ambientais	7
2.2.4. Relação entre a tolerância ao congelamento e o <u>cre</u> <u>sc</u> imento e desenvolvimento das plantas	8
2.2.5. Prevenção à desidratação	9
2.2.6. Fatores relacionados à tolerância ao congelamento	10
2.2.7. Mecanismos de aclimação	11
3. ALGUNS ASPECTOS SOBRE O EFEITO DE GEADAS NA CULTURA DO TRIGO	13
4. COMENTÁRIOS SOBRE O ESTUDO DOS EFEITOS DE GEADAS NA CULTURA DO <u>TRI</u> <u>GO</u>	16
5. ESTUDO DE TOLERÂNCIA À GEADA EM CONDIÇÕES DE CAMPO	20
6. ESTUDO DE TOLERÂNCIA À GEADA EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO	22
7. LITERATURA CITADA	24

INTRODUÇÃO

Iniciou-se, em 1979 no CNPT, o estudo dos efeitos de baixas temperaturas sobre a planta de trigo, cevada e triticale.

Este estudo teve como objetivo inicial o ajuste de uma metodologia que pudesse ser utilizada na seleção, em condições de laboratório, de cultivares ou linhagens mais tolerantes à geada.

Para o ajuste desta metodologia, necessitou-se, primeiramente, fazer um levantamento minucioso, sobre o assunto, da literatura disponível, tendo como intuito, não só a procura de parâmetros e procedimentos como também a busca dos fundamentos básicos envolvidos nos efeitos de baixas temperaturas sobre tecidos vegetais.

Durante a revisão, deparou-se com extensa informação abordando vários aspectos, desde o comportamento a nível subcelular até a influência de fatores ambientais (clima e solo) sobre o grau de dano causado por baixas temperaturas.

Devido à complexidade do problema, encontrou-se, à primeira vista, grande dificuldade para elaborar as informações existentes, uma vez que em cada situação a espécie ou cultivar estudada apresentava comportamentos diferentes.

Desta forma, procurou ater-se mais às revisões, abordando os diversos aspectos do congelamento tissular. Dentre as revisões consultadas, procurou-se analisar minuciosamente a de LEVITT (1972), donde se extraíram algumas informações consideradas de maior relevância no estudo dos efeitos de baixas temperaturas sobre tecidos vegetais.

Procurou-se também analisar as informações sobre os efeitos de geadas em plantas de trigo, especialmente aquelas obtidas por pesquisadores australianos, onde também se cultiva o trigo de primavera e as condições sob as quais há a incidência de geadas são semelhantes às das regiões tritícolas brasileiras.

A presente revisão tem como objetivos fornecer algumas informações sobre os aspectos básicos envolvidos nos danos de baixas temperaturas, especialmente em trigo. Estas informações são importantes para o estudo dos efeitos de geadas tanto em laboratório como em condições de campo, fornecendo subsídios para o ajuste de uma metodologia que vise a seleção das plantas com maior grau de tolerância à geada.

EFEITO DE BAIXAS TEMPERATURAS EM TECIDOS VEGETAIS

As plantas não possuem qualquer sistema específico para regulação da temperatura. Durante o dia, com a irradiação solar direta os órgãos vegetais atingem temperaturas superiores às do ar circundante. À noite, ocorre o inverso, devido à perda de calor ser elevada a temperatura da planta é sempre menor que a do ambiente e dependendo da presença de massas de ar frio e condições atmosféricas propícias, ocorre o fenômeno da formação de geadas.

Efeito de baixas temperaturas sobre tecidos vegetais

O efeito de baixas temperaturas sobre tecidos vegetais pode ser dividido em dois tipos: aquelas devido à temperaturas acima do ponto de congelamento do tecido e aquelas que causam o congelamento do mesmo. O ponto de congelamento dos tecidos, mais propriamente do protoplasma varia segundo uma série de fatores tais como: nível de aclimação do tecido, conteúdo hídrico e conteúdo osmótico. Estes fatores estão interrelacionados e muitas vezes um é consequência do outro.

Para maior simplicidade temperaturas acima do ponto de congelamento serão denominadas de resfriamento e as abaixo, de congelamento.

EFEITO DO RESFRIAMENTO

Na maioria dos casos, as plantas não são afetadas antes que a temperatura decresça abaixo de 10°C. O arroz em floração e a cana-de-açúcar que são injuriadas por temperaturas de 15°C (ADIR, 1968; TSUNODA et alii, 1968) são alguns exemplos de plantas afetadas por temperaturas favoráveis a outras espécies.

Embora a injúria do resfriamento seja observada primeiramente em plantas de climas tropical ou subtropical, certas células de plantas de climas temperados podem ser afetadas. À temperatura foliar de 0° a 3°C, ocorre a esterilidade em trigo, quando o pólen se encontra no estágio da primeira divisão nuclear (TODA, 1962).

Segundo SEIBLE (1939) as plantas afetadas pelo resfriamento podem ser divididas em dois grupos de acordo com a rapidez com que aparecem os sintomas de danos: algumas apresentam injúria após horas enquanto em outras os sintomas só aparecem dias depois do resfriamento. Esta diferença no comportamento das espécies está associada a mecanismos de respostas diferentes das diferentes espécies e diferentes órgãos vegetais. O primeiro está ligado a efeitos

diretos do resfriamento sobre as membranas celulares, especificamente segundo LYONS & ASMUNDSON (1965) solidificação dos lipídios da membrana plasmática. As espécies que apresentam sintomas a longo prazo são consideradas mais tolerantes ao resfriamento e podem ser afetadas por uma ou mais das seguintes alterações causadas pelas baixas temperaturas: inanição, degradação de proteínas, alteração na taxa respiratória, acúmulo de toxinas e lesões bioquímicas.

Inanição

É conhecido o fato de que a fotossíntese possui uma energia de ativação muito elevada em baixas temperaturas e desta forma a fixação de CO₂ decresce mais rapidamente que a liberação, através da respiração. Como resultado as plantas sensíveis ao resfriamento podem estar abaixo do ponto de compensação, neste caso a degradação dos carboidratos será mais rápida que a síntese. Se esta situação permanece por tempo suficientemente longo é concebível que a inanição ocorra, se não em toda a planta, pelo menos em órgãos isolados. A inanição de partes não verdes da planta pode resultar da inibição da translocação por temperaturas baixas (GEIGER, 1969). No caso da gramínea tropical *Dicgitararia decumbens*, o amido formado e acumulado durante o dia permanece nas folhas quando exposto à temperatura de 10°C (HILLIARD & WEST, 1970).

Degradação de proteínas

A degradação de proteínas em baixas temperaturas sem uma igual ressinte se tem sido sugerida como causa de injúria, tanto pela deficiência de proteínas quanto pela toxidez dos produtos de hidrólise: amino ácidos e NH₃.

Alteração na taxa respiratória

Tem sido observado que, inicialmente, a taxa respiratória aumenta (EAK & MORRIS, 1956; LEWIS & MORRIS, 1956; IBANES, 1964), tendo sido explicado como um aumento da permeabilidade das membranas (LYONS & RAISON, 1970), permitindo um maior contato entre enzimas e substrato e, posteriormente, ocorre uma redução sensível na respiração, coincidindo, segundo LEVITT (1972) com a morte da célula.

Acúmulo de toxinas

A injúria devido à presença de toxinas deve-se a maiores taxas de acúmulo que a taxa de dispersão.

Baixas temperaturas tem um efeito inibidor maior na parte aeróbica da respiração, chegando a duas vezes a redução na respiração anaeróbica. Já há muito tempo sabe-se que a respiração anaeróbica pode matar a maioria das plantas superiores dentro de 24 a 48 horas à temperatura normal. Em baixas temperaturas, este tempo deve ser maior, entretanto segundo LEVITT (1972) é possível que o aumento inicial da taxa respiratória se deva principalmente a um aumento na respiração anaeróbica, conduzindo a um acúmulo de produtos tóxicos e desta forma ocorrendo a injúria da célula.

Outros produtos tóxicos podem evidentemente se acumular, por exemplo, a formação de fotoperoxidos foi constatada em folhas de abóbora em presença de luz e à temperatura próxima de 0°C (KISLYUK, 1964).

Lesões bioquímicas

Lesão bioquímica é uma anormalidade no metabolismo conduzindo a uma deficiência de um metabólito essencial intermediário. Foi sugerido por KETELLAPER & BONNER (1961) que a injúria em plantas superiores é também devido a lesões bioquímicas. PODIN (1966) demonstrou que uma reação específica (transformação de luteína em violaxantina) não ocorre abaixo de 10°C em banana sensível ao resfriamento, enquanto que, em plantas resistentes, esta reação continua até temperaturas abaixo de 0°C. Similarmente, plantas de tabaco em baixas temperaturas exibem sintomas de deficiência de nitrogênio havendo aumento de cinco a seis vezes no nível de ácido clorogênico, e um aumento menor em outras substâncias (KOEPE et alii, 1970). Segundo LEVITT (1972) baixas temperaturas mudam o metabolismo da planta para uma rota anormal, conduzindo à deficiência de algum intermediário do metabolismo do nitrogênio.

OUTROS EFEITOS DO RESFRIAMENTO

A desidratação pode ser observada em condições de baixa temperatura. A cana-de-açúcar começa a apresentar sintomas de murchamento quando a temperatura do sistema radicular cai a 15°C. Uma possível explicação que tem sido sugerida é a mudança na permeabilidade das membranas. A desidratação da planta pode ser uma decorrência da diminuição da absorção ou a um aumento na perda de água. Nos casos em que apenas as raízes eram resfriadas, diminuiria a permeabilidade das células das mesmas, sem nenhuma alteração na permeabilidade

de das células das folhas. Desta forma havendo uma redução na absorção da água pelas células das raízes, enquanto que a perda pelas folhas permanecia inalterada. Analogamente, quando toda a planta foi submetida a baixas temperaturas e as folhas murchavam, pode ser explicado por uma maior redução na permeabilidade das células das raízes em comparação com a das folhas (LEVITT, 1972).

EFEITO DO CONGELAMENTO

Se a temperatura do ambiente cai abaixo do ponto de congelamento do tecido, pode ocorrer a cristalização da água das células e dos espaços intercelulares. Na maioria dos casos a formação de gelo intracelular causa dano irreversível levando à morte da célula. Esta morte é provavelmente devida à formação de grandes cristais de gelo que rupturam o sistema membranar (OLIEN et alii, 1968).

A formação de gelo intercelular ou intracelular vai depender da velocidade de resfriamento. Quando o resfriamento é rápido, segundo LEVITT (1972) de 5 a 20°C/h, considerando a planta toda, ocorre a formação de gelo intracelular, o que causa imediatamente a morte da célula. Por outro lado, se a velocidade de resfriamento é baixa, 1 a 2°C/h, ou menos, ocorrerá a formação de gelo intercelular. Neste caso a injúria poderá ser devida à desidratação celular pela retirada de água da célula durante o crescimento dos cristais de gelo intercelulares. Desta forma a tolerância ao congelamento se assemelha à tolerância à seca, isto é, o tecido que tolera um abaixamento no seu conteúdo hídrico sem sofrer dano irreversível, também vai tolerar, de certa forma, o congelamento intercelular.

A formação de gelo intercelular se explica pelo fato de que o gelo se forma primeiramente em grandes vasos (ASAHINA, 1956). O congelamento processando-se ao longo dos vasos a partir de alguns pontos de nucleação e alcançando todas as partes do caule a uma velocidade relativamente elevada (em torno de 34 cm/mín/°C). O congelamento primeiro nos vasos é esperado porque seu grande diâmetro não favorece o sub-resfriamento (redução da temperatura abaixo do ponto de congelamento, sem ocorrer a formação de cristais de gelo) e a seiva apresenta baixas concentrações de solutos e um ponto de congelamento mais alto em comparação com o suco celular. Desta forma há o crescimento dos cristais de gelo, inicialmente nos vasos e depois se propagam para os espaços intercelulares e, pelo abaixamento na concentração do vapor de água devido à cristalização, ocorre a retirada de água da célula, causando simultaneamente desidratação e uma pressão mecânica sobre a célula. Com a desidratação da célula ocorre uma elevação da pressão osmótica e uma conseqüente diminuição na pressão de vapor de água intracelular até se igualar à pressão de va

por intercelular, entrando em equilíbrio. Assim, quanto maior a concentração do suco celular mais rápido será atingido este equilíbrio e menor será a desidratação celular e maior será a tolerância do tecido ao congelamento.

Uma outra maneira pela qual o tecido pode não ser afetado por temperaturas abaixo do ponto de congelamento é através do sub-resfriamento. Acredita-se que o ponto de sub-resfriamento é devido ao baixo conteúdo hídrico (20 a 30%) e o pequeno tamanho de células de certos tecidos (LEVITT, 1972). Entretanto, em condições de campo o sub-resfriamento é raro, a não ser em alguns casos especiais, especialmente naqueles tecidos que apresentam células pequenas e pequenos espaços intercelulares. Segundo SINGLE (1968) a tolerância de espigas de trigo à geada se deve exclusivamente ao sub-resfriamento, uma vez que não toleram a mínima formação de gelo interno. Entretanto, segundo LEVITT (1972) o sub-resfriamento pode ser mais danoso que a formação gradual de gelo intercelular, uma vez que a formação de gelo no estado de sub-resfriamento será sempre intracelular e, portanto, letal.

Há basicamente quatro fases em que pode ocorrer a injúria do tecido devido ao congelamento: no momento do congelamento, durante o período de congelamento, no descongelamento e após o descongelamento.

A injúria no congelamento se deve principalmente ao resfriamento rápido do tecido, o que causa a formação de gelo intracelular, que por sua vez é causa da morte do tecido. Entretanto, a injúria no congelamento pode ocorrer quando o resfriamento é lento.

Tem sido observado que a injúria aumenta à medida que prolonga o tempo em que o tecido permanece a determinada temperatura abaixo do ponto de congelamento.

Durante o descongelamento, naqueles casos em que ainda não ocorreu o dano irreversível, a intensidade da injúria vai depender da velocidade de aquecimento. Evidência de que o dano pode ocorrer durante o descongelamento é o fato de que, quando se aumenta a velocidade de descongelamento, tem sido verificado um aumento no dano da planta. YOSHIDA & SAKAI (1968) sugeriram que um fator importante pode ser a taxa de reidratação do tecido. Quando a velocidade de descongelamento é alta ocorre uma fusão rápida do gelo intercelular, havendo uma grande formação de água líquida. Desta forma ocorre um aumento repentino na pressão de vapor da água intercelular, alcançando valores bem maiores que a pressão de vapor da água intracelular, com isso havendo um fluxo muito elevado de água de fora para dentro da célula, causando a ruptura da membrana plasmática e conseqüentemente a morte da célula. No descongelamento lento o fluxo é menor e toda água formada vai sendo reabsorvida pela célula.

Após o descongelamento, dependendo das condições em que se encontra a planta, especialmente quanto à temperatura, o dano poderá progredir, paralisar ou mesmo retroceder, havendo uma certa recuperação do tecido (LEVITT, 1972).

Isto constitui evidência de que o dano poderá, pelo menos em parte, ocorrer após o descongelamento.

MEDIÇÃO DA TOLERÂNCIA AO CONGELAMENTO

A temperatura letal deve ser determinada em condições padronizadas. Para essa padronização, no mínimo seis aspectos devem ser levados em consideração:

- 1) as condições anteriores ao tratamento devem ser padronizadas;
- 2) as plantas devem ser inoculadas para garantir o congelamento;
- 3) a taxa de resfriamento deve ser padronizada;
- 4) o teste deve ser feito num espaço de tempo definido;
- 5) o descongelamento deve ser feito a uma taxa padrão;
- 6) as condições após o descongelamento devem ser as mesmas para todos os testes.

É importante observar o grau de aclimação que as plantas apresentam para o início do teste.

MUDANÇAS NA TOLERÂNCIA AO CONGELAMENTO

Algumas plantas são mortas por geadas fracas ($-1,5^{\circ}\text{C}$), enquanto outras resistem a temperaturas de até -40°C . Dentro destes extremos há uma gama de plantas apresentando os mais diversos graus de tolerância. Embora a temperatura letal, mesmo que determinada em condições estandarizadas, não seja uma constante, mesmo para uma linha geneticamente pura, porém varia acentuadamente e vários fatores ambientais podem alterar a resistência. A variação no nível de tolerância é determinada pela aclimação apresentada pelo tecido no momento do teste. O grau de aclimação em geral varia com as condições ambientais, exceto para algumas plantas, onde ela apresenta um valor mais ou menos estável independentemente das condições do meio (LARCHER, 1954).

FATORES AMBIENTAIS

Durante o inverno ocorre um decréscimo na tolerância ao congelamento, quando as plantas são expostas a condições mais quentes por um período de duas semanas ou menos (PISEK, 1950) e um aumento na tolerância quando são expostas a baixas temperaturas (LEVITT, 1972). Tem sido feita atualmente a aclimação de plantas submetendo-as por uma a duas semanas a temperaturas alguns graus acima do ponto de congelamento. O intervalo de temperatura em que ocor

re aclimação situa-se, aproximadamente, entre 0 a 10°C. A temperatura exata, bem como o tempo mínimo que permitem uma máxima aclimação, não são conhecidos e provavelmente varia com a espécies e mesmo com a variedade ou cultivar. Entretanto algumas espécies apresentam um certo grau de aclimação acima de 10°C. É sabido que quanto menor a temperatura, maior é o nível de aclimação, considerando o mesmo tempo de exposição. Assim no intervalo de 0 a 5°C ocorre uma maior aclimação do que no intervalo de 5 a 10°C.

Apenas a baixa temperatura é incapaz de induzir a aclimação, pelo menos para o caso das plantas anuais de inverno. A aclimação só ocorre se houver suprimento adequado de luz (DEXTER, 1933). Parece que a necessidade de luz para a aclimação está relacionada à fotossíntese uma vez que plantas cloróticas não têm condições de se aclimatarem.

Outros fatores devem estar em nível ótimo para que ocorra a máxima aclimação das plantas expostas a determinada temperatura e luminosidade. Muitos relatos (LEVITT, 1956) inidicam que completa aclimação não é obtida na presença de excesso de nitrogênio ou deficiência de potássio, fósforo ou mesmo cálcio. Por outro lado uma certa deficiência de água induz alguma tolerância ao congelamento.

RELAÇÕES ENTRE A TOLERÂNCIA AO CONGELAMENTO E O CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

Quando as plantas se encontram em rápido crescimento não ocorre aclimação (DEXTER et alii, 1932), enquanto que tratamentos que retardam o crescimento aumentam a aclimação (KESLER & RUHLAND, 1938) embora haja exceções (KUKSA, 1939). Um aumento na tolerância pode freqüentemente ser obtido pela supressão da água às plantas até um grau suficiente para induzir paralização do crescimento. Por outro lado as substâncias promotoras de crescimento algumas vezes causam um decrêscimo na tolerância ao congelamento, enquanto que as substâncias inibidoras aumentam a tolerância, mas há exceções (TUMANOV & TRUNOVA, 1958).

Segundo LEVITT (1972) a aclimação não ocorre em regimes de dias longos e, quando diferentes espécies ou variedades são comparadas, uma correlação direta freqüentemente existe entre o comprimento do fotoperíodo crítico e a tolerância ao congelamento (ex.: variedades de trigo) (RIMPAU, 1958) e uma correlação inversa entre o efeito do crescimento, do fotoperíodo longo e a aclimação (SCHMALZ, 1957).

As evidências seguintes indicam que a tolerância ao congelamento está inversamente correlacionada ao crescimento e desenvolvimento:

- 1) durante o rápido crescimento de primavera as plantas são incapazes de aclimatarem-se;

2) a preparação para o crescimento de primavera é acompanhada por uma perda gradual na tolerância ao congelamento, mesmo em temperaturas de aclimação;

3) a paralização do crescimento no outono é acompanhado por um aumento gradual na tolerância ao congelamento;

4) a taxa de crescimento relativo das plantas anuais de inverno está inversamente relacionada à tolerância ao congelamento;

5) estimulação artificial do crescimento pelo excesso de nitrogênio, por dias longos, pela vernalização ou pelos reguladores de crescimento é acompanhado por uma perda da tolerância ou da capacidade de aclimação. Retardação artificial do crescimento pelo murchamento ou por inibidores é acompanhado por um aumento da tolerância ao congelamento.

PREVENÇÃO À DESIDRATAÇÃO

Há evidências de que a temperatura letal está correlacionada com a percentagem de água da célula que se congelou (WILLIAMS & MERYMAN, 1970). Considerando que a água de constituição não se cristaliza e que a cristalização da água está diretamente ligada à quantidade de solutos é de se esperar que quanto maior for a concentração do suco celular e maior a presença de substâncias hidrófilas, menor será a temperatura letal e evidentemente maior a tolerância da célula e considerando que a percentagem de água congelada equivale à desidratação celular, quanto maior for a concentração do suco celular menor será a desidratação e conseqüentemente o dano. Por outro lado algumas espécies toleram uma condição extrema de desidratação até que ocorra injúria ao protoplasma como é o caso de algumas variedades de trigo duro que toleram uma desidratação celular de 90 a 92 % (LEVITT, 1956).

Algumas conclusões evidentes são obtidas baseando-se no ponto de congelamento do suco celular e na percentagem de água retirada da célula pela formação de gelo intercelular:

1) planta com o ponto de congelamento baixando de 0,5°C (pressão osmótica de -6 atm) será morta por geadas fracas (tº não menor que -1,6°C) exceto se a tolerância à desidratação for maior que 70 %;

2) planta com o ponto de congelamento baixando de 2°C não será afetada por nenhuma temperatura acima de -5,5°C exceto se a sua tolerância à desidratação for menor que 70 %;

3) planta com uma tolerância à desidratação de 80 %, pode aumentar a tolerância de -2,5°C para -20°C, pelo simples decréscimo do ponto de congelamento de 0,5°C para 4,0°C;

4) plantas com uma tolerância de desidratação não acima de 50 %, não apresentam aclimação e não conseguem baixar o ponto de congelamento do suco

celular;

5) a fim de tolerar temperaturas extremamente baixas dos climas frios as plantas desenvolveram uma tolerância à desidratação de até 90 %.

Em todos os casos acima, a tolerância à desidratação é o primeiro fator responsável pela tolerância ao congelamento.

FATORES RELACIONADOS À TOLERÂNCIA AO CONGELAMENTO

Fatores morfológicos e anatômicos

Quando as variedades de uma mesma espécie diferindo na aclimação são comparadas, frequentemente se encontra que a aclimação varia inversamente com as características de tamanho da planta: altura, comprimento da folha, comprimento do internó e especialmente o comprimento das células (LEVITT, 1956).

A nível subcelular algumas mudanças anatômicas têm sido observadas, por exemplo, os cloroplastos frequentemente se acumulam numa região em volta da célula no estado aclimatado em vez de estar uniformemente distribuído em toda a célula como ocorre no estado não aclimatado. De acordo com HEBER (1959a) os cloroplastos de trigo aumentam de tamanho durante a aclimação devido a um acúmulo de açúcares de baixo peso molecular e proteínas solúveis. Deve-se salientar, porém, que, quando existe uma correlação entre a aclimação e mudanças morfológicas e anatômicas, estas modificações são efeitos indiretos de fatores fisiológicos ocorrendo simultaneamente.

Fatores fisiológicos

Infelizmente os diversos fatores envolvidos na tolerância ao congelamento não são conhecidos. Os mais conhecidos se referem ao acúmulo de substâncias específicas em relação à tolerância ao congelamento.

Tem sido observado que, em geral, o aumento na tolerância ao congelamento está relacionado a um aumento na concentração do suco celular. Segundo LEVITT (1956) o aumento na aclimação está altamente correlacionado com a concentração do suco celular. Uma simples medição refratométrica do suco celular pode fornecer uma estreita correlação com a resistência à geada, como foi observado por THOMPSON & TAYLOR (1968). Entretanto para algumas espécies como a cevada, nem sempre se encontra uma correlação entre a tolerância ao congelamento e o aumento na concentração do suco celular. Para o trigo tem sido encontrada alta correlação entre a concentração do suco celular e a tolerân

cia ao congelamento.

A concentração do suco celular joga um papel importante na tolerância ao congelamento, porém, por si só não explica o aumento na tolerância ao congelamento que acompanha um aumento na concentração do suco celular.

Segundo LEVITT (1956) o aumento na concentração do suco celular se deve principalmente a um aumento no nível de açúcares. Entretanto parece que nem sempre o nível de açúcar está correlacionado à aclimação. Para algumas plantas (SAKAI, 1961) nenhum tratamento que aumenta o conteúdo de açúcar aumenta a aclimação e nenhum tratamento que diminui o nível de açúcar diminui a aclimação. Entretanto, os muitos relatos sobre uma correlação entre a concentração de açúcar e a tolerância ao congelamento contituem uma forte indicação de que os açúcares jogam algum papel no mecanismo da tolerância.

Os açúcares podem aumentar a tolerância ao congelamento de duas maneiras:

1) efeito osmótico: pelo acúmulo no vacúolo, os açúcares decrescem a quantidade de gelo formado e desta forma impedem uma desidratação elevada da célula;

2) efeito metabólico: os açúcares podem ser metabolizados e, em baixas temperaturas, produzirem mudanças protetoras ainda não conhecidas e aumentando a tolerância à desidratação.

O conteúdo hídrico é frequentemente relacionado à aclimação (LEVITT, 1956).

Tem sido há muito tempo relacionado o "amadurecimento" do tecido com a resistência à geada. O "amadurecimento" do tecido é inversamente relacionado ao conteúdo hídrico. Há entretanto exceções. Algumas plantas suculentas com um conteúdo hídrico celular de 90 a 95 %, no entanto, são capazes de desenvolver alto grau de aclimação.

Suspeitou-se já há muito tempo de que apenas a água de constituição era importante. Supõe-se que esta água que não se cristaliza esteja estreitamente ligada aos colóides celulares. Entretanto, parece que não apenas os colóides celulares conseguem impedir a cristalização da água mas também os açúcares e, desta forma a determinação da água ligada da célula pode ser feita simplesmente pela determinação da concentração do suco celular.

Uma estreita relação entre o conteúdo de proteínas solúveis e a tolerância ao congelamento tem sido demonstrado, tanto na aclimação quanto na desaclimação (LI & WEISER, 1967) para algumas espécies. Para outras espécies (SIMINOVITCH et alii, 1968; SAKAI & YOSHIDA, 1968a) um abaixamento da temperatura letal para -30 ou -45°C não estava correlacionado com o teor de proteínas solúveis.

HEBER (1959a) encontrou que o conteúdo de proteínas de cloroplastos aumentavam durante a aclimação em trigo. A razão entre proteínas dos cloroplastos e proteína total era maior nas variedades mais resistentes (SUGIAMA

& SIMURA, 1967a). Entretanto PAULI & MITCHELL (1960) não encontraram aumento no conteúdo de proteínas solúveis em plantas aclimatadas de trigo. Resultados contraditórios foram encontrados por ZECH & PAULI (1960); HARPE & PAULSEN (1967); TOMAN & MITCHELL (1968).

Tem sido encontrado um aumento no nível de várias outras substâncias, como RNA, DNA, lipídeos, nucleotídeos, fosfatos orgânicos ácido-solúveis. Plantas aclimatadas contêm mais fósforo de alta energia, indicando um maior grau de acoplamento entre a oxidação e a fosforilação em baixas temperaturas. Semelhantemente a aplicação de fertilizantes fosfatados aumentam o conteúdo de fósforo de alta energia nos nós dos perfilhos de trigo de inverno e centeio aumentando a tolerância ao congelamento (KOLOSHA & RESHETNIKOVA, 1967).

Correlação positiva entre o conteúdo de lipídeos e aclimação foi relatada por LEVITT (1941). Sabe-se que baixas temperaturas aumentam o grau de insaturação dos ácidos graxos (GERLOFF et alii, 1966), havendo uma elevação especialmente no nível de fosfolipídeos.

Muitas outras substâncias têm sido relatadas como tendo uma correlação positiva com a aclimação: pentosanas, antocianinas, taninos (LEVITT, 1956).

MECANISMO DE ACLIMAÇÃO

O metabolismo deve continuar em baixas temperaturas para que ocorra a aclimação. Mudanças específicas no metabolismo devem ser as responsáveis pela capacidade de aclimação. Além de síntese de proteínas e hidrólise de amido, mudanças no sistema de membranas devem estar relacionadas à aclimação (LEVITT, 1954). Segundo LEVITT (1972), para que ocorra a aclimação é necessário que haja acúmulo de solutos no vacúolo, impedindo uma desidratação acentuada e ocorra mudanças no protoplasma que impeçam as ligações dissulfídricas das proteínas e um aumento da fluidez dos lipídeos das membranas.

Com a redução da temperatura ocorre uma redução na fixação de CO₂, havendo um acúmulo de ATP e NADPH produzidos fotossinteticamente. Devido a esse aumento no poder redutor da célula há o acréscimo no nível de grupos sulfidrilos reduzidos das proteínas e acúmulo de ácido ascórbico que é também substância reduzida. O papel destas substâncias na tolerância ao congelamento está relacionada principalmente à transformação dos grupos dissulfídricos das proteínas em grupos sulfídricos (SH) portanto reduzidos. Os grupos SH estão associados, segundo SPRADLIN (1969), à atividade das enzimas. Os grupos SH parecem estar relacionados à permeabilidade das membranas. O aumento no poder redutor da célula impede a formação de ligações covalentes dissulfídricas que desnaturam as moléculas de proteínas, afetando especialmente o sistema membranar da célula.

ALGUNS ASPECTOS SOBRE O EFEITO DE GEADAS NA CULTURA DO TRIGO

O comportamento da planta de trigo em relação à geada, como resultado de influências ambientais e fatores internos, está relacionado ao estágio de desenvolvimento. A parte vegetativa apresenta um elevado grau de tolerância à geada, enquanto que a fase reprodutiva tem sido considerada a que menos tolera as baixas temperaturas (SINGLE, 1971). As folhas geralmente parecem não ser afetadas por temperaturas acima de -7°C (SINGLE, 1968).

Após a planta de trigo ter produzido 4 a 8 folhas visíveis no primeiro perfilho, cessa a produção de folhas e o ponto de crescimento ou o ápice de cada colmo começa a diferenciar-se em primórdio floral. Isto ocorre enquanto o ápice se encontra ainda abaixo da superfície do solo. Nesta fase os órgãos vegetativos são capazes de desenvolver um alto grau de aclimação, quando submetidos a baixas temperaturas não letais. Em certos países, a planta de trigo nesta fase pode suportar temperaturas de até -18°C , sem a ocorrência de danos. A aclimação das plântulas de trigo pode iniciar já no início da germinação, antes mesmo da emergência do coleoptilo, caso a temperatura do solo se encontre suficientemente baixa. A aclimação nesta fase é importante para a sobrevivência das plântulas em regiões onde é frequente a incidência de geadas no início do desenvolvimento da cultura (SINGLE, 1971).

Segundo LEVITT (1972), a maior tolerância das plantas anuais de inverno neste estágio está relacionada a uma menor taxa de crescimento relativo, o que permite uma maior capacidade de aclimação.

Com o início do alongamento do colmo, a planta de trigo inicia uma fase em que a tolerância à geada diminui gradualmente. Esta redução deve-se principalmente ao rápido crescimento das células da base dos entrenós, as quais apresentam alto conteúdo hídrico, baixa concentração osmótica e, em decorrência, elevado ponto de congelamento (SINGLE & OLIEN, 1967).

O estrangulamento dos entrenós pode levar ao acamamento dos perfilhos, causando sérios prejuízos à produção. De acordo com SINGLE (1975) desde que o acamamento não ocorra, o estrangulamento do colmo tem pequeno efeito na produção de grãos. Muitas culturas já foram observadas nas quais a maioria dos colmos mostravam sintomas típicos de injúria nos entrenós, entretanto, deram produções satisfatórias. Por outro lado, mesmo em colmos onde a rigidez mecânica era mantida e pequena evidência externa de dano era detectada, SINGLE & OLIEN (1967) mostraram que consideráveis danos citológicos poderiam ocorrer. Entretanto não se tem informações em relação aos efeitos destas alterações no subsequente crescimento, translocação de assimilados e nutrientes.

Contanto que o congelamento esteja restrito a órgãos vegetativos, pequenos danos são observados, particularmente nos tecidos das folhas que, com grandes espaços intercelulares, são tolerantes à presença de cristais de gelo (SINGLE, 1968).

À medida que se dá o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos ocorre uma

perda acentuada na tolerância à geada. Esta perda é explicada por LEVITT (1972) como sendo devida ao rápido crescimento das plantas as quais são incapazes de aclimataram-se. Além do mais, nesta fase os colmos e espigas se elevam da superfície do solo para zonas onde temperaturas mais baixas ocorrem e as espigas quando emergem da bainha ficam expostas na parte mais fria do perfil da cultura.

As espigas são muito mais suscetíveis à injúria que as folhas e colmos. De acordo com SINGLE (1968), os órgãos florais são incapazes de tolerar o mínimo grau de formação de gelo interno e depende, para sobrevivência, da capacidade de permanecerem na condição de sub-resfriamento, que corresponde a não formação de gelo mesmo em temperaturas abaixo do ponto de congelamento. Este sub-resfriamento é prontamente alcançado enquanto a espiga se encontra dentro da bainha, uma vez que os nós do colmo e a cutícula interna da bainha agem como barreiras à propagação do gelo que se encontra na superfície da folha.

No estágio de espigamento, contudo, esta proteção é perdida uma vez que as espigas são expostas à inoculação direta pelos cristais de gelo, os quais são abundantes na superfície das folhas e glumas e a resistência da espiga ao congelamento vai ser determinada pela eficiência dos nós do raquis e da raquila em bloquearem a propagação do gelo (SINGLE & MARCELLOS, 1974).

Temperaturas iguais ou menores que -3°C podem ser letais à espiga de trigo na fase de espigamento. A temperaturas de 0°C ou menores ocorre a cristalização do orvalho depositado na superfície da planta. Desde que o gelo se restrinja à superfície externa da planta não ocorre nenhum dano, uma vez que o tecido sub-resfria rapidamente. Entretanto, quando a temperatura cai abaixo de -2°C , começa a cristalização interna em algum ponto ou pontos e o mesmo se propaga ao longo dos elementos vasculares e nos espaços intercelulares (MARCELLOS & SINGLE, 1976). Este processo não é necessariamente danoso ao tecido vegetativo, mas é letal a órgãos reprodutivos. A sobrevivência das partes florais depende, então, do seu isolamento da fase cristalizada dos tecidos vasculares e do gelo da superfície da espiga (SINGLE & MARCELLOS, 1974).

Há pelo menos duas rotas pelas quais o gelo pode alcançar os tecidos reprodutivos: através da epiderme da gluma e através do raquis (SINGLE & FLETCHER, 1979). Há evidências de que a cerosidade (glaucousness) confere sobrevivência à espiga em condições de laboratório, o que está de acordo com as observações feitas a campo (SINGLE & MARCELLOS, 1974). Caso a sobrevivência das espigas seja determinada pela espessura da camada de cera depositada na superfície da cutícula das glumas, a seleção de genótipos com esta característica não apresenta grandes problemas, uma vez que a herança é simples (JENSEN & DRISCOLL, 1962).

A determinação da velocidade de propagação dentro do tecido não é fácil de ser medida e não se tem informações a respeito da herança deste caráter, entretanto é tão importante quanto as características da epiderme no que diz

respeito ao sub-resfriamento e conseqüentemente à sobrevivência da espiga (SINGLE & FLETCHER, 1979).

O grão é danificado pela geada, principalmente, no início da formação, resultando na paralização do desenvolvimento. Quando atinge o estágio de massa, parece haver um aumento da tolerância, mas mesmo nesta fase pode ocorrer danos e resultar em diminuição na qualidade do grão (SINGLE, 1975).

De acordo com SINGLE (1971), não existe atualmente variedade de trigo resistente à geada. Entretanto, tem-se geralmente aceito que há variabilidade genética em relação ao grau de tolerância das diversas cultivares e, desta forma, justifica-se um programa de melhoramento objetivando a obtenção de plantas de trigo mais tolerantes à geada (SINGLE, 1968).

Do ponto de vista fisiológico, o grau de tolerância à geada é devido à aclimação do tecido que, por sua vez, confere à célula certa capacidade para tolerar a formação de gelo intercelular, a desidratação e a contração protoplasmática. Por outro lado, a ausência de danos verifica-se naqueles casos em que ocorre sub-resfriamento. Assim, existe, pelo menos, duas maneiras pelas quais o tecido da planta pode não ser danificado por temperaturas inferiores ao ponto de congelamento (LEVITT, 1972).

A formação de gelo intercelular está condicionada à velocidade de resfriamento baixo, o que normalmente ocorre em condições de campo.

O dano devido à formação de gelo intercelular vai depender, sobretudo, do ponto de congelamento e da capacidade do tecido em tolerar a desidratação. Em geral, a célula, que tolera um elevado grau de desidratação, depende, em menor grau, do ponto de congelamento para sua sobrevivência.

No início do congelamento intercelular o crescimento dos cristais de gelo retira água da célula, causando a desidratação do protoplasma. Neste ponto, caso a concentração do suco celular seja elevada, conseqüentemente, baixo o ponto de congelamento, o equilíbrio entre a força succionadora da água devido ao crescimento dos cristais de gelo e a força retentora pelas substâncias osmóticas do suco celular entram em equilíbrio numa temperatura mais alta, o tecido poderá tolerar temperaturas mais baixas sem sofrer os efeitos da desidratação. Por outro lado, se a concentração do suco celular é baixa, para que sobrevenha o equilíbrio, é necessário ocorrer uma grande desidratação celular, aumentando a concentração osmótica e, se o protoplasma não apresenta tolerância à desidratação, ocorre a morte da célula (LEVITT, 1972).

Portanto, a célula deve apresentar para sobrevivência um alto teor de substâncias osmoticamente ativas e/ou uma elevada tolerância à desidratação. Provavelmente, uma série de mecanismos fisiológicos estão envolvidos em ambos os casos, mas apenas alguns destes são conhecidos.

A fase hidro-solúvel do suco celular é constituída principalmente de proteínas e açúcares. Verificou-se que ocorre um aumento no teor de proteínas e açúcares durante o processo de aclimação. Este aumento sendo maior naquelas plantas consideradas mais tolerantes ao congelamento. O teor de açúcares está estreitamente relacionado à taxa de fotossíntese, à translocação dos assimilados para as partes não verdes e à hidrólise do amido. As baixas temperaturas que propiciam a aclimação inibem a fixação de CO₂, isto é, a produção de açúcares, inibem também a translocação de fotoassimilados, porém, fa

vorecem a hidrólise do amido. Desta forma, a reserva de amido antes do abaixamento da temperatura pode contribuir para um maior grau de aclimação do tecido. A produção de açúcares pela hidrólise do amido, não apenas vai contribuir para o abaixamento do ponto de congelamento do tecido, como também é a fonte de energia gasta em todo o processo metabólico responsável pela aclimação.

Em geral, as células dos tecidos da planta de trigo apresentam uma elevada capacidade de aclimação, exceto quando as mesmas se encontram em elongação. Com a elongação ocorre abaixamento da concentração do suco celular, sendo uma das causas da perda da tolerância. Provavelmente, outros mecanismos devem estar associados a esse fato.

A base dos entrenós recém elongados são danificados pelas geadas, causando grandes prejuízos à produção, quando ocorre o acamamento dos perfilhos.

O estudo de uma metodologia que venha a selecionar plantas mais tolerantes deverá abordar aspectos relacionados à concentração do suco celular, especialmente o ponto de congelamento das partes em elongação.

O conteúdo hídrico está, de certa forma, inversamente correlacionado à concentração do suco celular e ao ponto de congelamento. Assim, este parâmetro pode ser de grande utilidade, não só para detectar as possíveis diferenças entre cultivares, como também para se estudar os efeitos de fatores ambientais, como a influência do teor de umidade do solo no grau de estrangulamento dos entrenós, em decorrência de maior ou menor quantidade de água no tecido.

A determinação do índice refratométrico e do ponto crioscópico pode fornecer informações sobre a concentração do suco celular e do grau de tolerância à geada.

Algumas considerações podem ser feitas em relação à elongação da base dos entrenós. Antes de mais nada, o crescimento do entrenó se dá pelas células da base. Este crescimento é o resultado da divisão seguida de elongação celular. Durante a elongação ocorre o abaixamento da concentração do suco celular, devido a entrada de água nas células. Baseando-se na taxa de elongação pode supor-se que, quanto maior, mais rapidamente o tecido vai perder a tolerância ao congelamento. Desta forma, a medição desta taxa pode fornecer alguns subsídios para a seleção de cultivares ou linhagens com maior tolerância.

Para cultivares de mesmo ciclo e alturas diferentes é provável que a mais baixa apresente uma menor taxa de alongamento, constituindo numa característica favorável. Para cultivares de ciclos diferentes e mesma altura, a de ciclo maior deverá apresentar a menor taxa de alongamento. Desta forma, no que se refere ao estrangulamento dos entrenós uma cultivar baixa e ciclo longo provavelmente apresentará uma maior tolerância, baseando na taxa de elongação do colmo.

Alguns tratamentos podem fazer variar a taxa de elongação do colmo, fa

zendo variar também o grau de tolerância ao estrangulamento. Pode-se supor que qualquer tratamento que estimule o crescimento em altura, por ex., alta densidade e/ou altas doses de nitrogênio, provavelmente contribui para uma redução da tolerância dos entrenós, enquanto que tratamentos que reduzam o porte das plantas (inibidores de crescimento) vão contribuir para um aumento na tolerância.

Os entrenós das plantas de porte médio ou baixo podem apresentar uma maior tolerância à geada, caso o porte esteja relacionado mais ao tamanho que ao número de células. Outros aspectos, porém, podem também conferir às plantas de porte menor uma maior tolerância à geada no que diz respeito aos entrenós.

Durante as noites típicas de geada, a temperatura mínima absoluta ocorre ao nível das folhas da cultura, as quais perdem calor por irradiação para a atmosfera. Dentro do dossel vegetal a temperatura mínima absoluta pode estar vários graus acima da mínima do nível da cultura. Isto deve-se à reflexão múltipla da irradiação emitida pela superfície do solo. O mesmo acontece numa cultura de porte alto, entretanto, sob as mesmas condições, a temperatura deverá ser menor uma vez que o calor emitido pelo solo será distribuído em um volume de ar maior caso a proteção exercida pelo topo da cultura seja a mesma e para densidades e espaçamentos adequados.

O acamamento dos perfilhos deve ser menor na cultura de porte baixo, uma vez que o efeito de alavanca é menor. Entretanto, outras características de vem estar associadas ao acamamento de entrenós danificados pela geada, dentre eles, a resistência mecânica do colmo e a proteção das bainhas.

Ao contrário da parte vegetativa, a parte reprodutiva não tolera a mínima formação de gelo no interior dos tecidos e as espigas dependem do sub-resfriamento para sobreviverem às temperaturas menores que o ponto de congelamento.

O sub-resfriamento do tecido depende de barreiras que impeçam a propagação do gelo depositado na superfície da folha ou partes florais para o interior dos tecidos. O nó do ráquis e da ráquila, bem como a cutícula da epiderme das glumas são algumas das barreiras que dificultam a inoculação de gelo dos tecidos sub-resfriados. A cutícula apresenta em algumas cultivares um acúmulo maior de substâncias cerosas (glaucousness). Este caráter vem sendo estudado como uma possível solução para a baixa tolerância das espigas à geada. Entretanto, deve-se levar em consideração que o grau de tolerância da espiga está estreitamente ligada ao ponto de congelamento do tecido. Evidentemente quanto menor o ponto de congelamento do tecido, maior será o grau de tolerância, independente da ocorrência do sub-resfriamento. Desta forma, pode-se obter certo grau de aclimação para os tecidos da espiga, principalmente, pelo abaixamento do ponto de congelamento.

Entretanto, como há relação inversa entre o conteúdo hídrico e o grau de aclimação dos tecidos, especialmente no que se refere ao abaixamento do ponto de congelamento, é muito provável que durante a antese e o início da

formação do grão, o ponto de congelamento seja elevado constituindo numa fa
se muito suscetível ao congelamento. Neste estágio a ausência de danos à es
piga estará exclusivamente ligada ao sub-resfriamento.

ESTUDO DE TOLERÂNCIA À GEADA EM CONDIÇÕES DE CAMPO

O estudo de tolerância do trigo à geada tem sido feito tanto em condições de campo quanto de laboratório (SINGLE, 1961; SINGLE, 1964; SINGLE, 1966).

Em condições de campo, as dificuldades são muito maiores e os resultados são válidos apenas para aquelas condições em que foram conduzidos os testes. Não é possível, na maioria dos casos, fazer uma extrapolação dos resultados nem para outras localidades nem para outras épocas. As seguintes dificuldades podem ser citadas:

1) as condições climáticas (chuva, luz, temperatura, umidade relativa e vento) são variáveis durante o teste e para diferentes testes;

2) o estágio adequado da cultura na época da incidência da geada só pode ser obtido pelo plantio em diversas épocas;

3) o número de ocorrência de geada e a temperatura mínima alcançada não podem ser controlados;

4) não se pode ter uma testemunha sem os efeitos das geadas. Em parte isto pode ser contornado, construindo sobre as parcelas um estufim de plástico durante a noite, mas este tratamento é muito trabalhoso, principalmente para ensaios envolvendo um elevado número de cultivares.

5) finalmente, o teste a campo não apresenta condições de reproduzibilidade.

Entretanto, para um determinado número de testes, o resultado a campo deve fornecer subsídios para uma discriminação entre cultivares com diferentes graus de tolerância à geada. Esta é uma afirmação óbvia quando se aceita que podem ocorrer diferenças varietais no que concerne a este caráter.

Para os testes a campo, visando uma maior compreensão dos resultados a obter, alguns cuidados devem ser levados em consideração:

1) usar um número adequado de cultivares;

2) utilizar espaçamento e densidade adequados;

3) evitar os efeitos de bordas, os quais podem ser elevados;

4) fazer adubação e correção do solo adequados;

5) fazer o controle adequado de pragas e doenças;

6) às condições topográficas devem ser as mesmas para todos os ensaios; deve-se notar que as camadas de ar frio comportam-se como enxurradas;

7) devem ser instalados no centro do ensaio, pelo menos, um termômetro de mínima (localizado no topo da cultura) e um termo-higrógrafo (instalado em abrigo meteorológico);

8) devem ser rigorosamente observadas as condições imediatamente anteriores à ocorrência de geada, especialmente no que se refere ao teor de umidade do solo e hidratação das plantas;

9) os parâmetros utilizados devem apresentar características tais que possam fornecer subsídios para discriminação das cultivares, através da análise estatística;

10) as plantas devem ser avaliadas considerando apenas os perfilhos que se encontravam, no momento da geada, no mesmo estágio de desenvolvimento;

11) uma vez que os danos de geadas em trigo estão relacionados principalmente ao estrangulamento dos entrenós, à morte da espiga durante a sua formação, à esterilização do grão de pólen e ao chochamento dos grãos, os parâmetros a serem utilizados deverão abordar principalmente estes aspectos.

ESTUDO DE TOLERÂNCIA À GEADA EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Devido às dificuldades antes apontadas no que se refere ao estudo da tolerância à geada em condições de campo, vários pesquisadores têm optado pela condução de experimentos em condições controladas. É desnecessário apontar as vantagens deste método, entretanto, alguns cuidados, dentro de certos limites, devem ser levados em consideração:

1) as condições de cultivo durante o teste devem ser, na medida do possível, padronizadas. Principalmente os aspectos de luminosidade, temperatura, irrigação, adubação e controle de pragas e doenças;

2) antes do teste, as plantas devem ser submetidas a um tratamento prévio de aclimação;

3) padronizar o tratamento no fitotron, principalmente, no que se refere à aclimação, taxa de congelamento, tempo de congelamento, taxa de descongelamento e tratamento após congelamento;

4) na medida do possível, deve-se fazer o tratamento de aclimação, e o tratamento pós-congelamento dentro do fitotron;

5) as plantas devem ser comparadas através de perfilhos no mesmo estágio de desenvolvimento.

A seguir, algumas sugestões são apresentadas para o procedimento em laboratório:

Cultivo das plantas

1) em telado ou casa de vegetação;

2) em caixas de isopor, num total de seis plantas por caixa;

3) deve-se utilizar 8 a 10 caixas por tratamento e por cultivar, sendo que 4 ou 5 caixas serão submetidas ao tratamento de geada e 4 ou 5 serão utilizadas como testemunha;

4) de preferência, o teste deve ser conduzido durante as épocas normais de cultivo;

5) o solo utilizado deverá ser tratado com brometo de metila para prevenção do vírus do mosaico;

6) a irrigação deverá manter o solo na sua capacidade de campo;

7) deverá ser feito controle rigoroso de pulgões, prevenindo o aparecimento do vírus do nanismo amarelo. O controle deverá ser feito, de preferência, semanalmente e tomar cuidados especialmente nos estádios iniciais do desenvolvimento das plantas;

8) controle sistemático de doenças, de preferência, preventivos;

9) usar sempre o mesmo produto químico.

Aclimação

1) as plantas deverão ir para o fitotron 5 a 8 dias antes do tratamento de geada. Durante este tempo, as plantas deverão ficar sob condições de 1 a 3°C durante a noite e 8 a 10°C durante o dia. O fotoperíodo deverá estar entre 10 a 12 h e a intensidade luminosa entre 40 a 50 Klux. A umidade relativa deverá ser de 50 a 70 % durante o dia e 80 a 100 % durante a noite.

Tratamento com geada

1) deverá aproximar ao máximo possível do que ocorre a campo;

2) as plantas, durante o teste, deverão ser pulverizadas com água quantas vezes forem necessárias, procurando mantê-las sempre com uma boa cobertura com gotículas, simulando o orvalho. O uso de gelo seco também pode ser utilizado, como meio de não favorecer o sub-resfriamento;

3) a taxa de congelamento não deverá ser maior que 1 a 2°C/h;

4) o tempo de duração de temperaturas abaixo de 0°C deverá ser de 6 a 8 h;

5) a taxa de descongelamento deverá ser rápida;

Tratamento após a geada

1) as plantas, após o tratamento deverão permanecer no fitotron por um período de 4 a 6 dias, sob condições de 5 a 8°C durante a noite e 12 a 15°C durante o dia. As outras condições devem ser iguais às empregadas para a aclimação;

2) após este período, as plantas voltarão para o telado ou casa de vegetação.

Avaliação

1) os parâmetros escolhidos deverão permitir uma avaliação estatística;

2) os seguintes parâmetros são citados pela literatura: percentagem de perfilhos mortos, grau de dano nos entrenós estrangulados, percentagem de queima de folhas e percentagem de fertilidade. Evidentemente outros parâmetros poderão ser usados, especialmente, aqueles relacionados às características do grão, quando formado.

A validade dos testes conduzidos em condições de laboratório só se justifica quando os resultados obtidos por este método apresentam uma alta correlação com os obtidos em condições de campo.

LITERATURA CITADA

1. ADIR, C.R. 1968. Testing rice seedling for cold water tolerance. Crop. Sci. 8:264-265.
2. ASAHINA, E. 1956. The freezing process of plant cell. Contrib. Inst. Low Temp. Sci. Hokkaido Univ. 10:83-126.
3. DEXTER, S.T. 1932. Studies of the hardiness of plants: a modification of the Newton pressure method for small samples. Plant Physiol. 7:721-726.
4. DEXTER, S.T. 1933. Effect of several environmental factors on the hardening of plants. Plant Physiol. 8:123-139.
5. EAKS, I.L. & MORRIS, L.L. 1956. Respiration of cucumber fruits associated with physiological injury at chilling temperatures. Plant Physiol. 31:308-314.
6. GEIGER, D.R. 1969. Chilling and translocation. Ohio J. Sci. 69:356-366.
7. GERLOFF, E.D., RICHARDSON, T. & STAHMANN, M.A. 1966. Changes in fatty acids of alfalfa roots during cold hardening. Plant Physiol. 41:1280-1284.
8. HARPER, J.E. & PAUSEN, G.M. 1967. Changes in reduction and assimilation of nitrogen during the growth cycle of winter wheat. Crop. Sci. 7:205-209.
9. HEBER, U. 1959. Beziehungen zwischen der Grosse von Chloroplasten und ihrem Gehalt an löslichen Eiweissen und Zuckern im Zusammenhang mit dem Frostresistenz Problem. Protoplasma 51:284-298.
10. HILLIARD, J.H. & WEST, S.H. 1970. Starch accumulation associated with growth reduction at low temperatures in a tropical plant. Science 168:494-496.
11. IBANES, M.L. 1964. Role of cotyledon in sensitivity to cold of Cacao seed. Nature (London) 201:414-415.
12. JENSEN, N.F. & DRISCOLL, C.J. 1962. Inheritance of the waxless character in wheat. Crop Sci. 2:504-506.
13. KESSLER, W. & RUHLAND, W. 1938. Weitere Untersuchungen über die inneren Ursachen der Kalterreistenz. Planta 28:159-204.
14. KETELLAPPER, H.J. & BONNER, J. 1961. The chemical basis of temperature responses in plants. Plant Physiol. Suppl. 36:XXI.
15. KISLYIUK, I.M. 1964. Influence of light on injury of *Cucumis sativus* leaves during cooling. Dokl. Akad. Nauk. SSSR 158:1434-1436.

16. KOEPPE, D.E.; ROHRBAUGH, L.M.; RICE, E.L. & WENDER, S.H. 1970. The effect of age and chilling temperatures on the concentration of scopolin and caffeoylquinic acids in tobacco. Physiol. Plant. 23:258-266.
17. KOLOSHA, O.I. & RESHETNIKOVA, T.P. 1967. The effect of the temperature on the content of macroenergetic phosphorus in the tillering nodes and on the frost resistance of winter wheat. Rast. Ustoich. Rast. SB3:188-193.
18. KUKSA, I.N. 1939. The effect of mineral nutrition on winter hardiness and yield of winter wheat. Himiz. Soc. Zemled. 1:70-79 (Herb. Abstr. 9:635-1939).
19. LARCHER, W. 1954. Die Kalteresistenz mediterraner Immergruner und ihre Beeinflussbarkeit. Planta 44:607-635.
20. LEVITT, J. 1941. Frost Killing and Hardiness of Plant, 211 p. Burgess, Minneapolis, Minnesota.
21. LEVITT, J. 1954. Investigations of the cytoplasmic particulates and proteins of potato tubers. III. Proteins synthesis during the breaking of the rest period. Physiol. Plant. 7:597-601.
22. LEVITT, J. 1956. The Hardiness of Plants. 278 pp. Academic Press, New York.
23. LEVITT, J. 1972. Temperature Stress. In: Responses of Plants to Environmental Stress. Academic Press, New York, p. 18 + 228.
24. LEWIS, D.A. & MORRIS, L.L. 1956. Effects of chilling storage on respiration and deterioration of several sweet potato varieties. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 68:421-428.
25. LI, P.H. & WEISER, C.J. 1969. Influence of photoperiod and temperature on potato foliage protein and 4S RNA. Plant Cell Physiol. 10:929-934.
26. LYONS, J.M. & ASMUNDSON, C.M. 1965. Solidification of unsaturated-saturated fatty acid mixtures and its relationship to chilling sensitivity in plants. J. Amer. Oil. Chem. Soc. 42:1056-1058.
27. LYONS, J.M. & RAISON, J.K. 1970. Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. Plant Physiol. 45:386-389.
28. MARCELLOS, H. & SINGLE, W.V. 1976. Ice nucleation on wheat. Agr. Meteorol. 16:125-129.
29. OLIEN, C.R.; MARCHETTI, B.L. & CHOMYN, E.V. 1968. Ice structure in hardened winter barley. Mich. Agr. Exp. Sta. Quart. Bull. 50:440-448.
30. PAULI, A.W. & MITCHELL, H.L. 1960. Changes in certain nitrogenous

constituents of winter wheat as related to cold hardiness. Plant Physiol. 35:539-542.

31. PISEK, A. 1950. Frostharte und Zusammensetzung des Zellsaftes bei *Rhododendron ferrugineum*, *Pinus cembra* und *Picea excelsa*. Protoplasma 39:129-146.
32. PODIN, V.S. 1966. Comparative study of the xanthophyll transformation reaction of some plants as a factor of temperature in light and darkness. Izv. Akad. Nauk. Latv. SSR 11:82-86.
33. RIMPAU, R.H. 1958. Untersuchungen über die Wirkung von Kritischer Phoperiode und Vernalisation auf die Laltresistenz von *Triticum aestivum* L. Z. Pflanzenzuecht 40:275-318.
34. SAKAI, A. 1961. Effect of polyhydric alcohols to frost hardiness in plants. Nature (London) 189:416-417.
35. SAKAI, A. & YOSHIDA, S. 1968. The role of sugar and related compounds in variations of freezing resistance. Cryobiology 5:160-174.
36. SCHMALZ, H. 1957. Untersuchungen über den Einfluss von photoperiodischer Induktion und Vernalisation auf die Winterfestigkeit von Winterweizen. Z. Pflanzenzucht. 38:147-180.
37. SEIBLE, D. 1939. Ein Beitrag zur Frage der Kalteschaden an Pflanzen bei Temperaturen über dem Gefrierpunkt. Beitr. Biol. Pflanz. 26:289-330.
38. SINGLE, W.V. 1968. Variations in resistance to spring frost in *Triticum aestivum* L. and related species. Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp. 282-287.
39. SINGLE, W.V. 1971. Frost damage in wheat crops. Agric. Gaz. N.S.W., Sydney, 82:211-214.
40. SINGLE, W.V. 1975. Frost injury. In: Australian Field Crops. A. Lazemby and E.M. Matheson (ed.) p. 364-383.
41. SINGLE, W.V. & FLETCHER, R.J. 1979. Resistance of wheat to freezing in the heading stages. Proc. 5th Int. Wheat Genet. Symp. p. 188-191.
42. SINGLE, W.V. & MARCELLOS, H. 1974. Studies on frost injury to wheat. IV. Freezing of ears after emergence from the leaf sheath. Aust. J. Agric. Res. 25:679-686.
43. SINGLE, W.V. & OLIEN, C.R. 1967. Freezing process in wheat stems. Aust. J. Biol. Sci. 20:1025.
44. SIMINOVITCH, D.; RHEAUME, B.; POMEROY, K. & LEPAGE, M. 1968. Phospholipid, protein, and nucleic acid increases in protoplasm and membrane structures associated with development of extreme freezing resistance in black locust tree cells. Cryobiology 5:202-225.

45. SUJIYAMA, N. & SIMURA, T. 1967. Studies on varietal differentiation of the frost resistance of the tea plant. III. With special emphasis on the relation between their frost resistance and chloroplast soluble protein. Jap. J. Breed. 17:37-42.
46. SPRADLIN, J.E.; THOMA, J.A. & FILMER, D. 1969. Beta amylase thiol groups. Possible regulator sites. Arch. Biochem. Biophys. 134:262-264.
47. THOMPSON, K.F. & TAYLOR, J.P. 1968. Chemical composition and cold hardiness of the pith in marrow-stem kale. J. Agr. Sci. 30:347-353.
48. TODA, M. 1962. Studies on the chilling injury in wheat plants I. Some researches on the mechanism of occurrence of the sterile phenomenon caused by the low temperature. Proc. Crop. Sci. Japan 30:241-249.
49. TOMAN, F.R. & MITCHELL, H.L. 1968. Soluble proteins of winter wheat crown tissues, and their relationship to cold hardiness. Phytochemistry 7:365-373.
50. TSUNODA, K.; FUJIMURA, K.; NAKAHARI, T. & OYAMADO, Z. 1968. Studies on the testing method for cooling tolerance in rice plants. I. An improved method by means of short turn treatment with cool and deep water. Jap. J. Breed. 18:33-40.
51. TUMANOV, I.I. & TRUNOVA, T.I. 1958. The effect of growth process on the capacity for hardening. Fisiol. Rast. 5:108-117.
52. WILLIAMS, R.J. & MERYMAN, H.T. 1970. Freezing injury and resistance in spinach chloroplast grana. Plant Physiol. 45:752-755.
53. YOSHIDA, S. & SAKAI, A. 1968. The effect of thawing rate on freezing injury in plants. II. The change in the amount of ice in leaves as produced by the change in temperature. Low Temp. Sci. Ser. Biol. Sci. B26:23-31.

efeito do Congelamento sobre a fertilidade em
Trigo (Triticum aestivum L.)

Introdução

O congelamento dos órgãos vegetativos, particularmente, os tecidos das folhas, não resulta em danos, uma vez que, com grandes espaços intercelulares, são tolerantes à formação de gelo (SINGLE, 1968). O mesmo não ocorre com os órgãos reprodutivos, os quais não toleram a formação de gelo no seu interior (SINGLE e MARCELLOS, 1974). Desta forma, a sobrevivência da espiga fica condicionada ao ponto de congelamento do tecido e à capacidade dos mesmos em atingir um elevado grau de sub-resfriamento.

A aclimação dos tecidos da espiga pode, ainda que em menor grau que nos órgãos vegetativos, contribuir para um abaixamento do ponto de congelamento. Por outro lado o sub-resfriamento é função das barreiras que impedem a propagação do gelo da superfície da planta para o interior da espiga. Dentre estas barreiras, tem sido relatada os nós do ráquis e a cutícula da epiderme, especialmente aquelas ricas em cerosidade (glaucousness) (SINGLE e MARCELLOS, 1974).

A determinação direta da proteção exercida por cada uma destas barreiras é trabalhosa, podendo ser feita apenas em condições de laboratório. Em condições de campo, outros parâmetros devem ser utilizados para a determinação do efeito global da geada sobre as plantas, especialmente no que se refere ao dano na espiga.

O presente trabalho tem como objetivo determinar o efeito do congelamento, em condições controladas, sobre a fertilidade de plantas de trigo em três estádios de desenvolvimento.

Material e Métodos

Foram utilizados plantas das variedades Kite, Nobre e Maringá, cultivadas em caixas de isopor 20x23x22 cm, sob condições de telado e condições ótimas de hidratação até o emborrachamento. Neste estágio as plantas foram conduzidas ao fitotron e submetidas ao tratamento de congelamento segundo a TABELA 1. Foram utilizadas 36 caixas, sendo 12 caixas por cada cultivar. Antes do tratamento, foram marcados todos os perfilhos que se encontravam no estágio de início de

emborrachamento(fase de tétrade), emborrachamento(polen mononucleado) e espigamento(polem maduro). Perfíhos de 6 caixas não foram tratados com o congelamento.

No fitotron, as condições eram as seguintes: temperatura(Tabela 1), umidade relativa(Figura 1), intensidade luminosa de 50 klux e fotoperíodo de 12 h.

Ao final do tratamêto, as plantas foram conduzidas ao telado onde permaneceram até a coleta das espigas para determinação da fertilidade, a qual foi feita utilizando o método de SEARS(1941).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições.

Resultados

TABELA 2. Fertilidade de espigas de plantas de três cultivares, tratadas e não tratadas por baixas temperaturas. Percentagem de flores gibereladas nas espigas não tratadas.

CULTIVARES (Estádio)	ESPIGAS TRATADAS		ESPIGAS NÃO TRATADAS		FLÔRES GIBERELADAS	
	(%)	nº espigas	(%)	nº espigas	(%)	nº espigas
KITE						
Início de emborrachamento	52	3	78	4	6,5	4
Emborrachamento	54	28	73	20	10,3	4
Espigamento	61	22	81	24	6,6	4
NOBRE						
Início de emborrachamento	74	18	99	25	1,3	4
Emborrachamento	71	38	94	52	0,0	4
Espigamento	86	74	90	32	5,9	4
MARINGÁ						
Início de emborrachamento	95	28	91	39	2,8	4
Emborrachamento	91	43	93	51	4,7	4
Espigamento	38	26	91	38	8,0	4

Efeito de Geada sobre a fertilidade em Trigo (Triticum aestivum L.)

As geadas são fenômenos frequentes tanto na região sul (RS, SC e sul do PR) como na região centro sul (oeste do PR, sul de SP e sul do MS), causando grandes prejuízos à cultura do trigo.

Na região centro sul, o semeio deve ser feito no final do verão e início de outono visando aproveitar a umidade disponível do solo nessa época, uma vez que ocorre uma menor frequência de precipitação nos meses posteriores, que dificultam a semeadura em maio e junho, principalmente. Com isso, a cultura fica sujeita às geadas mais frequentes do mês de julho, causando elevados prejuízos à produção de trigo.

Na região sul, este problema foi amenizado retardando-se a época de semeadura visando o escape às geadas durante as fases de floração e início da formação do grão. Entretanto, as geadas tardias de agosto e setembro têm causado, frequentemente, redução na produtividade.

A geada afeta a planta de trigo em vários estádios de desenvolvimento, entretanto os danos maiores estão associados às fases de floração e enchimento de grão. Nesta fase, temperaturas menores que -3°C causam danos severos à espiga e ao grão em formação.

O presente trabalho tem como objetivo determinar os efeitos de geadas sobre a fertilidade das espigas de trigo, cevada e triticale, em três estádios de desenvolvimento, visando a obtenção de plantas com maior tolerância à geada.

Material e Métodos

Foram utilizados 42 cultivares, sendo 37 de trigo, 3 de cevada e 2 de triticale. A semeadura foi feita em cinco épocas com intervalo de 15 dias, a partir de 24/4/79. O espaçamento foi de 30 cm entre fileiras e a densidade de 50 plantas por metro. A adubação foi de 300 Kg/ha da fórmula 8-28-20. Aos 45 dias após a semeadura, foi feita adubação em cobertura com uréia, na base de 30kg/ha de N. De acordo com as necessidades, procedeu-se ao controle fitossanitário.

