

## *Características morfoanatômicas e fisiológicas de gramíneas associadas à tolerância ao frio e à geada*

*Andréa Mittelman  
Luciano do Amarante  
José Ricardo Macedo Pezzopane  
Frederico de Pina Matta  
Alessandra Pereira Fávero  
Jamir Luis Silva da Silva*

### **Introdução**

O setor agrícola, principalmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, sofre, com certa frequência, sérios prejuízos ocasionados por declínios de temperatura associados a incursões de ar frio e formação de geadas. O fenômeno é mais prejudicial quando atinge as culturas de origem tropical, uma vez que as de origem temperada são naturalmente tolerantes.

Esses fenômenos são imprevisíveis em longo prazo, e costumam ser trabalhados com base na probabilidade de ocorrência, de acordo com dados históricos, em zoneamentos agrícolas de risco climático. No Brasil, o seguro agrícola garante uma indenização ao agricultor pelos prejuízos causados às culturas, decorrentes direta ou indiretamente de fatores climáticos como a geada, seca ou granizo. Para tanto, o segurado tem de garantir que o cultivo seja realizado nos períodos favoráveis indicados pelo zoneamento (BB SEGURO AGRÍCOLA, 2010).

Neste capítulo, serão abordados conceitos, condições de ocorrência, formas de controle e aspectos bioquímicos e morfoanatômicos relacionados à tolerância ao frio e à geada.

### **Geada**

Em meteorologia, considera-se a ocorrência de geada quando há deposição de gelo sobre objetos expostos durante a noite, quando a temperatura atinge 0 °C. Em agronomia, Pereira et al. (2002) definem a geada como um fenômeno atmosférico que

provoca a morte das plantas ou de suas partes (folha, caule, frutos, ramos) por causa da baixa temperatura do ar.

Sob o aspecto agrônômico, duas considerações são importantes: na ocorrência de geadas, pode ou não haver formação de gelo sobre as plantas; neste segundo caso, a morte pode ser causada tanto por ventos muito frios (geada de advecção), como pelo resfriamento radiativo com o ar muito seco (geada de radiação). Outro aspecto importante a ser considerado é que, mesmo com a formação de gelo sobre as plantas, pode não haver morte dos tecidos vegetais por elas estarem em repouso vegetativo (PEREIRA et al., 2002). Como exemplo, pode-se citar que as geadas que se registram no inverno, geralmente, são menos prejudiciais.

A ocorrência de geadas causa sérios danos às plantas, podendo provocar a morte dos tecidos, perdas de parte das plantas (folhas, colmos e grãos), morte total da vegetação, e maior suscetibilidade à incidência de pragas e doenças (PILAU et al., 2009).

No Brasil, a geada ocorre com certa frequência nas latitudes maiores que 19°S, atingindo a região sul de Minas Gerais e os estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo verificada nos estados da região Sul do País a maior intensidade de ocorrência e gravidade do fenômeno.

## **Fatores de ocorrência e classificação**

De acordo com Ometto (1981), geada é uma condição de ocorrência provisória, de estados de baixa energia. O estado de baixa energia é resultado de alguns condicionamentos especiais em decorrência de fatores físicos do meio ambiente. A formação de um estado de baixa energia condicionante da geada gera uma classificação quanto à sua gênese (origem): geada de advecção, geada de radiação ou geada mista.

A geada de advecção ocorre por causa do ar em movimento. A advecção de ar frio resulta da entrada de massas de ar frio originárias dos pólos e que chegam a atingir as regiões subtropicais. A massa de ar em deslocamento transfere com maior intensidade suas propriedades para as plantas que impõem uma barreira ao seu movimento, e o ar frio resseca a folhagem, causando sua morte. De acordo com Pereira et al. (2002), esse tipo de geada fica bem caracterizado por haver dano apenas de um lado da planta (aquele voltado para os ventos predominantes). O lado protegido da planta ou mesmo plantas situadas no interior de uma plantação vão interagir menos com a

massa, podendo até não ser afetadas, ou tendo apenas pequenas partes prejudicadas, geralmente a região dos ponteiros ou gema terminal (OMETTO, 1981). A denominação mais comum desse fenômeno é a geada de vento, embora o termo geada negra também seja utilizado por definir o resultado final da ocorrência (partes necrosadas).

A geada de radiação ocorre pelo resfriamento da superfície por perda de radiação (ondas longas) em noites com condições específicas de céu limpo, sem a ocorrência de vento, quando a região está sob a atuação de um centro de alta pressão. Nessa situação, durante o dia, o sol atua na superfície do solo, mantendo-o aquecido. Após o pôr-do-sol, a perda de energia da superfície por emissão de ondas longas provoca queda na temperatura da superfície, resultando num fenômeno de inversão térmica. A quantidade de vapor d'água caracteriza dois tipos diferentes de classificação de geada de radiação: a geada branca e a geada negra de radiação.

A geada branca ocorre quando o resfriamento noturno ocasiona a condensação de vapor d'água e seu posterior congelamento sobre a superfície. Como o nome diz, é a coloração final do processo de solidificação do orvalho sobre a superfície. A geada negra de radiação ocorre quando a atmosfera contém baixa concentração de vapor d'água e a perda de radiação da superfície é intensa, causando resfriamento acentuado da vegetação, atingindo a temperatura letal. Como a concentração de vapor d'água é baixa, não ocorre a formação de gelo. De acordo com Ometto (1981), o nome é dado não propriamente à geada em si, mas sim pela consequência de sua ocorrência.

A geada negra de radiação é um tipo mais severo e intenso, pois a baixa concentração de vapor d'água não resulta em condensação sobre folhas e caules, o que liberaria calor latente, fato que ajudaria a reduzir a velocidade da queda de temperatura. Nessa condição, a temperatura letal das plantas é atingida antes que haja a condensação do vapor d'água presente no ar (a temperatura do ponto de orvalho é menor que a temperatura letal). Assim, ocorre a morte do tecido vegetal sem que haja nas superfícies a formação de gelo. As geadas negras incidem com maior frequência nas cidades serranas e do Sul do País e chegam a ocorrer a qualquer hora do dia.

Um terceiro tipo de formação de geada é originado de uma condição mista – chamada, portanto, de geada mista. Nessa situação, ocorrem processos de perda de radiação e advecção sucessivamente. O ar próximo das superfícies torna-se cada vez mais frio e denso, comportando-se como um fluido, e qualquer variação da topografia local provoca uma movimentação da massa de ar, chamada de vento catabático (OMETTO,

1981). O vento catabático provoca em sua passagem danos nos vegetais, sempre em algum ponto acima do colo, dano que leva o nome de geada de canela.

Atualmente, há uma grande preocupação com os estudos referentes às mudanças climáticas globais. Alguns estudos demonstram que, apesar do aumento da temperatura média em boa parte do continente sul-americano, continuam a ser registradas ondas de frio intensas com temperaturas baixas recordes, tanto na Argentina quanto no Brasil. Considerando um histórico de dados obtidos entre 1888 e 2003, Pezza e Ambrizzi (2005) relatam que nos dois países a frequência de ondas de frio, que propiciam o surgimento de geadas, pouco mudará. Esse fato corrobora a importância de se considerar o zoneamento climático para a instalação de uma cultura agrícola em particular.

## **Efeito da geada nos vegetais**

De acordo com Pereira et al. (2002), a morte do tecido vegetal por frio é um processo físico-químico. Os mesmos autores, citando Heber e Santarius (1973), descrevem que quando a temperatura mínima – letal para a planta – é atingida, ocorre o congelamento da solução extracelular, resultando em desequilíbrio do potencial químico da água da solução intracelular em comparação ao potencial da solução extracelular. Segundo os referidos autores, isso gera um processo contínuo de perda de água da célula para o espaço extracelular, a fim de promover um equilíbrio, provocando a desidratação da célula e o congelamento da solução intracelular. O processo acarreta a ruptura da membrana plasmática.

A suscetibilidade das plantas às baixas temperaturas varia de acordo com a espécie e o estágio em que a planta se encontra no momento da geada (CAMARGO; COSTAS, 1983; WREGG et al., 2004). Os danos provocados dependem também do tempo em que a temperatura mínima permanece baixa. A literatura apresenta temperaturas mínimas letais para várias espécies agrícolas, mostrando plantas com resistência muito alta, como é o caso do trigo e da aveia, e plantas muito sensíveis, com resistência muito baixa, como o algodão, o arroz e o abacate (CUNHA et al., 2009; ROSEMBERG et al., 1983).

Em cana-de-açúcar, os efeitos da baixa temperatura são acentuados, pois quando essa planta é submetida às baixas temperaturas ela tem o ponteiro apical “queimado” e, em consequência, o seu crescimento é inibido. Para recuperar o crescimento das plantas, é necessário adubá-las (IRVINE, 1978).

Mesmo para as plantas mais resistentes, a sensibilidade à geada varia de acordo com a fase de desenvolvimento. Para as culturas como o trigo e o triticale, nos estádios iniciais de desenvolvimento, a geada causa poucos danos, pois as partes expostas são apenas as folhas que apresentam alta tolerância (PILAU et al., 2009). De acordo com Rosemberg et al. (1983), a temperatura letal para a fase germinativa seria de  $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Já para as fases de espigamento até o início da formação dos grãos, essas espécies apresentam pequena resistência às geadas; temperatura igual ou inferior a  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$  pode ser letal para as espigas (SCHEEREN, 1982).

O conhecimento das temperaturas letais de diferentes espécies cultivadas tem sua importância na identificação da aptidão de uma determinada espécie em uma região, servindo ainda como subsídio ao desenvolvimento de programas de melhoramento de plantas (PEREIRA et al., 2002). Em agrometeorologia, é importante relacionar a temperatura mínima letal às plantas com aquela disponibilizada em estações meteorológicas, visto que normalmente só estão disponíveis dados de temperatura mínima absoluta obtida nos abrigos meteorológicos.

Sentelhas et al. (1995) e Grodzki et al. (1996), em trabalhos nos estados de São Paulo e Paraná, determinaram que, em noites de geada, a diferença existente entre a temperatura mínima que ocorre na relva (que caracteriza a condição de uma folha exposta) e no abrigo meteorológico (situado a 1,5 m da superfície do solo) é em média de  $3\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , permitindo assim avaliar, com dados obtidos no posto meteorológico, os danos causados pelas geadas.

## Medidas de prevenção e controle

De acordo com Cunha et al. (2009), o que dá à geada o caráter de risco para a agricultura é a falta de uma regularidade cronológica, e isso dificulta a previsão do fenômeno. Esse fato exige estudos prévios probabilísticos, que, mesmo não isentando completamente de risco a atividade, ajudam a minimizar os problemas causados por geadas imprevistas.

Estudos probabilísticos podem estimar os níveis de risco de ocorrência de temperaturas mínimas absolutas, correlacionados com a ocorrência das temperaturas mínimas letais às plantas. Esses estudos combinados com ferramentas de geoestatística podem auxiliar na definição de locais e/ou épocas de plantio, separando regiões nas quais o risco é menor para o desenvolvimento das culturas.

Vários trabalhos podem ser encontrados na literatura sobre a probabilidade de ocorrência de temperaturas mínimas extremas e indicação de cultivo para diversas culturas nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (ASTHOLPHO et al., 2005; GRODZKI et al., 1996; MASSIGNAM; DITTRICH, 1998; OLIVEIRA et al., 1997). Esses estudos consideram a ocorrência de temperatura mínima no abrigo meteorológico e a temperatura mínima letal para as plantas nos diversos estádios fenológicos.

O conhecimento das temperaturas letais para as diferentes espécies cultivadas possibilita a escolha das mais adequadas para cada região em função do nível de tolerância às baixas temperaturas (PEREIRA et al., 2002). Em uma mesma espécie, a primeira medida de minimização de risco é a utilização de variedades tolerantes.

A prevenção de geadas também pode ser realizada com medidas de planejamento, levando em consideração fatores topo e microclimáticos, como a escolha do local de implantação de cultivos na bacia hidrográfica, a utilização de espaçamentos maiores entre linhas para a manutenção de solo desnudo, a eliminação de obstáculo ao escoamento do ar frio, o enterrio de mudas recém-plantadas e a utilização de arborização, entre outras providências.

Medidas de curto prazo também podem ser eficientes em casos específicos, como a utilização de irrigação, produtos químicos protetores aplicados sobre as plantas e o uso de coberturas protetoras. De modo geral, essas medidas emergenciais são viáveis e aplicáveis em pequenas áreas e em culturas agrícolas de alto valor comercial.

## **Tolerância ao frio e à geada**

A tolerância à geada é, em geral, medida pelos danos causados às folhas e pela sobrevivência das plantas no campo (LUDLOW, 1980), e está fortemente associada à tolerância a baixas temperaturas. A medida de  $LT_{50}$ , temperatura na qual 50% do tecido em uma folha ou 50% das folhas em uma planta são mortos é utilizada para estabelecer um ranking entre genótipos. Segundo o autor, essa avaliação é dificultada pelo confundimento com outros fatores bióticos e abióticos e pela variabilidade na ocorrência e severidade das geadas. Entre as forrageiras tropicais, as gramíneas são, em geral, mais tolerantes que as leguminosas. Há diferenças entre gêneros, espécies (BOTREL et al., 2002; LUDLOW, 1980; STAIR et al., 1998) e entre genótipos em uma mesma espécie,

tanto para gramíneas como para leguminosas (DAMÉ et al., 1998; HACKER et al., 1974; IVORY; WHITEMAN, 1978; JONES, 1969; SIMIONI et al., 1999).

A maior suscetibilidade das pastagens perenes à morte de plantas ocorre no primeiro inverno após o estabelecimento, e em pastagens estabelecidas predomina a morte de folhas (JONES, 1969). O estágio de desenvolvimento da planta e o estande menos denso poderiam provocar esse efeito, causando prejuízo maior por afetar a produção e estabilidade da pastagem a longo prazo.

Merece destaque o programa de melhoramento realizado na Universidade da Flórida para a espécie *Setaria sphacelata*, alcançando grande sucesso (JANK et al., 2002). O critério de seleção utilizado foi a sobrevivência a campo ao inverno, o que incluía a ocorrência de geadas. A herdabilidade estimada para o caráter variou de 0,35 a 0,5.

Outro aspecto da planta a ser considerado é a capacidade de aclimação ao frio (denominada “*cold hardening*”), ou o aumento na tolerância ao frio e à geada, dependendo das condições climáticas a que a planta foi submetida no período anterior. Assim, reduções graduais de temperatura se tornam menos danosas.

## **Características morfoanatômicas associadas à tolerância**

No desenvolvimento de cultivares tolerantes, algumas características morfológicas podem ser utilizadas como indicativo, ou como componentes de um ideótipo. Considerando que um dos estádios de maior suscetibilidade ao frio é o de plântula, assumem grande importância o vigor de plântula e a velocidade de estabelecimento. Essa característica pode ser classificada como um mecanismo de escape, uma vez que o que se busca é que a planta atinja rapidamente um estágio menos suscetível.

A presença de rizomas e estolões é uma das características associadas à tolerância ao frio e à geada. Quando ocorre a geada, há um gradiente de temperatura, sendo a mais alta à superfície do solo e a mais baixa na altura da superfície da pastagem (MARCELLOS; SINGLE, 1975 citado por LUDLOW, 1980). A temperatura volta a aumentar com a altura acima da superfície da pastagem. Assim, entendemos que a existência de pontos de crescimento protegidos permite a sobrevivência e o rebrote da planta, mesmo com a morte dos tecidos mais expostos. Plantas com hábito mais

prostrado também seriam favorecidas quando utilizadas em consorciação. Em plantas que não dispõem de rizomas ou estolões, um manejo mais alto do resíduo no período de risco poderá ter efeito semelhante, protegendo os meristemas. Essa estratégia tem sido denominada de “*frost avoidance*”, uma vez que com ela se evita que os meristemas sejam realmente submetidos às temperaturas de congelamento.

Os rizomas e estolões são responsáveis também por armazenar nutrientes. Essas reservas de nutrientes permitem à planta rebrotar rapidamente após o dano causado pela geada, assim como pela seca, fogo ou pastejo intensivo.

Outra característica morfológica que parece ter importância é a presença de tricomas (pilosidade) sobre as folhas. Há uma correlação entre a densidade de tricomas foliares e a resistência à geada, sugerindo que os tricomas podem possuir uma função de proteção das plantas (AGRAWAL et al., 2004). Essa função poderia estar associada à retenção de temperatura e/ou de umidade na superfície das folhas, caracterizando um mecanismo de *frost avoidance*. Entretanto, essa característica pode influenciar na aceitabilidade da forragem pelos animais.

Nas condições do Brasil meridional, que podem ser consideradas moderadas em relação às temperaturas mínimas atingidas, a capacidade de rebrote parece ser a característica-chave, pois permite que a planta recupere rapidamente a capacidade de realizar fotossíntese depois da morte de grande parte das folhas. Mais do que isso, uma grande capacidade de emitir perfilhos axilares tem sido determinante na adaptação, por exemplo, do capim-elefante Pioneiro e da *Megathyrus maximus* (Syn. *Panicum maximum*) cv. Aruana.

A verdadeira tolerância, entretanto, é resultante de características fisiológicas e bioquímicas intrínsecas, cujo crescente conhecimento poderá contribuir para uma seleção mais efetiva.

## **Bioquímica da suscetibilidade e tolerância das plantas ao frio e à geada**

A adaptação ao frio está associada com diversas modificações estruturais, fisiológicas e bioquímicas nas células vegetais, como também nos padrões de expressão de um específico conjunto de genes. Diferentes fatores desempenham um papel na

prevenção de danos celulares induzidos pelo congelamento. Entre eles, o acúmulo de açúcares solúveis e dos aminoácidos prolina (ALCÁZAR et al., 2011) e glicina-betaína (CHEN; MURATA, 2008), o aumento dos níveis de antioxidantes como as poliaminas (ALCÁZAR et al., 2011), a modulação da atividade de várias enzimas, chaperonas e de proteínas anticongelamento, e mudanças na composição de lipídios das membranas (WANG et al., 2006). Esses mecanismos de defesa são ativados nas plantas por sinais ambientais apropriados como a redução de temperatura e a redução do comprimento do dia durante o outono (KOSMALA et al., 2009).

Muitas culturas anuais originárias dos trópicos foram introduzidas, e, em geral, essas espécies são sensíveis ao frio. Culturas como algodão, milho, arroz e sorgo, cultivadas no início da primavera, estão sujeitas a danos por frio (HETHERINGTON et al., 1989). A suscetibilidade ao frio de leguminosas anuais, como o feijoeiro, pode estar relacionada, entre outras razões, à vulnerabilidade da maquinaria fotossintética ao frio (GAMALEI et al., 1992).

A redução da transpiração – causada por um aumento da viscosidade da água e pelo decréscimo da permeabilidade das raízes à água –, a redução da taxa respiratória – conduzindo a um decréscimo na disponibilidade de adenosina trifosfato (ATP), e, em consequência, a uma diminuição da síntese de produtos necessários para manter a integridade celular –, e o acúmulo de concentrações tóxicas de produtos glicolíticos são também efeitos fisiológicos causados pelo frio (HÄLLGREN et al., 1991).

A fotossíntese é um dos processos metabólicos mais afetados por extremos de temperatura (BAUER et al., 1985; 1990; CARVALHO et al., 1998; HÄLLGREN et al., 1991). Sob condições de campo, danos por frio nas folhas estão frequentemente associados a processos fotossintéticos. A exposição das folhas à baixa temperatura, na presença da luz, pode resultar em danos ao aparato fotossintético, um processo conhecido como fotoinibição da fotossíntese por frio (ALLEN; ORT, 2001). Isso ocorre, principalmente, em virtude da redução da eficiência de carboxilação do ciclo de Calvin (BAUER et al., 1985). Nesse caso, a redução na razão de fixação do CO<sub>2</sub> em razão da baixa temperatura leva a um inadequado suprimento do acceptor natural de elétrons, o NADP<sup>+</sup>, resultando em uma sobrerredução dos centros de reação dos fotossistemas (ÖQUIST; HUNER, 1993). Em consequência, o oxigênio molecular, em vez do NADP<sup>+</sup>, pode agir como um acceptor de elétrons, levando à formação de compostos tóxicos de oxigênio (ROBINSON, 1988).

A fotoinibição induzida por frio leva a uma redução na eficiência de conversão fotoquímica do fotossistema II (FSII) e pode ser avaliada mediante a cinética da fluorescência da clorofila A (KRAUSE; WEIS, 1984). Nesse contexto, Lichtenthaler e Rinderle (1988) inferem que a fluorescência da clorofila responde a mudanças nas reações fotoquímicas do FSII e, conseqüentemente, representa uma conveniente e rápida ferramenta para avaliar a capacidade da maquinaria fotossintética sob condições subótimas de temperatura, constituindo uma ferramenta para seleção de materiais que apresentem variabilidade quanto à tolerância ao congelamento (RAPACZ; WOZNICZKA, 2009).

A fixação limitada de CO<sub>2</sub> sob baixas temperaturas, no inverno e na primavera, pode favorecer a fotoinibição, mesmo sob baixos níveis de irradiância. A tolerância à fotoinibição induzida pelo frio parece estar estreitamente ligada à tolerância ao congelamento, uma relação que se deve parcialmente a mecanismos comuns de aclimação a ambos os estresses (SANDVE et al., 2011).

Dados proteômicos obtidos por Kosmala et al. (2009) demonstraram que há diferenças de respostas ao frio na espécie *Festuca pratensis*, indicando diferentes níveis de tolerância à geada. O trabalho também relata que metade das 41 proteínas que separam os grupos altamente tolerante e pouco tolerante à geada, em termos de quantidade produzida, também estão relacionadas ao aparato fotossintético da planta.

O conhecimento da cinética da fluorescência modulada, essencial para fornecer informações sobre a cinética rápida, que se relaciona aos processos primários do FSII e sobre a cinética lenta, relacionada principalmente a eventos ocorrentes nos tilacoides, bem como eventos metabólicos no estroma, é de especial interesse para se conhecer o grau de severidade de diversos estresses para a planta, dentre os quais o frio (BOLHÀR-NORDENKAMPF; ÖQUIST, 1993).

A fotoinibição induz à produção de espécies ativas de oxigênio, que podem causar a degradação dos fotossistemas, peroxidação de lipídios das membranas tilacoidais e inativação das enzimas no metabolismo do carbono (ASADA, 2000). O termo espécie ativa de oxigênio é genérico, abrangendo não somente radicais livres, como superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) e radical hidroxila (OH<sup>•</sup>), mas também peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (NOCTOR; FOYER, 1998).

O <sup>1</sup>O<sub>2</sub> é produzido pela adição de energia ao oxigênio, sem que ocorra a adição de um elétron. A adição de um elétron ao oxigênio no estado fundamental resulta no radical O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, enquanto um elétron adicional e mais dois prótons produzem o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

A adição de um elétron e um próton ao  $H_2O_2$  forma outro radical derivado do oxigênio, o radical OH (ASADA, 1994; MALLICK; MOHN, 2000).

Os radicais superóxidos ( $O_2^{\bullet-}$ ) e seus derivados, radicais hidroxílicos ( $OH^{\bullet}$ ) e o oxigênio singleto ( $^1O_2$ ) são reconhecidamente os principais causadores de danos peroxidativos a vários componentes celulares, como ácidos graxos, proteínas, ácidos nucleicos e clorofilas (SCANDALIOS, 1993).

O radical hidroxila é altamente reativo, oxidando a maioria dos compostos orgânicos a taxas controladas quase totalmente por sua difusão. Em virtude da sua elevada reatividade, é um composto indiscriminado, reagindo com o primeiro substrato disponível. Possui, assim, um elevado potencial destrutivo e mutagênico. Por estarem ligadas ao local de formação desse composto reativo, as membranas de cloroplastos são particularmente suscetíveis (ASADA, 1994).

Acredita-se que a toxidez do  $O_2^{\bullet-}$  e  $H_2O_2$  reside na possibilidade de iniciarem reações em cascata, o que resulta na formação de  $OH^{\bullet}$ , entre outros compostos. Essas reações danosas em cascata são prevenidas pela eficiente operação das defesas antioxidantes celulares (NOCTOR; FOYER, 1998).

A peroxidação dos lipídios de membranas está associada com injúrias observadas sob baixas temperaturas (O’KANE et al., 1996) e tem início com a retirada de um átomo de hidrogênio das moléculas de ácidos graxos insaturados (BUEGE; AUST, 1978). O subsequente rearranjo das ligações duplas resulta na formação de dieno conjugado, que, após o ataque por oxigênio molecular, produz radicais peroxilipídicos e endoperóxidos (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 1990). A formação de endoperóxidos, em ácidos graxos insaturados, apresentando, pelo menos, três metilenos interrompidos por ligações duplas, pode resultar na formação de aldeído malônico (MDA), um produto da degradação dos lipídios (BUEGE; AUST, 1978).

Em geral, a exposição das plantas a algum fator de estresse ambiental resulta no aumento da atividade do seu sistema antioxidativo (GOSSET et al., 1994; HARPER; HARVEY, 1978; SPYCHALLA; DESBOROUGH, 1990; YORDANOVA et al., 2004).

## Sistema antioxidativo

O termo antioxidante pode ser empregado para descrever qualquer composto capaz de extinguir uma espécie ativa de oxigênio sem sofrer conversão a um radical

destrutivo (ROSE; BODE, 1993). Enzimas antioxidantes, tais como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX), podem eliminar as espécies ativas de oxigênio. Em conjunto com essas enzimas, pode atuar o sistema antioxidativo não enzimático, no qual atuam compostos antioxidantes, como o ácido ascórbico (AsA), glutathiona reduzida (GSH) e  $\beta$ -caroteno, os quais desempenham um papel importante na remoção dessas formas tóxicas de oxigênio (EL-SAHT, 1998).

## Sistema antioxidativo não enzimático

O ascorbato (As) pode ser sintetizado por todas as espécies vegetais e se acumular tanto em tecidos fotossintéticos quanto em tecidos não fotossintéticos (FOYER; ROWELL, 1983). Muitas das funções atribuídas ao As são pouco elucidadas. No entanto, é evidente que o As é o maior antioxidante primário, reagindo diretamente com  $O_2^{\bullet-}$ ,  $^1O_2$  e  $OH^{\bullet}$  (NOCTOR; FOYER, 1998). O As também é um eficiente antioxidante secundário, reduzindo a forma oxidada do  $\alpha$ -tocoferol, um importante antioxidante em fase não aquosa (PADH, 1990).

A GSH é um tripeptídeo ( $\gamma$ -glu-cys-gly), que ocorre juntamente com a sua forma oxidada (GSSG). Em plantas, o significado fisiológico da GSH pode ser dividido em duas categorias: metabolismo de enxofre (LAPPARTIENT; TOURAINE, 1997) e defesa (NOCTOR; FOYER, 1998), atuando como importante antioxidante e tampão redox (FOYER; HALLIWELL, 1976).

O As pode reagir diretamente com o  $O_2^{\bullet-}$ ,  $OH^{\bullet}$  e  $^1O_2$ , além de remover o  $H_2O_2$ , em reações conjuntas com a GSH, em reações que constituem o chamado ciclo do ascorbato-glutathiona. A GSH também pode ser oxidada diretamente via reação com  $OH^{\bullet}$  e  $^1O_2$  (FOYER et al., 1994).

## Sistema antioxidativo enzimático

As superóxido-dismutases (SOD) (E.C. 1.15.1.1) constituem um grupo de enzimas que aceleram a conversão do radical ânion superóxido ( $O^{\bullet-2}$ ) em  $H_2O_2$  (SALIN, 1988). A catalase (CAT) (EC 1.11.1.6), a L-ascorbato peroxidase (APOX) (EC 1.11.1.11) e grande número de outras peroxidases catalisam a quebra de  $H_2O_2$ . As APOX são consideradas as enzimas mais importantes para eliminação de  $H_2O_2$  no citossol e

cloroplasto (INZÉ; MONTAGU, 1995). No ciclo ascorbato-glutationa, a ação enzimática da APOX produz radicais monodehidroascorbato, que podem dismutar espontaneamente para ascorbato (As) e dehidroascorbato (DAs) ou ser enzimaticamente reduzidos a As pela monodehidroascorbato redutase dependente de NADPH (MDHAR) (E.C. 1.6.5.4). Também o DAs é reduzido enzimaticamente a As, numa reação mediada pela dehidroascorbato redutase dependente de GSH (DHAR) (glutationa desidrogenase, E.C. 1.8.5.1). A glutaciona oxidada (GSSG) resultante pode então ser convertida de volta em GSH por uma glutaciona redutase dependente de NADPH (GR) (E.C. 1.6.5.4) (DALTON, 1995) (Figura 1).

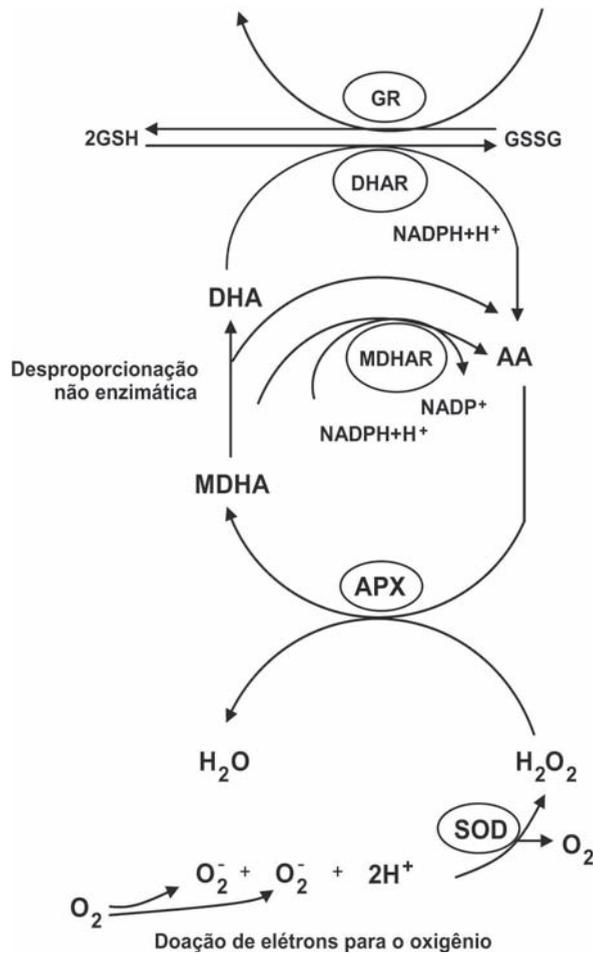


Figura 1. Ciclo do ascorbato-glutationa.

Fonte: Noctor e Foyer (1998).

## Estresse oxidativo e tolerância ao frio

Takat (2004) observou que a exposição de plântulas de milho ao frio ocasionou um decréscimo no teor de clorofilas, aparecimento de lesões necróticas e inibição do crescimento. As atividades de superóxido-dismutase, catalase, ascorbato peroxidase e glutatona redutase estiveram relacionadas com os danos encontrados e mostraram diferenças significativas entre as duas cultivares estudadas. O extravasamento de eletrólitos demonstrou ser um método efetivo para a caracterização do nível de tolerância ao frio nas cultivares estudadas.

O aumento dos teores de prolina e açúcares ocorre com a aclimação ao frio em uma grande variedade de plantas e parece contribuir para o aumento da tolerância ao congelamento, em parte, ao estabilizar as membranas (THOMASHOW, 2001). O acúmulo de frutanas, polímeros de frutose, encontrados como carboidratos de reserva em gramíneas de clima temperado, constitui fator importante de aclimação ao frio (HISANO et al., 2008) e possivelmente esteja associado ao aumento da tolerância ao congelamento (HISANO et al., 2004), ao promover a estabilidade de membranas durante a dessecação por congelamento (“*freeze-drying*”) (HINCHA et al., 2007; LIVINGSTON III et al., 2009).

Sarkar et al. (2009), ao avaliarem 20 linhagens de *Agrostis stolonifera* (L.) expostas a baixa temperatura, verificaram correlação elevada entre eficiência fotoquímica, acúmulo de prolina, acúmulo de fenóis e atividade antioxidante. Os resultados sugerem que o acúmulo de fenóis contribui para a tolerância elevada ao estresse por frio. A atividade antioxidante alta de linhagens ricas em fenóis está relacionada à síntese de prolina acoplada à via das pentoses-fosfato, que conduz simultaneamente ao estímulo de enzimas antioxidantes (SARKAR et al., 2009).

Funatsuki et al. (2003), em estudo para entender os mecanismos genéticos e fisiológicos que fundamentam a tolerância ao frio em soja, detectaram polimorfismo no perfil isoenzimático da ascorbato peroxidase e dois tipos de cultivares e linhagens: com e sem a isoforma citossólica (APX1). Os tipos deficientes em APX1 provaram ser mais tolerantes a baixas temperaturas.

Kuk et al. (2003), ao buscarem respostas fisiológicas de plantas de arroz ao frio, observaram uma indução significativa na expressão e na atividade das enzimas antioxidativas catalase, ascorbato peroxidase em folhas e superóxido-dismutase, catalase, ascorbato peroxidase e glutatona redutase em raízes. Os resultados demonstraram que a catalase e a ascorbato peroxidase são mais importantes para a aclimação e tolerância ao frio. Observaram também que o aumento da atividade de enzimas antioxidantes nas raízes é mais importante para a tolerância ao frio do que o aumento dessa atividade na parte aérea. Concluíram que plantas sensíveis ao resfriamento podem se tornar tolerantes pela aclimação ao frio.

## Deidrinas e a tolerância ao congelamento

As deidrinas representam um dos grupos das proteínas *Late Embryogenesis Abundant* (LEA), que, entre outros fatores, contribuem para a tolerância à dessecação em condições que levam à desidratação das células como deficit hídrico, salinidade e temperaturas baixas (ALLAGULOVA et al., 2003). Estudos recentes demonstram que em plantas de trigo e cevada expostas ao frio há acúmulo de deidrinas e seus transcritos tanto em genótipos tolerantes como nos sensíveis ao congelamento. Isso ocorre mesmo quando as plantas se desenvolvem sob temperaturas moderadamente frias (9 °C a 20 °C). No entanto, os níveis de transcritos e da proteína correlacionaram-se com a tolerância ao congelamento, permitindo a seleção sem necessidade de exposição ao frio severo. Tratam-se de marcadores úteis e confiáveis da tolerância à geada nessas gramíneas, podendo ser estudados também para forrageiras, embora não constituam um marcador universal, tampouco único. Uma vez que a tolerância ao congelamento envolve a expressão de muitos genes, vários outros componentes estão envolvidos no mecanismo de tolerância ao frio, como o teor de açúcares solúveis e outros crioprotetores, como a composição de fosfolipídios da plasmalema e membrana citoplasmática e mudanças no aparato fotossintético, entre outros (KOSOVÁ et al., 2011).

## Referências

AGRAWAL, A. A.; CONNER, J. K.; STINCHCOMBE, J. R. Evolution of plant resistance and tolerance to frost damage. *Ecology Letters*, Oxford, v. 7, p. 1199-1208, 2004.

- ALCÁZAR, R.; CUEVAS, J. C.; PLANAS, J.; ZARZA, X.; BORTOLOTTI, C.; CARRASCO, P.; SALINAS, J.; TIBURCIO, A. F.; ALTABELLA, T. Integration of polyamines in the cold acclimation response. **Plant Science**, Limerick, v. 180, p. 31-38, 2011.
- ALLAGULOVA, C. R.; GIMALOV, F. R.; SHAKIROVA, F. M.; VAKHITOV, V. A. The plant dehydrins: structure and putative functions. **Biochemistry**, Moscow, v. 68, p. 945-951, 2003
- ALLEN, D. J.; ORT, D. R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, p. 36-42, 2001.
- ASADA, K. Scavenging reactive molecules in chloroplasts. In: BAKER, N. R.; BOWYER, J. R. **Photoinhibition of photosynthesis: from molecular mechanisms to the field**. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1994. p. 129-142.
- ASADA, K. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Bulletin of Biological Science**, [S.l.], v. 355, p. 1419-1431, 2000.
- ASTOLPHO, F.; CAMARGO, M. B. P.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; PALLONE FILHO, W. P.; BARDIN, L. Regionalização de riscos de ocorrência de temperaturas mínimas absolutas anuais para o Estado de São Paulo com base em modelos probabilísticos e digitais de elevação. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 1, p. 139-148, 2005.
- BAUER, H.; WIEREER, R.; HATHEWAY, W. H.; LARCHER, W. Photosynthesis of *Coffea arabica* after chilling. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, DK, 64, p. 449-454, 1985.
- BB SEGURO AGRÍCOLA. Disponível em: <<http://www.bb.com.br/docs/pub/voce/dwn/SegAgric0607.pdf>>. Acesso em: 16 nov. 2010.
- BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; ÖQUIST, G. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D. O.; SCURLOCK, J. M. O.; BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOOD, R. C. **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London, GB: Chapman & Hall, 1993. p. 192-206.
- BOTREL, M. A.; ALVIM, M. J.; FERREIRA, R. P.; XAVIER, D. F. Potencial forrageiro de gramíneas em condições de baixas temperaturas e altitude elevada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, p. 393-398, 2002.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, New York, v. 52, p. 302-310, 1978.
- CAMARGO, A. P.; COSTAS, R. C. S. M. **Geada**. Campinas: Cecor-Dextru : Cati, 1983. 17 p. (Cati, Telecurso Rural, 12).

**Capítulo 4** – Características morfoanatômicas e fisiológicas de gramíneas associadas à tolerância ao frio e à geadas

CARVALHO, L. M.; SILVA, E. A. M.; MOSQUIM, P. R.; AZEVEDO, A. A.; CECON, P. R. Alterações morfológicas em cafeeiros submetidos a baixas temperaturas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 10, p. 131-136, 1998.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Glycinebetaine: an effective proctetant against abiotic stress in plants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 13, p. 499-505, 2008.

CUNHA, G. R.; PIRES, J. L. F.; DALMAGO, G. A.; CALERÃO, E.; PASINATO, A. Trigo. In: MONTEIRO, J. E. B. de A. (Org.). **Agrometeorologia dos cultivos: o fator meteorológico na produção agrícola**. Brasília, DF: Instituto Nacional de Meteorologia, 2009. p. 279-294.

DALTON, D. A. Antioxidant defenses in plants and fungi. In: AHMAD, S. **Oxidative stress and antioxidant defenses in biology**. New York: Chapman and Hall, 1995. p. 298-355.

DAMÉ, P. R. V.; REIS, C. L.; SIEWERDAT, S. L.; SILVA, J. B. Produção e qualidade de forragem de acessos de *Arachis pintoi* em condições de clima temperado no litoral sul do Rio Grande do Sul. **Agropecuária de Clima Temperado**, Pelotas, v. 1, p. 235-243, 1998.

EL-SAHT, H. M. Responses to chilling stress in French bean seedlings: antioxidant compounds. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 41, p. 395-402, 1998.

FOYER, C. H.; DESCOURVIERES, P.; KUNERT, K. I.; Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 17, p. 507-523, 1994.

FOYER, C. H.; HALLIWELL, B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplast: a proposed role in ascorbic acid metabolism. **Planta**, [S.l.], v. 133, p. 21-25, 1976.

FOYER, C. H.; ROWELL, J.; WALKER, D. Measurements of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplast during illumination. **Planta**, [S.l.], v. 157, p. 239-244, 1983.

FUNATSUKI, H.; KUROSAKI, H.; MURAKAMI, T.; MATSUBA, S.; KAWAGUCHI, K.; YUMOTO, S.; SATO, Y. Deficiency of a cytosolic ascorbate peroxidase associated with chilling tolerance in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 106, n. 3, p. 494-502, 2003.

GAMALEI, Y. V.; PAKHOMOVA, M. V.; SYUTKINA, V. Ecological aspects of assimilate outflow. I. Temperature. **Soviet Plant Physiology**, Washington, DC, v. 39, p. 705-712, 1992.

GOSSET, D. R.; MILLHOLLON, E. P.; LUCAS, M. C. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. **Crop Science**, Madison, v. 34, p. 706-714, 1994.

GRODZKI, L.; CARAMORI, P. H.; BOOTSMA, A.; OLIVEIRA, D.; GOMES, J. Riscos de ocorrência de geadas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 4, n. 1, p. 93-99, 1996.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. **TIBS – Trends in Biochemical Sciences**, [S.l.], v. 15, p. 129-135, 1990.

HACKER, J. B.; FORDE, B. J.; GOW, J. M. Simulated frosting of tropical grasses. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 25, n. 1, p. 45-57, 1974.

HÄLLGREN, J. E.; STRAND, M.; LUNDMARK, T. Temperature stress. In: RAGHAVENDRA, A. S. **Physiology of trees**. New York: John Wiley & Sons, 1991. p. 301-315.

HARPER, D. B.; HARVEY, B. M. R. Mechanisms of paraquat tolerance in perennial ryegrass. II. Role of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 1, p. 211-215, 1978.

HETHERINGTON, S. E.; HE, J.; SMILLIE, R. M. Photoinhibition at low temperature in chilling-sensitive and -resistant plants. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 90, p. 1609-1615, 1989.

HINCHA, D. K.; LIVINGSTON III, D. P.; PREMAKUMAR, R.; ZUTHER, E.; OBEL, N.; CACELA, C.; HEYER, A. G. Fructans from oat and rye: composition and effects on membrane stability during drying. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, NL, v. 1768, p. 1611-1619, 2007.

HISANO, H.; KANAZAWA, A.; KAWAKAMI, A.; YOSHIDA, M.; SHIMAMOTO, Y.; YAMADA, T. Transgenic perennial ryegrass plants expressing wheat fructosyltransferase genes accumulate increased amounts of fructan and acquire increased levels of freezing tolerance. **Plant Science**, [S.l.], v. 167, p. 861-868, 2004.

HISANO, H.; KANAZAWA, A.; YOSHIDA, M.; HUMPHREYS, M. O.; IIZUKA, M.; KITAMURA, K.; YAMADA, T. Coordinated expression of functionally diverse fructosyltransferase genes is associated with fructan accumulation in response to low temperature in perennial grasses. **New Phytologist**, Cambridge, v. 178, p. 766-780, 2008.

INZÉ, D.; MONTAGU, M. V. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, London, GB, v. 6, p. 153-158, 1995.

IRVINE, J. E. Identification of cold tolerance in *Saccharum* and related genera through refrigerated freeze screening. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 16., 1978, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: The Executive Committee of the ISSCT, 1978. p. 147-156.

IVORY, D. A.; WHITEMAN, P. C. Effects of environment and plant factors on foliar freezing resistance in tropical grasses. II. Comparison of frost resistance between cultivars of *Cenchrus ciliaris*, *Chloris gayana* and *Setaria anceps*. **Australian Journal of Agricultural Research**, Austrália, v. 29, n. 2, p. 261-266, 1978.

**Capítulo 4** – Características morfoanatômicas e fisiológicas de gramíneas associadas à tolerância ao frio e à geada

JAKOB, B.; HEBER, U. Photoproduction and detoxification of hydroxyl radicals in chloroplasts and leaves in relation to photoinactivation of photosystems I and II. **Plant Cell Physiology**, Bethesda, v. 37, p. 629-635, 1996.

JANK, L.; QUESENBERRY, K. H.; BLOUNT, A. R. S.; MISLEVY, P. Selection in *Setaria sphacelata* for winter survival. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, NC, v. 45, p. 273-281, 2002.

JONES, R. M. Mortality of some tropical grasses and legumes following frosting in the first winter after sowing. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v. 3, n. 1, p. 57-63, 1969.

KOSMALA, A.; BOCIAN, A.; RAPACZ, M.; JURCZYK, B.; ZWIERZYKOWSKI, Z. Identification of leaf proteins differentially accumulated during cold acclimation between *Festuca pratensis* plants with distinct levels of frost tolerance. **Journal of Experimental Botany**, London, GB, v. 60, n. 12, p. 3595-3609, 2009.

KOSOVÁ, K.; VÍTÁMVÁS, P.; PRÁŠIL, I.T.; RENAUT, J. Plant proteome changes under abiotic stress - contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Journal of Proteomics**, Amsterdam, NL, v. 74, p. 1301-1322, 2011.

KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology II: interpretation of fluorescence signals. **Photosynthesis Research**, Madison, v. 5, p. 139-157, 1984.

KUK, Y. I.; SHIN, J. S.; BURGOS, N. R.; HWANG, T. E.; HAN, O.; CHO, B. H.; JUNG, S. Y.; GUH, J. O. Antioxidative enzymes offer protection from chilling in rice plants. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 6, p. 2109-2117, 2003.

LAPPARTIENT, A. G.; TOURAINE, B. Glutathione-mediated regulation of ATP sulfurylase activity, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> uptake and oxidative stress response in intact canola roots. **Plant Physiology**, Reading, MA, v. 114, p. 177-183, 1997.

LICHTENTHALER, H. K.; RINDERLE, U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions of stress conditions in plants. **CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry**, Boca Raton, v. 19, p. 29-85, 1988.

LIVINGSTON III, D. P.; HINCHA, D. K.; HEYER, A. G. Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 66, p. 2007-2023, 2009.

LUDLOW, M. M. Stress physiology of tropical pasture plants. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v. 14, n. 3, p. 136-145, 1980.

LYND, J. Q.; ANSMAN, T. R. Soil Fertility effects on growth, nodulation, nitrogenase and seed lectin components of jack bean (*Canavalia ensiformis* L.) D. C.) **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 12, p. 563-579, 1989.

- MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. *J. Plant Physiology*, Reading, MA, v. 157, p. 183-193, 2000.
- MASSIGNAM, A. M.; DITTRICH, R. C. Estimativa do número médio e da probabilidade mensal de ocorrência de geadas para o Estado de Santa Catarina. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 6, n. 2, p. 213-220, 1998.
- MATTA, F. M. da; MAESTRI, M. Photoinhibition and recovery of photosynthesis in *Coffea arabica* and *C. canephora*. *Photosynthetica*, Prague, v. 34, p. 439-446, 1997.
- NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbatye and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v. 49, p. 249-279, 1998.
- O'KANE, D.; GILL, V.; BOYD, P.; BURDON, R. Chilling, oxidative stress and antioxidants responses in *Arabidopsis thaliana* callus. *Planta*, Berlin, DE, v. 198, p. 371-377, 1996.
- OLIVEIRA, H. T.; BERLATO, M. A.; FONTANA, D. C. Probabilidade de ocorrência de geada no Estado do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 10., 1997, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba, 1997, p. 77-79.
- OMETTO, J.C. *Bioclimatologia vegetal*. São Paulo: Ceres, 1981. 440 p.
- ÖQUIST, G.; HUNER, N. P. A. Cold-hardening induced resistance to photoinhibition of photosynthesis in winter rye is dependent upon and increased capacity for photosynthesis. *Planta*, Berlin, DE, v. 189, p. 150-156, 1993.
- PADH, H. Cellular functions of ascorbic acid. *Biochemistry and Cell Biology*, Ottawa, CA, v. 68, p. 1166-1173, 1990.
- PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. *Agrometeorologia: fundamentos e aplicações práticas*. Guaíba: Agropecuária, 2002. 478 p.
- PEZZA, A. B.; AMBRIZZI, T. Cold waves in South America and freezing temperatures in São Paulo: historical background (1888-2003) and case studies of cyclone and anticyclone tracks. *Revista Brasileira de Meteorologia*, São José dos Campos, v. 20, n. 1, 141-158, 2005.
- PILAU, F. G.; CARON, B. O.; SCHMIDT, D.; SOUZA, V.Q.; MANFRON, P. A. Triticale. In: MONTEIRO, J. E. B. de A. (Org.). *Agrometeorologia dos cultivos: o fator meteorológico na produção agrícola*. Brasília, DF: Instituto Nacional de Meteorologia, 2009. p. 295-310.
- RAPACZ, M.; WOZNICZKA, A. A selection tool for freezing tolerance in common wheat using the fast chlorophyll a fluorescence transient. *Plant Breeding*, Berlin, DE, v. 128, p. 227-234, 2009.

**Capítulo 4** – Características morfoanatômicas e fisiológicas de gramíneas associadas à tolerância ao frio e à geada

- ROBINSON, J. M. Does O<sub>2</sub> photoreduction occur in chloroplasts *in vitro*? **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 72, p. 666-780, 1988.
- ROSE, R. C.; BODE, A. M. Biology of free radicals scavengers: an evaluation of ascorbate. **The FASEB Journal**, [S.l.], v. 7, n. 12, p. 1135-1142, 1993.
- ROSENBERG, N. J.; BLAD, B. L.; VERMA, S. B. **Microclimate**: the biological environment. New York: John Wiley & Sons, 1983. 495 p.
- SALIN, M. L. Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, DK, v. 72, p. 681-689, 1988.
- SANDVE, S. R.; KOSMALA, A.; RUDI, H.; FJELLHEIM, S.; RAPACZ, M.; YAMADA, T.; ROGNLI, O. A. Molecular mechanisms underlying frost tolerance in perennial grasses adapted to cold climates. **Plant Science**, Limerick, v. 180, p. 69-77, 2011.
- SARKAR, D.; BHOWMIK, P. C.; KWON, Y.; SHETTY, K. Clonal response to cold tolerance in creeping bentgrass and role of proline-associated pentose phosphate pathway. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, p. 5332-5339, 2009.
- SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxid dismutases. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 101, p. 7-12, 1993.
- SCHEEREN, P. L. Danos de geada em trigo: avaliação preliminar de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 17, p. 853-858, 1982.
- SENTELHAS, P. C.; ORTOLANI, A. A.; PEZZOPANE, J. R. M. Estimativa de temperatura mínima de relva e da diferença entre o abrigo e a relva, em noites de geada. **Bragantia**, Campinas, v. 54, n. 2, p. 437-445, 1995.
- SIMIONI, C.; PAIM, N. R.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Tolerância ao frio e caracterização de híbridos entre *Leucaena leucocephala* e *L. diversifolia*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 453-458, 1999.
- SPYCHALLA, J. P.; DESBOROUGH, S. L. Superoxide dismutase, catalase, and alpha-tocopherol content of stored potato tuber. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 94, p. 1214-1218, 1990.
- STAIR, D. W.; DAHMER, M. L.; BASHAW, E. C.; HUSSEY, M. A. Freezing tolerance of selected *Penisetum* species. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 159, n. 4, p. 599-605, 1998.
- TAKAT, T. The relationship of antioxidant enzymes and some physiological parameters in maize during chilling. **Plant, Soil and Environment**, [S.l.], v. 50, n. 1, p. 27-32, 2004.
- THOMASHOW, M. F. So what's new in the field of plant cold acclimation? Lots! **Plant Physiology**, Rock Vile, v. 125, p. 89-93, 2001.