TEMPERATURAS DE SUB-RESFRIAMENTO E DE CONGELAMENTO EM FOLHAS MADURAS DE SERINGUEIRA¹

JOSÉ PIRES DE LEMOS FILHO², HILTON SILVEIRA PINTO³ e OLINTO GOMES DA ROCHA NETO⁴

RESUMO - As temperaturas de sub-resfriamento e de congelamento de folhas de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) foram determinadas por análise termal, utilizando-se termopares de ferro - constantan. As medidas foram efetuadas em folhas maduras de plantas cultivadas em câmaras Conviron, simulando condições de primavera/outono e inverno. As temperaturas de sub-resfriamento e de congelamento, foram, respectivamente, -7,5°C e -4,8°C, valores inferiores aos observados para o cafeeiro e para a cana-de-açúcar, sugerindo uma maior resistência ao frio por parte da seringueira.

Termos para indexação: *Hevea brasiliensis*, análise termal, termopares de ferro, câmaras Conviron.

SUBFREEZING AND FREEZING TEMPERATURES IN MATURE RUBBER TREE LEAVES

ABSTRACT - Subfreezing and freezing temperatures in *Hevea brasiliensis* leaves were determined by thermal analysis using iron-constantan thermocouples. The measurements were done in mature leaves of plants cultivated in Conviron chambers, simulating spring/autumm and winter conditions. Subfreezing and freezing temperatures were found to be -7.5°C and -4.8°C, respectively. These values were inferior than those observed for coffee tree and sugar cane, suggesting higher cold resistance for rubber tree.

Index terms: Hevea brasiliensis, thermal analysis, iron-constantan thermocouples, Conviron chambers.

INTRODUÇÃO

Antes restrita às condições do trópico úmido, a cultura da seringueira, expande-se atualmente até regiões mais frias do Brasil, como no norte do estado do Paraná e no Oriente, ao sul da China.

Nas condições do Brasil, o desenvolvimento da heveicultura fora da região tradicional deve-se principalmente à possibilidade de escape da principal moléstia da cultura, o Segundo Levitt (1980), de um modo geral as plantas estão sujeitas a estresse de baixa temperatura tanto pelo resfriamento a temperaturas acima de zero grau centígrado, alterando o seu comportamento fisiológico, como ao nível de congelamento dos tecidos, observado a temperaturas bem mais baixas.

O ponto de congelamento de uma planta é sempre inferior ao da água. Durante o resfriamento, a temperatura dos tecidos cai abaixo do ponto de congelamento da água com a formação de gelo (Marcellos & Single 1976, Yelenosky 1975).

A temperatura mínima alcançada quando se

[&]quot;mal-das-folhas", causada pelo fungo *Microcyclus ulei*. No entanto, essa expansão nas áreas cultivadas deve ser acompanhada da identificação do comportamento da seringueira em relação aos elementos climáticos limitantes, notadamente a tolerância a geadas.

¹ Aceito para publicação em 11 de janeiro de 1991

² Eng.-Agr., Dr., Dep. de Botânica/ICB. Univ. Fed. Minas Gerais. Campus da Pampulha, CEP 31270 Belo Horizonte, MG.

³ Eng.-Agr., Dr. Dep. de Fisiol. Veg., Inst. de Biol. e CEPAGRI-UNICAMP, CNPq.

Eng.-Agr., Dr., EMBRAPA/Centro de Pesquisa do Trópico Úmido.

inicia a formação do gelo, corresponde ao ponto de sub-resfriamento (ou subcongelamento). Nesse ponto ocorre o início da nucleação de gelo, com a liberação de calor latente de fusão. A máxima temperatura atingida após a iniciação do gelo corresponde ao ponto de congelamento (Levitt 1980).

No congelamento de um tecido a formação de gelo pode ocorrer nos espaços intercelulares ou no protoplasto. O congelamento intracelular resulta na ruptura da integridade da célula, promovendo uma injúria direta que provoca a perda da semipermeabilidade das membranas (Burke et al. 1976, Levitt 1980). Se a formação de gelo ocorre nos espaços intercelulares a injúria é indireta, promovida por um estresse hídrico secundário, resultante da desidratação causada pelo congelamento (Levitt 1980).

Em suas considerações sobre a resistência a geadas, Levitt (1980) observou que em relação à injúria direta o mecanismo básico está relacionado ao escape ao congelamento, enquanto a resistência à injúria secundária está relacionada tanto ao escape como a mecanismos de tolerância à desidratação.

A temperatura em que se inicia a formação de gelo nos tecidos tem recebido a atenção de muitos autores, sendo discutidas e questionadas as diversas técnicas utilizadas em sua medição, a massa das amostras (Aschwort et al. 1985) e o possível papel de certas espécies de bactérias atuantes como catalizadoras na formação inicial do gelo (Hirano et al. 1985).

Dentre as técnicas utilizadas para a determinação do ponto de congelamento, os métodos calorimétricos, baseados na medição dos eventos exotérmicos, são muito utilizados. A metodologia da análise termal é a mais simples e consiste no registro da temperatura dos tecidos durante o resfriamento, utilizando-se um termopar (Burke et al. 1976).

A resistência a geadas pode ser mensurada no campo ou laboratório através de congelamento artificial. Segundo Levitt (1980), o escape ao congelamento pode ser medido simplesmente pelo acompanhamento da temperatura dos tecidos até a observação do sinal exotérmico, correspondente ao início do congelamento, não sendo necessárias as observações de sobrevivência.

No Brasil, já foram conduzidos alguns trabalhos sobre a tolerância a geadas utilizandose a metodologia de análise termal. Em algumas variedades de cana-de-açúcar, Brinholi (1972) observou uma variação entre -3,6 a -5,6°C no ponto de congelamento de folhas. Para folhas maduras do cafeeiro *Arabica* var. "novo mundo", Ferraz (1968) determinou o ponto de sub-resfriamento de -5,0°C e indicou -3,5°C como a temperatura letal.

Para a seringueira, Ortolani (1986) sugere que o nível de tolerância ao frio seja semelhante ao do cafeeiro, com os primeiros danos ocorrendo quando a temperatura dos tecidos jovens atingem 0,0 a -1,0°C. Nas condições de campo, tem sido observado que os maiores prejuízos ocorrem nas folhas caracterizadas pelos estádios B2 e C, causados principalmente por ventos frios, mas sem atingir o ponto letal (Cepagri 1988).

O presente trabalho foi desenvolvido como contribuição ao entendimento do comportamento da seringueira submetida a baixas temperaturas, determinando-se os pontos de sub-resfriamento e de congelamento de folhas maduras, destacadas ou não do ramo, observando-se também o efeito do posicionamento do sensor nos resultados obtidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de seringueira da safra 86/87, provenientes de plantio comercial no município de Colina, SP, foram utilizadas para a obtenção de plântulas que foram cultivadas em câmara de crescimento do tipo Conviron, programada para um fotoperíodo de doze horas e regime de luz e temperatura que simulassem as condições de um dia típico de primavera/outono (Tabela 1).

As plantas foram cultivadas em vermiculita e irrigadas semanalmente com 100 ml de solução de Hoagland completa, mantendo-se um suprimento hídrico normal até o amadurecimento do primeiro lançamento foliar - 40 dias de idade - no estádio fenológico "D", segundo Halle & Martin (1968). Após esse período as plantas foram submetidas a um tra-

tamento de "endurecimento" por uma semana, alterando-se a programação da câmara para simular dias típicos de inverno (Tabela 1).

A determinação do ponto de sub-resfriamento e o de congelamento foi efetuada em folhas maduras - estádio D - destacadas da planta (cinco folhas) ou não (seis folhas), detectando-se a queda de temperatura através de termopares de ferro-Constantan 36 AWG, acoplados a um registrador potenciométrico com fundo de escala de 1 mV e velocidade de papel de 12 mm/minuto. No primeiro caso, as folhas foram destacadas das plantas imediatamente antes de o tratamento ser iniciado.

Durante o resfriamento na câmara, o material foi mantido no escuro e a temperatura de início do tratamento foi de cerca de 8°C, sendo diminuída em 1°C a cada cinco minutos até a verificação, no gráfi-

TABELA 1. Esquema de programação da câmara de crescimento Conviron para simulação de condições ambientais referentes a primavera, outono e inverno na faixa tropical.

Hora	Primavera/Outono			Inverno	
	Temper.	Umid.Rel.	Rad.Solar uE.m ⁻² .s ⁻¹	Temper.	Umid.Rel.
06-07	16,0	95	190	5,0	95
07-08	16,0	90	450	5,0	90
08-09	17,0	85	650	6,0	85
09-10	19,0	80	800	10,0	80
10-11	22,0	70	900	14.0	70
11-12	25,0	60	1000	18,0	60
12-13	28,0	50	1000	20,0	50
13-14	30,0	40	900	22,0	40
14-15	32,0	40	800	24,0	30
15-16	30,0	45	650	22,0	40
16-17	28,0	50	450	20,0	50
17-18	27,0	55	190	18,0	55
18-19	26,0	60	-	16,0	60
19-20	25,5	70	_	15,0	70
20-21	25,0	80	-	14,0	80
21-22	24,5	90	-	13,0	90
22-23	24,0	95	-	12,0	95
23-24	23,0	95	-	11,0	95
24-01	22,0	95	-	10,0	95
01-02	21,0	95	_	9,0	95
02-03	20,0	95	-	8,0	95
03-04	19,0	95	-	7,0	95
04-05	18,0	95	•	6,0	95
05-06	17,0	95	-	5,5	95

co, da curva característica dos pontos de sub-resfriamento e de congelamento.

Para se testar o efeito da posição do termopar na detecção da temperatura, no primeiro caso, a junção medidora foi colocada em contacto direto com a superfície abaxial da folha, presa por fita adesiva a cerca de 0,5 cm da junção propriamente dita. No outro caso, a junção foi inserida diretamente no mesófilo, perfurando-se o limbo foliar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pontos de sub-resfriamento e de congelamento das folhas puderam ser claramente identificados (Fig. 1), confirmando a eficiência da técnica de análise termal pela liberação de calor quando do congelamento da água, conforme proposto por Burke et al. (1976) e utilizada por Ferraz (1968) e Brinholi (1972).

Os resultados obtidos (Tabela 2), mostram que não há diferença em se utilizar a junção do termopar ajustada à superfície foliar ou inserida diretamente no limbo para a detecção dos níveis de sub-resfriamento e congelamen-

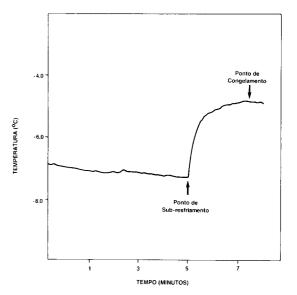


FIG. 1. Variação da temperatura de folhas maduras de seringueira evidenciando o ponto de sub-resfriamento e o ponto de congelamento.

to, estando os valores de sub-resfriamento entre -7,4 e -7,7°C, em média.

As observações (Tabela 3), também demonstram que não ocorrem diferenças significativas na detecção das temperaturas em folhas destacadas ou não das plantas, cujos valores médios estão entre -7,2 e -7,9°C para o nível de sub-resfriamento e -4,7 e -4,9°C para o congelamento.

Autores como Burke et al. (1976) e Ashworth et al. (1985), têm indicado que uma amostra de pequena massa pode não predizer com precisão o ponto correto de congelamento nas condições de campo, uma vez que, probabilisticamente, pode apresentar menor número de sítios favoráveis ao ínicio da formação de gelo - como bactérias ou outras impurezas - do que amostras com grandes massas. Nesse caso, uma folha destacada teria menor probabilidade de se congelar do que uma planta completa, o que não se pode comprovar claramente no presente trabalho, uma vez que, o teste "t", ao nível de 1% de probabilidade, mostrou que as médias encontradas foram iguais.

TABELA 2. Efeito da posição da junção medidora do Termopar na detecção da temperatura da folha madura de seringueira, durante a fase de congelamento.

Posição da Junção					
Encostada no Limbo	Inserida no Mesófilo				
Tempera	nturas ^o C				
-8,0	-8,0				
-7,8	-8,2				
-7,6	-7,4				
-7,3	-7,7				
-7,2	-				
-6,8	-				
-7,0	-				
M1= -7,4	M2 = -7,7				
Ho: Mi - Mi =	0, P = 0.1955				

O valor médio de -7,5°C (Tabela 3), determinado como ponto de sub-resfriamento, indica que as folhas maduras de seringueira, comparadas com as folhas do cafeeiro que apresentam um ponto de sub-resfriamento de -5,0°C (Ferraz 1968), podem suportar temperaturas inferiores, antes de se iniciar a nucleação de gelo.

Essa característica, correspondente ao escape ao congelamento devido ao sub-resfriamento (Levitt 1980), tem sido reconhecida em sua importância prática, como no caso da citricultura (Hendershott 1962, Yelenosky 1975, 1978).

Em relação ao ponto de congelamento, considerando-se que a temperatura letal e a de congelamento são muito próximas, como o observado para o cafeeiro (Ferraz 1968), o valor

TABELA 3. Temperaturas de sub-resfriamento e de congelamento de folhas maduras de seringueira, destacadas e não-destacadas de plântulas, e valores do teste de comparação das médias.

Tratamento	Temperatura ^o C Folhas		Médias	
	N. Dest.	Dest.	Ho:Mi-Mj=0	
	-7,0	-7,8	-	
	-7,3	-8,0		
Sub-resfriamento	-6,8	-8,2		
Sub-restriamento	-7,3	-7,4		
	-7,2	-8,0		
	-7,6	-		
Médias M	1 = -7,2 M2	=-7,9	P=0,0106	
	-5,0	-4,7		
	-5,1	-4,6		
Camaalamanta	-4,2	-5,0		
Congelamento	-4,8	-4,9		
	-4,0	-5,1		
	-4,9	-		
Médias M:	3=-4,7 M4=-4,9		P=0,2405	

médio de -4,8°C (Tabela 3), indica que a seringueira pode apresentar maior resistência à geada que o cafeeiro, e, comparando-se com os resultados encontrados por Brinholi (1972), também, maior resistência que a cana-de-açúcar.

A menor temperatura de congelamento encontrada nesse trabalho, comparando-se com as observadas para o cafeeiro e para a canade-açúcar, é um indicativo que as folhas de seringueira, no processo de endurecimento, apresentam uma maior capacidade de aumentar a concentração de solutos, que resulta em uma depressão no ponto de congelamento, um importante mecanismo de escape (Burke et al. 1976).

Deve ser salientado que nesse trabalho foram utilizadas plantas não-enxertadas, e que, variações na resistência à geada ocorrem entre os clones de seringueira, como foi observado na China por Ortolani (1986), que relatou que o clone GT1 é o mais resistente, enquanto os clones PB 86, RRIM 600 e PR 107 são os mais sensíveis.

CONCLUSÕES

- 1. As temperaturas de sub-resfriamento e de congelamento em folhas maduras de seringueira, respectivamente -7,5°C e -4,8°C, são inferiores às observadas para a cana-de-açúcar e para o cafeeiro.
- 2. A posição da junção do termopar, ajustado à superfície foliar ou diretamente introduzido no limbo é indiferente na detecção das temperaturas de sub-resfriamento e de congelamento.
- 3. Os resultados obtidos sugerem que folhas maduras de seringueira podem apresentar maior tolerância a baixas temperaturas que as da cana-de-açúcar e as do cafeeiro, ressaltando-se que variações podem ocorrer, dependendo do estado nutricional e das características genéticas dos diversos clones de seringueira.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas - CPQBA/UNICAMP - pelo uso das câmaras de crescimento, da área agrícola e dos demais equipamentos.

À EMBRAPA/CNPSD, FAPESP e FAP/UNICAMP, pelo apoio financeiro.

Ao Eng.-Agr. Pedro M. de Magalhães, pela colaboração que vem prestando aos trabalhos do Programa de Pesquisas Ecofisiológicas com a Seringueira-EMBRAPA/UNICAMP.

REFERÊNCIAS

- ASHWORTH, E.N.; DAVIS, G.A.; ANDERSON, J.A. Factors affecting ice nucleation in plant tissue. **Plant Physiology**, v.70, p.1033-1037, 1985.
- BRINHOLI, O. Resistência ao frio de diferentes variedades de cana-de-açúcar (Saccharum spp.). Piracicaba: ESALQ/USP, 1972. 88p. Tese de Doutorado.
- BURKE, M.J.; GUSTA, L.V.; QUAMME, H.A.; WEUSERMC, J.; LI, P.H. Freezing and injury in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.27, p.507-528, 1976.
- CEPAGRI. Programa de pesquisas ecofisiológicas com a seringueira. [S.l.]: EMBRAPA/UNICAMP/FUNCAMP, 1988. 4p. Relatório técnico de viagem 05.88.
- FERRAZ, E.C. Estudos sobre o momento em que a geada danifica as folhas do cafeeiro (Cofea arabica L. var. Mundo Novo). Piracicaba: ESALQ/USP, 1968. 59p. Tese de Doutorado.
- HALLE, F.; MARTIN, R. Étude de la croissance rythmique ches l'Hevea. **Adansonia**, v.8, p.475-503, 1968.
- HENDERSHOTT, C.H. The responses of orange trees and fruits to freezing temperatures. Proceeding of the American Society for Horticultural Science, v.80, p.247-254, 1962.
- HIRANO, S.S.; BAKER, L.S.; UPPER, C.D. Ice nucleation temperature of individual leaves in relation to population size of ice nucleation ac-

- tive bacteria and frost injury. Plant Physiology, v.77, p.259-265, 1985.
- LEVITT, J. **Plant stress.** 2.ed. New York: Academic Press, 1980. v.1, 497p.
- MARCELLOS, H.; SINGLE, W.V. Ice nucleation on wheat. **Agricultural Meteorology**, v.16, p.125-129, 1976.
- ORTOLANI, A.A. Agroclimatologia e o cultivo da seringueira. In: SIMPÓSIO SOBRE A CUL-TURA DA SERINGUEIRA NO ESTADO
- DE SÃO PAULO, 1986, Piracicaba. **Anais.** Campinas: Fundação Cargill, 1986, p.11-33.
- YELENOSKY, G. Cold hardening in citrus stems. **Plant Physiology**, v.56, p.540-543, 1975.
- YELENOSKY, G. Cold hardening in "valencia" orange trees to tolerate -6,7°C without injury.

 Journal of the American Society for Horticultural Science, v.103, p.449-452, 1978.