

EFEITOS DA BAIXA TEMPERATURA NO CRESCIMENTO E NOS TEORES DE AÇÚCARES SOLÚVEIS E DE PROLINA EM DOIS CULTIVARES DE FEIJÃO ¹

Susana Cristine Siebeneichler²

Renato Sant'Anna³

Carlos Alberto Martinez⁴

Paulo Roberto Mosquim⁴

José Cambraia³

José Mauro Chagas⁵

RESUMO

Com a finalidade de avaliar algumas alterações morfológicas e nos teores de açúcares e prolina, associadas à tolerância das plantas de feijão ao frio, dois cultivares, um mais sensível (cv. Milionário 1732) e um mais tolerante (cv. Vermelho 2157), foram submetidos a estresse térmico noturno de 5°C, por 12 horas, durante sete dias, no estágio de primeira folha trifoliolada (V3), terceira folha trifoliolada (V4), florescimento (R6) e enchimento de vagens (R8). Observou-se que o estresse por frio causa espessamento da lâmina foliar e redução do crescimento das plantas dos dois cultivares, principalmente nos estádios vegetativos. Nos estádios reprodutivos, o cv. Milionário 1732 apresentou-se mais sensível ao frio, com base na massa seca de frutos. O incremento no teor de açúcares não-redutores foi maior no cv. Vermelho 2157, confirmando sua maior tolerância ao frio.

¹ Aceito para publicação em 04.01.2000. Projeto financiado pelo CNPq e FINEP.

² Bolsista do CNPq – FAPEMIG UENF. 28015-620 Campos dos Goytacazes, RJ e-mail: sieben@uenf.br

³ Dep. de Biologia Geral, UFV. 36571-000 Viçosa, MG.

⁴ Dep. de Biologia Vegetal, UFV. 36571-000 Viçosa, MG. e-mail: camar@mail.ufv.br

⁵ EMBRAPA/EPAMIG – CRZM, Cx. P. 216. 36571-000 Viçosa, MG.

Neste experimento, o aumento no teor de prolina não foi um indicador confiável de resistência da planta ao frio.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris*, estresse por frio, crescimento da planta.

ABSTRACT

LOW TEMPERATURE EFFECTS ON THE GROWTH AND LEVELS OF SOLUBLE SUGARS AND PROLINE IN TWO BEAN CULTIVARS

Changes in sugars and proline levels and morphological changes induced by low temperature stress were studied in the bean cultivars Milionário 1732 and Vermelho 2157, respectively more sensitive and more tolerant to cold. Plants were exposed to night temperatures of 5°C during 12 hours for 7 days in two vegetative (the first trifoliate and the third trifoliate) and two reproductive stages of development (blooming and seed filling). The cold treatment caused leaf blade thickening and plant growth decrease in both cultivars, mainly in the vegetative stages. As regards to the reproductive stages, cv. Milionário showed higher cold sensitivity, based on dry fruit mass. The non-reducing sugar levels had a higher increase in the cv. Vermelho, an evidence of its greater cold tolerance. Proline level increase, however, was not considered a reliable cold tolerance indicator.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, chilling stress, plant growth.

INTRODUÇÃO

O cultivo do feijão, no Estado de Minas Gerais, é realizado em três períodos: “das águas”, “da seca” e “de inverno”, correspondendo a esse último 30% da produção total de feijão no Estado. Em alguns municípios, a semeadura na safra de inverno é feita entre os meses de abril e julho, período em que a temperatura pode ser inferior a 10°C, tomando-se um dos fatores limitantes para sua produtividade (9).

O dano causado à planta, por temperaturas entre 0 e 10°C, acima do ponto de congelamento, pode ser reversível ou irreversível em plantas tropicais, dependendo do tempo de exposição e da suscetibilidade da planta, que pode variar conforme as suas idades cronológica e fisiológica e o seu genótipo (7, 8, 14, 23, 24, 25, 35).

Segundo Van Dobben et al. (34), baixas temperaturas retardam a taxa de crescimento em maior extensão que a taxa de assimilação de CO₂, especialmente em plantas de clima temperado e, também, em espécies de clima tropical, como milho e feijão. Os mesmos autores verificaram aumento nos teores de carboidratos nos sítios de reserva, os quais não foram, imediatamente, utilizados para o desenvolvimento de novos tecidos.

As alterações morfológicas que ocorrem em uma planta, após estresse térmico, podem ser resultantes da adaptação ao novo ambiente. Griffith et al. (15) verificaram que as folhas de *Solanum commersonii*, desenvolvidas a 12/9°C e 5/2°C (dia/noite), foram 39% mais espessas, e sua área foliar cinco vezes menor que a das plantas desenvolvidas sob 20/16°C (dia/noite). Plantas de espinafre, cultivadas a 5°C, apresentaram desenvolvimento retardado e formação de duas ou três camadas de parênquima paliçádico (7). Plantas de amendoim, mantidas durante 12 dias, sob 18/13°C (dia/noite), apresentaram redução no número de folhas e na massa seca; sob temperatura de 15/10°C (dia/noite), não houve formação de novas folhas (3).

As plantas, ao serem submetidas a baixas temperaturas, podem acumular substâncias crioprotetoras, tais como: di e trissacarídeos, polióis, sorbitol, compostos amônios quaternários, glicinabetaina, prolina e poliaminas (16, 35).

A piruvato cinase, a fosfofrutocinase e a fosfotransferase dependente de pirofosfato são enzimas termossensíveis da glicólise (16), as quais podem reduzir sua atividade durante o processo de aclimatação à baixa temperatura, para posterior ajuste do metabolismo. Este ajuste pode provocar aumento no teor de açúcares crioprotetores nos tecidos fotossintéticos, participando de um mecanismo de tolerância desencadeado pela planta (16). Koster e Lynch (22) consideram os açúcares (sacarose, monossacarídeos e rafinose) como crioprotetores, quando eles se encontram acumulados em compartimentos extravacuolares. Em plantas de centeio, estes autores constataram que 84% dos açúcares (44% de sacarose, 29% de monossacarídeos e 27% de rafinose) foram acumulados no protoplasto, porém fora do vacúolo, estando disponíveis para exercer efeito crioprotetor.

Dentro dos crioprotetores, um dos mais bem-estudados é a prolina, um iminoácido que pode ser acumulado nas plantas sob condição de estresse, como salino (26), hídrico (37) e de temperatura (2). A prolina é um soluto intracelular não-tóxico, que protege a célula contra os efeitos de hiperosmolaridade, induzida pela desidratação da célula, durante o processo de congelamento lento (37). Esse iminoácido, acumulado em plantas submetidas a vários tipos de estresse, pode ser utilizado, após o término do período de estresse, como fonte de energia e de esqueletos de carbono e nitrogênio, para recuperação mais rápida do tecido vegetal (2). Charest e Phan (10) acreditam que um dos principais fatores do acúmulo de prolina está relacionado com a modulação das atividades da transaminase da ornitina e da desidrogenase do glutamato, substâncias envolvidas na síntese do ácido glutâmico e do glutamato semi-aldeído, e da sintase do glutamato, a qual converte o glutamato em glutamina.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da baixa temperatura sobre dois cultivares de feijão, com tolerância diferencial à baixa temperatura, em relação ao crescimento das plantas e aos teores de açúcares solúveis e prolina.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Foram utilizados dois cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) que, segundo Arantes (1), apresentam tolerância diferencial a baixas temperaturas: Vermelho 2157 (mais tolerante) e Milionário 1732 (mais sensível). As sementes procedentes do banco de germoplasma do Departamento de Fitotecnia da UFV, selecionadas e esterilizadas com Benlate 0,2%, foram semeadas, escalonadamente, em areia, irrigadas com água destilada e mantidas em casa de vegetação. Sete dias após a semeadura, as plântulas, selecionadas quanto à uniformidade, foram transplantadas em número de duas, para recipientes de isopor forrados com papel-alumínio e plástico, contendo 5 L de solução nutritiva (18), com pH ajustado para 6,5 e sob arejamento constante. Na solução nutritiva foram adicionados 5 mg L⁻¹ de fungicida Ridomil-Mancozeb. O pH da solução foi ajustado com NaOH 0,5N, ou HCl 0,5N, a cada dois dias até o estágio da terceira folha trifoliolada. Nos estádios iniciais, a troca da solução foi feita a cada 10 dias e, após o estágio V4, foi realizada semanalmente, e o volume da solução, completado com água destilada.

Estresse térmico das plantas

Nos estádios V3 (primeira folha trifoliolada), V4 (terceira folha trifoliolada), R6 (florescimento) e R8 (enchimento de vagens) (12), seis plantas de cada cultivar foram submetidas a estresse térmico noturno de 5°C, em câmara fria, por 12 horas, durante sete dias consecutivos. Durante todo o experimento, as plantas controle (não-estressadas) permaneceram na casa de vegetação à temperatura ambiente.

No período diurno, as plantas submetidas à baixa temperatura noturna foram mantidas em casa de vegetação, juntamente com as plantas-controle. No dia seguinte ao término do período de estresse, foi realizada análise de crescimento e determinados os teores de açúcares e de prolina. Nas determinações bioquímicas, utilizou-se a primeira folha trifoliolada completamente expandida do ápice para a base da planta.

Cada experimento foi constituído por um fatorial A x B, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, sendo o fator A, os cultivares de feijão e o fator B, a presença do estresse térmico. Cada parcela foi constituída de uma planta.

Avaliação do crescimento das plantas

O crescimento do feijoeiro foi quantificado por: altura de planta; massa seca de folha, de caule, de raiz e de frutos nos estádios reprodutivos; massa seca total de planta; e a área foliar total.

A área foliar, nos estádios V3, V4 e R6, foi medida com um integrador fotoelétrico modelo Delta-T (UK). A massa seca foi obtida, após secagem em estufa a 70°C, até peso constante.

Determinação dos teores de açúcares solúveis

Cem miligramas de discos foliares (\varnothing 8 mm) foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados em congelador a -15°C. O material, ainda congelado, foi imerso em etanol 80%, fervente. Após maceração em almofariz de porcelana, centrifugou-se o extrato a 2.000 g, durante 10 minutos, e coletou-se o sobrenadante. Após três lavagens consecutivas com 3 mL de etanol 80% e centrifugações, o sobrenadante foi combinado e evaporado. A solução aquosa resultante foi clarificada, adicionando-se 10 mg de acetato de chumbo, cujo excesso foi removido pela adição de oxalato de sódio sólido. Centrifugou-se o extrato novamente, durante 10 minutos, completando-se o volume para 25 mL, em balão volumétrico. Os açúcares solúveis totais foram determinados pelo método da antrona (19), e os açúcares redutores, conforme metodologia descrita por Somogy (32). O teor de açúcares não-redutores foi obtido pela diferença entre os açúcares totais e os redutores.

Determinação do teor de prolina

O teor de prolina foliar foi determinado segundo a metodologia de Bates et al. (4), com as adaptações descritas a seguir. Duzentos e cinquenta miligramas de discos foliares foram congelados e armazenados como descrito anteriormente. Para extração da prolina, as amostras foram maceradas em almofariz com 5 mL de solução de ácido sulfossalicílico 3%, seguindo-se filtração a vácuo. Para quantificação de prolina, colocaram-se

2 mL do filtrado, 2 mL de ninhidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial em um tubo de ensaio, agitando-os rapidamente. Após aquecimento a 100°C e resfriamento em banho de gelo, adicionaram-se ao tubo 4 mL de tolueno, agitando-os novamente durante 15 segundos. As absorvâncias foram estimadas a 520 nm, com o auxílio de um espectrofotômetro HITACHI - Modelo U1100. A curva-padrão foi preparada utilizando-se a prolina p.a.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento das plantas

As plantas estressadas, nos estádios vegetativos, apresentaram-se menores, com entrenós mais curtos, sistema radicular menos ramificado e folhas visivelmente encarquilhadas e espessadas. O espessamento do limbo foliar foi confirmado pelo aumento da massa seca específica das folhas nos dois cultivares, nos estádios vegetativos V3 e V4 (Quadro 1). O espessamento foliar, após o estresse térmico, também foi observado por outros pesquisadores em feijão (38), centeio (21), espinafre (7), amendoim (5), tomate (20) e batata (15). Estes resultados podem ser consequência da menor taxa de formação de novas folhas e menor competição entre os drenos (38) ou maior expansão das células epidérmicas e parenquimáticas, aumentando a espessura da folha (20), ou, ainda, formação de uma ou duas camadas a mais de parênquima paliçádico (7).

O estresse térmico noturno reduziu significativamente a altura das plantas do cv. Vermelho 2157, em todos os estádios de desenvolvimento, à exceção do estágio reprodutivo R6, enquanto no cv. Milionário 1732 não foi observada nenhuma redução significativa (Quadros 1 e 2). Diferenças significativas entre os dois cultivares foram registradas nos estádios V4 e R8 (Quadros 1 e 2). No geral, o cv. Milionário 1732 apresentou altura significativamente menor no estágio V4, e o cv. Vermelho 2157, no estágio

R8. Nos estádios reprodutivos (Quadro 2) observou-se grande variação entre os dados, principalmente no estádio R6. Essa alta variação não permitiu a observação do efeito da baixa temperatura sobre a altura de plantas, pois, nos estádios reprodutivos, a planta não apresenta crescimento expressivo, devido ao início do processo de florescimento e frutificação (21, 25).

Quanto à área foliar, os dois cultivares mostraram-se mais sensíveis ao frio nos estádios vegetativos (Quadro 1), apresentando redução em torno de 50% da sua área foliar, nos dois estádios avaliados. No V3, o cv. Vermelho 2157 mostrou-se mais sensível ao estresse, pois o seu controle apresentava área foliar significativamente maior, em relação ao controle do cv. Milionário 1732. No estádio V4, não foi observada sensibilidade diferencial ao estresse, entre os cultivares (Quadro 1). O estresse térmico no estádio R6 não afetou, significativamente, a área foliar dos dois cultivares (Quadro 2).

Nos estádios vegetativos, à exceção do cv. Milionário 1732 no estádio V3, o tratamento com baixas temperaturas causou redução mais intensa da massa seca foliar nos dois cultivares, do que nos estádios reprodutivos (Quadros 1 e 2). Observou-se aumento de massa seca no estádio R6 em ambos os cultivares, após o estresse. Neste estádio de desenvolvimento, o tratamento com baixas temperaturas parece não ter exercido efeito negativo sobre este índice no cv. Milionário 1732, pois este acusou aumento aproximado de 38% na massa seca foliar (Quadro 2). As plantas-controle de Vermelho 2157 encontravam-se em processo de senescência mais avançado que o cv. Milionário 1732, como pode ser comprovado pela redução significativa do seu teor de clorofila total (31).

Nos estádios vegetativos, observou-se redução da massa seca do caule nos dois cultivares, principalmente, no estádio V3 (Quadro 1). A massa seca do caule do cv. Milionário 1732 apresentou incremento, embora não-significativ, com o estresse, no estádio R6, e no cv. Vermelho 2157, no estádio R8.

QUADRO 1 - Análise de crescimento dos cultivares de feijão Vermelho 2157 (V) e Milionário 1732 (M), nos estádios de primeira folha trifoliolada (V3) e terceira folha trifoliolada (V4), após estresse térmico noturno de 5°C, por um período de sete dias (cada valor corresponde à média de três plantas)

Parâmetros	Cv.	V3		V4	
		Controle	Estresse	Controle	Estresse
Altura de planta		----- cm -----		----- cm -----	
	V	13,47 Aa	11,50 Ba	28,1 Aa	21,6 Ba
	M	12,93 Aa	11,50 Aa	17,3 Ab	16,0 Ab
Área foliar		----- cm ² -----		----- cm ² -----	
	V	458 Aa	215 Ba	1.061 Aa	586 Ba
	M	390 Ab	212 Ba	960 Aa	485 Ba
Massa seca de folhas		----- g -----		----- g -----	
	V	1,36 Aa	1,14 Ba	3,36 Aa	2,54 Ba
	M	1,23 Aa	1,20Ba	2,89 Aa	2,40 Aa
Massa seca de caule		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	0,27 Aa	0,15 Ba	0,73 Aa	0,53 Ba
	M	0,24 Aa	0,14 Aa	0,60 Ab	0,45 Ba
Massa seca de raiz		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	0,40 Aa	0,30Ba	0,89 Aa	0,91 Aa
	M	0,42 Aa	0,23 Bb	0,89 Aa	0,89 Aa
Massa seca total		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	2,03 Aa	1,59 Ba	4,98 Aa	3,98 Ba
	M	1,89 Aa	1,56 Ba	4,34 Aa	3,73 Aa
Massa seca específica de folhas		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	2,97 Ba	5,29 Aa	3,17 Ba	4,33 Aa
	M	3,15 Ba	5,67 Aa	3,01 Ba	4,95 Aa

As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, na linha, e minúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

QUADRO 2 - Análise de crescimento dos cultivares de feijão Vermelho 2157 (V) e Milionário 1732 (M), nos estádios de primeira folha trifoliolada (V3) e terceira folha trifoliolada (V4), após estresse térmico noturno de 5°C, por um período de sete dias (cada valor corresponde à média de três plantas)

Parâmetros	Cv.	R6		R8	
		Controle	Estresse	Controle	Estresse
Altura de planta		----- cm -----		----- cm -----	
	V	127,60 Aa	96,03 Aa	99,00 Ab	50,77 Ba
	M	114,93 Aa	68,53 Aa	161,26 Aa	174,50 Aa
Área foliar		----- cm ² -----		----- cm ² -----	
	V	3.956 Aa	3.289 Ab	-----	-----
	M	4.197 Aa	4.855 Aa	-----	-----
Massa seca de folhas		----- g -----		----- g -----	
	V	11,95 Aa	12,05 Aa	9,97 Ab	9,69 Ab
	M	13,34 Ba	18,44 Aa	32,50 Aa	28,10 Ba
Massa seca de caule		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	5,59 Aa	4,13 Bb	4,68 Ab	5,79 Ab
	M	5,84 Aa	6,64 Aa	18,70 Aa	15,45 Bb
Massa seca de raiz		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	2,52 Ab	2,92 Ab	3,72 Ab	3,36 Ab
	M	4,99 Aa	5,78 Aa	9,70 Aa	8,68 Ba
Massa seca de fruto		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	1,27 Aa	0,22 Ba	10,04 Ab	10,99 Ab
	M	0,49 Ab	0,14 Aa	33,54 Aa	22,31 Ba
Massa seca total		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	21,34 Aa	19,10 Ab	18,36 Ab	18,84 Ab
	M	24,16 Ba	30,87 Aa	60,92 Aa	52,18 Ba
Massa seca específica de folhas		----- mg cm ⁻² -----		----- mg cm ⁻² -----	
	V	3,02 Aa	3,66 Aa	-----	-----
	M	3,17 Aa	3,79 Aa	-----	-----

As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, na linha, e minúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A massa seca de raiz reduziu apenas no estágio de desenvolvimento V3 (Quadros 1 e 2). No estágio R8, a massa seca de raiz do cv. Milionário 1732 foi significativamente superior à do cv. Vermelho 2157, independentemente do tratamento aplicado (Quadro 2). Esta diferença, provavelmente, ocorreu em consequência do ataque de fungos no sistema radicular do cv. Vermelho 2157.

A massa seca total das plantas reduziu-se significativamente, principalmente nos estádios de crescimento vegetativo, com exceção do cv. Milionário 1732 no estágio V4 (Quadro 1). Nos estádios reprodutivos, não foi observado efeito estatisticamente significativo sobre este índice no cv. Vermelho 2157, mas, no cv. Milionário 1732, foi registrado aumento significativo, no estágio R6, e redução significativa deste índice, no estágio R8.

A redução do crescimento das plantas, principalmente em estádios vegetativos, pode ser atribuída à inibição da atividade enzimática no metabolismo da planta (30), à redução das taxas respiratórias (6), à redução da translocação de fotoassimilados no floema (13) e ao efeito direto e diferencial da baixa temperatura na expansão celular, que seria reduzida pelo efeito do frio sobre a parede celular, aumentando a sua rigidez (28). Pesquisas posteriores mais específicas são necessárias para confirmar estas hipóteses.

O início do processo de frutificação no cultivar Milionário 1732 foi mais lento, pois a massa seca dos seus frutos foi bem menor que a do cultivar Vermelho 2157, no estágio R6 (Quadro 2). Neste estágio, os dois cultivares apresentaram-se muito sensíveis ao estresse. Nas plantas estressadas, as vagens estabelecidas apresentavam-se deformadas e com poucas sementes, e estas desenvolvidas de maneira desuniforme. Em relação à massa seca de frutos, o maior efeito foi registrado no cultivar Vermelho 2157. No estágio R8, observa-se que o crescimento do fruto foi reduzido, acentuadamente, no cultivar Milionário 1732, o qual foi o único sensível ao frio (Quadro 2).

Farlow (11) cita que a baixa temperatura poderia retardar o início do florescimento e prolongar a sua duração em plantas de feijão, em virtude do florescimento irregular na própria planta. O estresse térmico também poderia reduzir o número de flores emitidas (36) e provocar o abortamento de grãos, devido a falhas nos órgãos reprodutivos, feminino e masculino (29). Esse mesmo autor atribui estas falhas ao abortamento do óvulo, consequência da exposição das plantas de feijão à baixa temperatura noturna, principalmente; à baixa viabilidade do pólen; e ao crescimento desfavorável do tubo polínico em plantas de feijão submetidas ao frio.

Neste experimento, observou-se que o cv. Vermelho 2157 foi um pouco mais suscetível ao frio, nos estádios vegetativos, e mais tolerante a este estresse, nos estádios reprodutivos, em relação ao cv. Milionário 1732. Verifica-se, no Quadro 2 que o cv. Vermelho 2157 não sofreu redução significativa da massa seca de seus frutos, devido ao estresse, o que justificaria a indicação de Arantes (1) do cv. Vermelho 2157 para a safra de inverno, na região de Viçosa.

Neste estudo, observou-se que as plantas apresentaram comportamento diferencial, em virtude do estresse térmico, nos diferentes estádios de desenvolvimento, concordando com a afirmação de Pollock (28). Assim, sugere-se um acompanhamento da planta, durante todo o seu ciclo de desenvolvimento, para obtenção de uma resposta mais precisa quanto à sua sensibilidade ao frio.

Teores de açúcares solúveis

O estresse térmico noturno de 5°C acarretou decréscimo no teor de açúcares redutores apenas no cv. Milionário 1732, no estágio V3, e no cv. Vermelho 2157, no estágio R6 (Quadro 3). Os teores de açúcares não-redutores nas plantas sob estresse foram significativamente maiores em todos os estádios analisados no cv. Vermelho 2157. Já no cv. Milionário 1732 não foi observada nenhuma variação significativa, nos três estádios analisados. O aumento registrado no cv. Vermelho 2157 variou entre 120 e 200%, em relação ao seu controle. A redução do teor de açúcares redutores parece estar relacionada com o aumento do teor de açúcares não-redutores, possivelmente, de sacarose. O cv. Vermelho 2157 sempre apresentou maior aumento do seu teor de açúcares totais, quando comparado ao cv. Milionário 1732.

Segundo Guy (16) e Guy et al. (17), os carboidratos sacarose, rafinose e sorbitol são os primeiros crioprotetores encontrados na planta após estresse térmico. Destes, a sacarose é o mais encontrado em plantas tolerantes à baixa temperatura, nos quais seus níveis podem aumentar até 10 vezes durante o estresse. O acúmulo de sacarose pode ter decorrido em razão do aumento da atividade enzimática da sintase da sacarose fosfato (17), ou da redução do transporte deste açúcar, em virtude da redução da taxa metabólica das plantas expostas à baixa temperatura (27, 33).

QUADRO 3 - Teores de açúcares e de prolina dos cultivares de feijão Vermelho 2157 (V) e Milionário 1732 (M), nos estádios de primeira folha trifoliolada (V3), de florescimento (R6) e enchimento de vagens (R8), após o estresse térmico noturno de 5°C, durante um período de sete dias

Parâmetros	Cv	V3		R6		R8	
		Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse
Açúcares reductores	V	8,60 Ab	7,62 Aa	47,65 Aa	12,58 Ba	22,07 Aa	22,05 Aa
	M	12,09 Aa	8,30 Ba	13,58 Ab	10,74 Aa	12,81 Ab	12,24 Ab
Açúcares não-reductores	V	43,45 Ba	98,15 Aa	25,10 Ba	60,92 Aa	24,36 Bb	72,97 Aa
	M	31,89 Aa	60,63 Ab	19,50 Ab	26,93 Ab	52,12 Aa	58,36 Aa
Açúcares totais	V	52,05 Ba	107,59 Aa	72,91 Aa	73,50 Aa	32,90 Bb	99,65 Aa
	M	43,98 Aa	68,97 Ab	33,08 Ab	37,67 Ab	52,92 Aa	66,64 Ab
Prolina	V	2,98 Ba	5,91 Aa	2,30 Aa	2,93 Aa	4,12 Ab	3,89 Aa
	M	3,29 Aa	1,73 Bb	2,39 Ba	3,91 Aa	2,39 Ba	3,51 Aa

As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, na linha, e minúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em pesquisas posteriores sobre a seleção de cultivares mais adaptados à safra de inverno, poder-se-ia indicar, após a comprovação dos resultados deste experimento, o uso de plantas em estádios iniciais de desenvolvimento (V2 e V3), pois, como pode-se observar neste experimento, o cv. Vermelho 2157, que apresentou a maior produtividade no campo na safra de inverno (1), foi o que registrou os maiores teores de açúcares não-redutores (crioprotetores) no estágio vegetativo.

Teor de prolina

No Quadro 3, verifica-se que o efeito de baixas temperaturas sobre os teores de prolina foi variável, sem mostrar tendência constante, que pudesse ser interpretada. Embora a prolina seja considerada uma substância crioprotetora, conforme verificado por Guy (16), incremento consistente não foi detectado.

O cv. Vermelho 2157 apresentou incremento significativo no seu teor de prolina somente no estágio V3, no qual o cv. Milionário 1732 mostrou redução significativa. Nos estádios R6 e R8 não se observou variação significativa no cv. Vermelho 2157. Já o cv. Milionário 1732 apresentou incremento significativo nestes dois estádios. Diferenças entre os dois cultivares foram observadas, após o estresse no estágio V3 e no controle, no estágio R8. Provavelmente, o acúmulo de prolina depende de características genotípicas e do estágio de desenvolvimento da planta, quando esta é submetida ao estresse.

O incremento no teor de prolina nos estádios V3 e R6 no cv. Vermelho 2157 (98,3 e 27,4%, respectivamente) parece estar associado com o aumento nos teores de açúcares não-redutores (125,9 e 142,7%, respectivamente) (Quadro 3), uma vez que os açúcares parecem inibir a oxidação da prolina, resultando no seu acúmulo (33).

Com base em dados deste estudo, observa-se que a variação no teor de prolina não foi, pelo menos neste experimento, um indicador confiável para avaliação da resistência das plantas de feijão ao estresse, por baixa temperatura, em qualquer dos estádios de desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

1. ARANTES, H. A. G. Triagem de germoplasma de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em busca de fontes de tolerância ao frio. Viçosa, UFV, 1994. 51 p. (Tese de Mestrado).
2. ASPINALL, D. & PALEG, G. Proline accumulation; physiological aspects. In: Paleg, G. & Aspinall, D. (eds.). The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Sidney, Academic Press, 1981. p. 206-42.

3. BAGNALL, D. J.; KING, R. W. & FARQUHAR, G. D. Temperature-dependent feedback inhibition of photosynthesis in peanut. *Planta*, 175: 348-54, 1988.
4. BATES, L. S.; WALDREN, R.P. & TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-7, 1973.
5. BELL, M. J.; WRIGHT, G. C. & HAMMER, G. L. Night temperature affects radiation-use efficiency in peanut. *Crop. Sci.*, 32: 1329-35, 1992.
6. BERRY, J. A. & RAISON, J. K. Responses of macrophytes to temperature. In: Lange, O. L.; Nobel, P. S.; Osmond, C. B. & Ziegler, H. (eds.) *Encyclopedia of plant physiology*. Berlin, Springer-Verlag, 1981. v. 12A, p. 277-338.
7. BOESE, S. R. & HUNER, N. P. A. Effect of growth temperature and temperature shifts on spinach leaf morphology and photosynthesis. *Plant Physiol.*, 94: 1830-6, 1990.
8. BOWERS, M. C. Environmental effects of cold on plants. In: Wilkinson, R. E. (ed.) *Plant - environment interactions*. Georgia, Marcel Dekker, 1994. p. 391-412.
9. CHAGAS, J. M. Considerações sobre a cultura do feijão no inverno em Minas Gerais. *Inf. Agropec.*, 17 (178): 5-8. 1994.
10. CHAREST, C. & PHAN, C. T. Cold acclimation of wheat (*Triticum aestivum*): Properties of enzymes involved in proline metabolism. *Physiol. Plant.* 80: 159-68, 1990.
11. FARLOW, P. J. Effect of low temperature on number and location of developed seed in two cultivars of French beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *Aust. J. Agr. Res.* 32: 325-30. 1981.
12. FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P. & LÓPEZ, M. Etapas de desenvolvimento da planta de feijão. In: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão de Tecnologia de Santa Catarina. *A cultura do feijão em Santa Catarina*. Florianópolis, 1992. p. 53-72.
13. GIAQUINTA, R. T. & GEIGER, D. R. Mechanism of inhibition of translocation by localized chilling. *Plant Physiol.*, 51: 372-7, 1973.
14. GRAY, G. R.; BOESE, S. R. & HUNER, N. P. A. A comparison flow temperature growth vs low temperature shifts to induce resistance to photoinhibition in spinach (*Spinacia oleracea*). *Physiol. Plant.*, 90: 560-6, 1994.
15. GRIFFITH, M.; BOESE, S. R. & HUNER, N. P. A. Chilling sensitivity of the frost-tolerant potato *Solanum commersonii*. *Physiol. Plant.*, 90: 319-26, 1994.
16. GUY, C. L. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 41: 187-223, 1990.
17. GUY, C. L.; HUBER, J. L. A. & HUBER, S. C. Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature. *Plant Physiol.*, 100: 502-8, 1992.
18. HOAGLAND, D. R. & ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. *Calif. Agr. Exp. Sta.*, 1950 (Circular 347).
19. HODGE, J. E. & HODFREITER, B. R. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: Wilster, R. L. & Wolfrom, M. L. (eds.). *Methods in carbohydrate chemistry*. New York, Academic Press, 1962. p.380-94
20. HOEK, I. H. S.; CATE, C. H. H. T.; KEIJZER, C. J.; SCHEL, J. H. & DONS, H. J. M. Development of the fifth leaf is indicative for whole plant performance at low temperature in tomato. *Ann. Bot.*, 72: 367-74, 1993.
21. HUNER, N. P. A. Morphological, anatomical and molecular consequences of growth and development at low temperature in *Secale cereale* L. cv. Puma. *Amer. J. Bot.*, 72: 1290-306, 1985.
22. KOSTER, K. L. & LYNCH, D. V. Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of puma rye. *Plant Physiol.*, 98: 108-13, 1992.
23. LARCHER, W. *Physiological plant ecology*. 3 ed. Berlin, Springer, 1995. 506 p.

24. LEVITT, J. Responses of plants to environmental stresses.. Chilling, freezing and high temperature stresses. 2. ed. New York, Academic, Press, 1980. 497 p.
25. LI, P. H. Crop plant cold hardiness. In: Boote, K. J.; Bennett, J. M.; Sinclair, T. R. & Paulsen, G. M. (eds.), Physiology and determination of crop yield. Gainesville, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 1994. p. 395-416.
26. MARTINEZ, C. A.; MAESTRI, M. & LANI, E. G. In vitro salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum* spp.) differing in frost resistance. *Plant Sci.*, 166: 177-84. 1996.
27. MITCHELL, D. E. & MADORE, M. A. Patterns of assimilate production and translocation in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Plant Physiol.*, 99: 966-71, 1992.
28. POLLOCK, C. J. The response of plants to temperature change. *J. Agr. Sci.*, 115: 1-5. 1990.
29. PORTES, T. de A. Ecofisiologia. In: Araujo, R. S.; Rava, C. A.; Stone, L. F. & Zimmermann, M. J. de O. (eds.), Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba, POTAFOS, 1996. p. 101-31.
30. SASSENATH, G. F. & ORT, D. R. The relationship between inhibition of photosynthesis at low temperature and the inhibition of photosynthesis after rewarming in chill-sensitive tomato. *Plant Physiol. Biochem.*, 28: 457-65, 1990.
31. SIEBENEICHLER, S. C.; SANT'ANNA, R.; MARTINEZ, C. A.; MOSQUIM, P. R. & CAMBRAIA, J. Alterações na fotossíntese, condutância estomática e eficiência fotoquímica induzidas por baixa temperatura em feijoeiros. *Rev. Bras. Fis. Veg.*, 10:37-45. 1998.
32. SOMOGY, M. Note on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 95: 19-23, 1952.
33. STEWART, C. R. & BOGGESS, S. F. Metabolism of [5-³H] - proline by barley leaves and its use in measuring the effects of water stress on proline oxidation. *Plant Physiol.*, 61: 654-7, 1978.
34. VAN DOBBEN, W. H.; VAN AST, A. & CORRÉ, W. J. The influence of temperature on morphology and growth rate of bean seedlings. *Acta Bot. Neerl.*, 33: 185-93, 1984.
35. WANG, C. Y. Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress. *HortSci.*, 17: 173-86, 1982.
36. WHITE, J. W. Conceptos basicos de fisiologia del frijol. In: López, M.; Fernández, F. & Van Schoonhoven, A. (eds.). Frijol: investigación y producción. Cali, CIAT, 1985. p. 43-60.
37. WITHERS, L. A. & KING, P. J. Proline: A novel cryoprotectant for the freeze preservation of cultured cells of *Zea mays* L. *Plant Physiol.*, 64:675-8, 1979.
38. WOLFE, D. W. Low temperature effects on early vegetative growth, leaf gas exchange and water potential of chilling-sensitive and chilling-tolerant crop species. *Ann. Bot.*, 63: 205-12, 1991.