



UNICAMP

Este exemplar corresponde à redação
final da Tese defendida pela candidata
MARLENE A. SCHIAVINATO e aprovada
pela Comissão julgadora.

INSTITUTO DE BIOLOGIA

16/08/90

CRESCIMENTO, FLORAÇÃO E FORMAÇÃO DE
RAÍZES TUBEROSAS EM Psophocarpus
tetragonolobus (L.) DC.

Sch31c

12350/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL



*ant. a. t.
cont. a. t.
a. t. 1988*

MARLENE APARECIDA SCHIAVINATO

CRESCIMENTO, FLORAÇÃO E FORMAÇÃO DE RAÍZES TUBEROSAS EM
Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC.

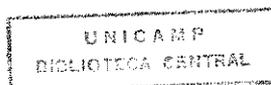
Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

*ant. a. t.
cont. a. t.
a. t. 1988*

Orientador: Prof. Dr. Ivany Ferraz Marques Válio

CAMPINAS

1990



- Aos meus pais, Ciryllo e Hermínia, pela dedicação e apoio.

Às minhas filhas, Marina e Maíra, pela compreensão e carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ivany Ferraz Marques Válio, pela orientação deste trabalho, amizade, confiança e incentivo desde o início de minha carreira.

Ao Prof. Dr. Ângelo L. Cortelazzo, pela orientação precisa e auxílio em todo o trabalho de Biologia Celular, pelas sugestões oferecidas e pela amizade que sempre me dedicou.

As professoras Dra. Ana Maria B. Monteiro, Dra. Maria de Fátima A. Pereira e Dra. Rosely R. Sharif, pelas valiosas sugestões dadas por ocasião da pré-banca.

Ao Prof. Dr. Benedito de Campos Vidal, pelas sugestões feitas e pela possibilidade do uso dos equipamentos para a realização dos estudos de Biologia Celular.

Ao Eng. Agrôn. João Paulo Feijão Teixeira, da Seção de Fitoquímica do Instituto Agronômico de Campinas, pela dosagem de óleo e análise de ácidos graxos.

A todos os professores, funcionários e colegas do Departamento de Fisiologia Vegetal pelo auxílio e amizade durante o decorrer desta pesquisa.

Aos professores, colegas e funcionários do Departamento de Biologia Celular, pelo apoio e incentivo.

Aos amigos Ana Maria Magalhães A. Lagôa, Ana Maria B. Monteiro, Neuza M. Barbosa e Paulo Mazzafera pelo apoio, incentivo e auxílio sempre que necessário.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

ÍNDICE

	pág.
1. INTRODUÇÃO.....	001
1.1. Considerações gerais.....	001
1.2. Germinação.....	005
1.3. Cultivo.....	007
1.4. Fotoperiodismo.....	010
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	014
2.1. Material vegetal.....	014
2.2. Métodos.....	014
2.2.1. Estudo de germinação de sementes.....	014
2.2.1.1. Efeito de diferentes temperaturas constantes...	015
2.2.1.2. Efeito de GA ₃ e CCC.....	015
2.2.2. Estudo do crescimento e desenvolvimento das plantas.....	016
2.2.2.1. Condições de crescimento.....	016
2.2.2.1.1. Experimentos em câmara de crescimento.....	016
2.2.2.1.2. Experimentos em casa de vegetação.....	016
2.2.2.1.3. Experimentos em canteiros.....	017
2.2.2.2. Tutoramento das plantas.....	017
2.2.2.3. Coleta e preparação do material.....	018
2.2.2.3.1. Peso da matéria fresca ou seca.....	018
2.2.2.3.2. Análise de proteínas e carboidratos solúveis totais.....	019

2.2.2.3.3. Análise de ureídeos e aminoácidos totais contidos na seiva do xilema	019
2.2.2.4. Análise de crescimento.....	020
2.2.2.4.1. Em diferentes períodos do ano.....	020
2.2.2.4.2. Medidas para avaliação do crescimento.....	020
2.2.2.5. Influência do tutoramento no crescimento das plantas, floração e formação de raízes tube- rosas.....	023
2.2.2.6. Efeito da posição do caule principal e de sua distância do solo na floração e formação de raízes tuberosas.....	025
2.2.2.7. Efeito da remoção de inflorescências no cres- cimento da planta e formação de raízes tubero- sas.....	026
2.2.2.8. Efeito da remoção de folhas na formação de raízes tuberosas.....	028
2.2.2.9. Efeito do fotoperíodo.....	029
2.2.2.10. Influência de diferentes regimes térmicos.....	029
2.2.3. Extrações e dosagens.....	030
2.2.3.1. Carboidratos solúveis totais.....	030
2.2.3.2. Proteínas solúveis.....	030
2.2.3.3. Aminoácidos livres totais.....	031
2.2.3.4. Ureídeos Totais.....	031
2.2.3.5. Clorofilas <u>a</u> e <u>b</u>	032

	pág.
2.2.3.6. óleo.....	032
2.2.3.7. Ácidos Graxos.....	033
2.2.4. Análise "in situ".....	033
2.2.4.1. Fixação.....	034
2.2.4.2. Processamento.....	034
2.2.4.3. Métodos gerais, citoquímicos e citofísicos pa- ra determinações qualitativas.....	035
2.2.4.3.1. Hematoxilina-eosina (HE).....	035
2.2.4.3.2. Xylidine Ponceau a pH 2,5 (XP).....	035
2.2.4.3.3. Digestões enzimáticas para extração de pro- teínas.....	035
a - Digestão com pepsina.....	036
b - Digestão com tripsina.....	036
2.2.4.3.4. Azul de toluidina a pH 4,0 (AT).....	036
2.2.4.3.5. Microscopia de polarização.....	037
2.2.4.3.6. Microscopia de fluorescência.....	037
2.2.5. Análise dos resultados.....	038
3. RESULTADOS.....	039
3.1. Germinação de sementes.....	039
3.1.1. Efeito de diferentes temperaturas constantes.....	039
3.1.2. Efeito de GA ₃ e CCC.....	039
3.2. Estudos com plantas.....	043
3.2.1. Crescimento das plantas.....	043
3.2.1.1. Análise de crescimento.....	043

	Pag.
3.2.1.2. Influência do tutoramento e da posição do caule principal.....	047
3.2.1.3. Influência da remoção de inflorescências no crescimento das plantas.....	052
3.2.1.4. Efeito do fotoperíodo.....	057
3.2.1.5. Influência de diferentes regimes térmicos.....	057
3.2.2. Floração e formação de raízes tuberosas.....	067
3.2.2.1. Influência do cultivo em diferentes épocas do ano.....	067
3.2.2.2. Influência do tutoramento, da posição do caule principal e de sua distância do solo.....	070
3.2.2.3. Efeito da remoção de flores.....	081
3.2.2.4. Efeito da remoção de folhas.....	081
3.2.2.5. Efeito do fotoperíodo.....	087
3.2.2.6. Influência de diferentes regimes térmicos.....	087
3.2.3. Dosagens bioquímicas.....	090
3.2.3.1. Carboidratos solúveis totais e proteínas.....	090
3.2.3.2. Aminoácidos livres totais e ureídeos.....	094
3.2.3.3. óleo e ácidos graxos.....	094
3.2.4. Análise "in situ".....	097
3.2.4.1. Hematoxilina-eosina.....	097
3.2.4.2. Xylidine Ponceau.....	097
3.2.4.3. Azul de toluidina.....	101
3.2.4.4. Microscopia de polarização.....	101
3.2.4.5. Microscopia de fluorescencia.....	105

	pag.
4. DISCUSSÃO.....	107
4.1. Germinação.....	107
4.2. Análise de crescimento.....	108
4.3. Tutoramento e posição do caule principal.....	110
4.4. Remoção de flores e folhas.....	112
4.5. Influência do fotoperíodo e da temperatura.....	115
4.6. Dosagens bioquímicas e análise "in situ".....	120
5. RESUMO.....	127
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	130
7. APÊNDICE.....	148

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações gerais

O gênero Psophocarpus inclui espécies selvagens, semicultivadas e cultivadas. A espécie mais conhecida é o feijão alado, Psophocarpus tetragonolobus.

O feijão alado foi cultivado em uma grande área do Sudoeste da Ásia por um longo período como planta doméstica ou de pequena escala comercial. Desde que a National Academy of Science, U.S.A. organizou uma associação para o estudo do feijão alado em 1975 (N.A.S., 1975), o plantio experimental desta espécie tem se efetuado em cerca de 50 países.

Nos trópicos úmidos e quentes, o feijão alado se sobressai como um legume de fácil crescimento, resistente a pragas e doenças, produtivo, atraente aos olhos e ao paladar e altamente nutritivo (MARTIN & DELPIN, 1978). Foi cultivado durante muitos séculos nessa região e também empregado nos ritos de algumas tribos (N.A.S., 1975).

A origem geográfica desta espécie é ainda incerta. Enquanto SMARTT (1980) acredita que ela seja originária da África, talvez Madagascar, KHAN (1976) indica Papua-Nova Guiné como sendo o centro da dispersão. Esse feijão é um vegetal economicamente importante na Índia, Ceilão, Burma, Indonésia, Sri Lanka, Tailândia, Vietnã e nas Filipinas, e é especialmente importante nas terras altas de Papua-Nova Guiné.

A planta de feijão alado é uma trepadeira herbácea, perene, que cresce se enrolando para a esquerda. A planta possui uma grande quantidade de caules ramificados e pode apresentar um crescimento muito grande, atingindo 5m ou mais de altura. As flores, de coloração azul, branca ou púrpura, são autopolinizadas. As vagens apresentam quatro faces, com asas com margens denteadas, e contém de cinco a vinte sementes. Estas sementes são globulares, com superfície brilhante e coloração branca, amarela, marrom, preta ou mosqueada. MASEFIELD (1973) afirmou que todas as plantas produzem raízes tuberosas, no entanto, verificou-se posteriormente que a produção de raízes tuberosas comestíveis depende da variedade, do método de cultivo, época do plantio e colheita (KORTT & CALDWELL, 1984).

Este feijoeiro produz vários órgãos de valor alimentício. Diz-se frequentemente que todas as partes da planta são aproveitáveis, porém, o caule, as raízes fibrosas, e as vagens secas seriam difíceis de serem consumidas em algumas circunstâncias: mas as folhas, flores, vagens jovens, sementes verdes imaturas, sementes maduras e raízes tuberosas são comestíveis, embora as preferências variem de região para região (N.A.S., 1975).

O feijão alado é bem conhecido e integrado no hábito alimentar dos habitantes do Sri Lanka, mas somente as vagens macias, imaturas e folhas são utilizadas (AXELSON et al, 1982). Cultivos tradicionais tem raramente sido conduzidos para produção de sementes secas embora a colheita de mais que 2,0 t/ha seja comumente relatada em dados experimentais, especialmente quando as plantas são tutoradas (NANGJU & BAUDOIN, 1979).

Experiências realizadas no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) mostraram que o feijão alado é uma espécie que se adapta muito bem às condições de temperatura e umidade elevadas da região amazônica, bem como ao seu solo pobre. Num ensaio, quando se avaliaram diversas fontes de matéria orgânica no solo, o rendimento, em sementes secas, na parcela onde se adicionou lixo e calcáreo, foi equivalente a 6,7t/ha. Em outro experimento, no qual foi utilizada cobertura morta como fonte de matéria orgânica, o rendimento do melhor tratamento em vagens verdes foi de 13,2t/ha e a média de todo o ensaio foi de 11,3t/ha (NODA et al., 1984).

As raízes desenvolvem quantidade muito grande de nódulos, estruturas onde se dá a fixação do nitrogênio atmosférico. Numa só planta, já foram verificados até 440 nódulos (NODA et al., 1984), por isso, esta espécie se adapta aos solos deficientes em nitrogênio.

Por possuir vagens, folhas, sementes e raízes tuberosas ricas, de modo inigualado em proteínas, essa planta tem recebido atenção internacional, sendo considerada como fonte de proteína de alta qualidade (DENCH, 1982; EKPENYOUNG & BORCHERS, 1982; HARDING et al., 1982; YANAGY, 1983; YANAGY et al., 1983) e um potencial para solucionar a grande deficiência de nutrientes existente nas populações carentes do terceiro mundo (AXELSON et al., 1982).

Seu cultivo, para consumo da vagem verde, está sendo estimulado na zona tropical úmida, na qual a região amazônica se encontra inserida (NODA et al., 1984). A proteína de suas sementes possui níveis adequados de aminoácidos essenciais, com exceção dos aminoácidos que contém enxofre (HIGUCHI et al., 1983; KORTT & CALDWELL, 1984), enquan-

to que o óleo é caracterizado por uma alta porcentagem de ácidos graxos insaturados, portanto, as sementes possuem alto valor nutritivo (BODGER et al., 1982; HIGUCHI et al., 1982; HOMMA et al., 1983; KHOR et al., 1982).

Os resultados de várias pesquisas existentes na área de tecnologia de alimentos, demonstram que há pequena variação na composição de aminoácidos nas diferentes variedades de feijão alado de procedências diversas (KORTT, 1983; YANAGI et al., 1983).

Ao mesmo tempo que o feijão alado é classificado como fonte de alimento, vários trabalhos afirmam seu efeito muito tóxico quando ingerido no estado cru (KORTT, 1983), causando a morte de ratos em curto período de tempo (HIGUCHI et al., 1984). Foi demonstrado, utilizando-se as mesmas condições experimentais, que o efeito antinutricional do feijão alado cru é muito mais deletério que aquele do feijão comum ou soja crua (HIGUCHI et al., 1983).

As sementes de feijão alado contém quantidade significativa de inibidores de tripsina (KORTT, 1979; TAN & WONG, 1982; GRUEN et al., 1984), inibidores de quimotripsina (KORTT, 1980; KORTT, 1981) e hemaglutininas (KORTT, 1983). Recentemente foram identificados dois tipos de lectinas com diferentes pontos isoelétricos e especificidade de aglutinação de eritrócitos (KORTT, 1985). As lectinas básicas aglutinam eritrócitos de coelho tripsinasados, mas não aglutinam eritrócitos humanos e as lectinas ácidas que aglutinam eritrócitos humanos tripsinados mas não aglutinam eritrócitos de coelho (KORTT, 1984).

O tratamento com calor necessário para destruir esses fatores antinutricionais relativamente estáveis reduz a solubilidade da

proteína e pode diminuir o valor nutritivo do feijão alado. Tratamento com calor excessivo induz a uma diminuição de lisina disponível na proteína da semente (EKPENYONG & BORCHERS, 1978, *in* KORTT, 1983).

O maior potencial para o feijão alado está na agricultura de pequena escala ou doméstica por haver necessidade de tutoramento com estacas, condução por um longo período de tempo e colheita regular (MARTIN & DELPIN, 1978).

1.2. Germinação

A germinação da semente é o resultado do crescimento suficiente da radícula possibilitando a protrusão desta através do tegumento. A maioria das sementes, entretanto, não germina imediatamente após serem formadas. Elas geralmente passam por um período de dormência, isto é, elas não começam a germinar mesmo estando em condições favoráveis para tal (WILKINS, 1988). A quebra de dormência da semente e a iniciação da germinação não são processos idênticos pois as sementes podem se tornar não dormentes e mesmo assim não germinar, se as condições de germinação forem desfavoráveis (KARSSSEN, 1982, *in* EGLEY & DUKE, 1987).

O processo de germinação envolve vários estádios. Em primeiro lugar, a semente precisa absorver água para que as células, em suas várias estruturas, se tornem hidratadas e capazes de desempenhar suas atividades metabólicas. Depois disso, as raízes e a parte aérea começam a crescer, e isso envolve o início de alongamento e divisão celular, bem como diferenciação, para promover a formação de tecidos espe-

cializados. Esses processos requerem um grande gasto de energia e o embrião pode obter essa energia somente de suas reservas que podem estar armazenadas nos cotilédones ou no endosperma. O segundo estágio importante na germinação é a mobilização dessas reservas (WILKINS, 1988).

Entre os fatores exógenos que podem interferir com fatores endógenos e regular a germinação de sementes, estão luz, água e temperatura.

As sementes de algumas variedades de feijão alado não absorvem água facilmente (MARTIN & DELPIN, 1978). Verificou-se, em experimento de campo com dois cultivares de feijão alado, que o tempo exigido pelas sementes para germinar foi bastante longo (LAM SÁNCHEZ et al., 1981). Essa dificuldade parece relacionada com a existência de tegumento impermeável (CSIZINSKI, 1980), que em espécies de leguminosas é comumente causa de dormência (ROLSTON, 1978).

Usando cinco cultivares diferentes de feijão alado para testes de hidratação, constatou-se que a quantidade de água absorvida por essa espécie, num período de 24 horas, é muito pequena (LAM SÁNCHEZ et al., 1987), o que, no caso do plantio, afetaria diretamente a velocidade de germinação.

NABEESA et al. (1988) determinaram o grau de embebição de 45 variedades de feijão alado. As sementes foram classificadas em três tipos: (1) sementes que iniciam o processo de absorção assim que entram em contacto com a água, (2) sementes nas quais a embebição começa após um período de duas a doze horas e (3) sementes impermeáveis durante 24 horas de contacto com a água, mas que iniciam a embebição

quando são escarificadas.

Utilizando-se vários tratamentos químicos para aumentar a germinação de sementes de feijão alado, devido à impermeabilidade do tegumento, constatou-se que o uso de ácido sulfúrico 8:1 a frio (SOLANKI & JOSHI, 1983) ou a quente (LAM SÁNCHEZ & TONDATO, 1985), por cinco minutos, surtiu bons resultados. Segundo MARTIN & DELPIN (1978), sementes escarificadas germinam muito melhor que sementes não escarificadas.

1.3. Cultivo

As sementes de feijão alado são semeadas no começo da estação chuvosa. Assim que as plantas começam a crescer, precisam ser sustentadas por estacas ou treliças. Embora as plantas cresçam vigorosamente, nas primeiras 3-5 semanas o crescimento é lento (N.A.S., 1975).

O tipo de suporte para tutoramento pode variar. Suportes individuais de estacas simples com 1,5 a 2,0m de altura podem ser satisfatórios. Cerca de arame, apesar do custo, poderia também ser usada. Uma grade em forma de Y conectada por cordas ou arame, de maneira a formar uma rede larga, permite que as plantas cresçam seguindo as cordas e assim as vagens penderão entre as cordas e poderão ser facilmente coletadas (MARTIN & DELPIN, 1978).

Como muitos legumes cultivados nos trópicos, o feijão alado pode ser plantado intercalado com outros vegetais como batata doce, cana de açúcar, bananeira e alguns legumes (N.A.S., 1975). Pode também ser usado como forragem, como um produto de cobertura ou para adubo

verde, por sua excepcional nodulação (RACHIE & ROBERTS, 1984).

Em muitas áreas, o feijão alado é considerado um vegetal secundário, mas em Burma e Papua Nova Guiné (o ponto central de produção, coleção de germoplasma e avaliação) ele é habilmente manejado para produção de raízes tuberosas (KHAN, 1976). Parece que os nativos das terras altas de Papua Nova Guiné obtêm altas produções utilizando práticas de cultivo que intensificam o crescimento do tubérculo (N.A.S., 1975).

Os nativos do Sri Lanka diferenciam variedades que produzem alta quantidade de raízes tuberosas daquelas que produzem altas quantidades de vagens. As práticas incluindo poda e remoção de flores aumenta a produção de raízes tuberosas. Em algumas áreas o feijão alado é um alimento básico mas, na maioria dos casos, ele é consumido apenas esporadicamente (N.A.S., 1975).

Em Burma, esse feijão é importante no sul e nas regiões centrais. Crescidas em encostas de rios, as plantas não recebem nenhum cuidado quando se tem interesse na produção de tubérculos, mas quando há interesse em vagens, as plantas são tutoradas com estacas de bambú. Os tubérculos são fervidos e comidos como batatas e as vagens levemente aferventadas são utilizadas como aperitivo. Em alguns locais da Indonésia, as vagens e folhas são comidas cozidas, e as sementes secas frequentemente são usadas para fabricação de queijo fermentado como o de soja. Em outros países, como Tailândia, Malásia Filipinas e Vietnã, as vagens são ingeridas como vegetais cozidos e as raízes tuberosas não são comidas (N.A.S., 1975).

Pouca informação se tem sobre produção de feijão alado em larga escala. As vagens verdes amadurecem e são colhidas enquanto o clima permanece favorável. A colheita normalmente finda com o início da estação fria. Em relação à produção de tubérculos não há avaliação confiável em grandes plantações (N.A.S., 1975).

O feijão alado é uma planta perene capaz de viver e produzir sementes por muitos anos. No entanto, falta de chuva, superprodução ou doenças podem provocar morte prematura da planta após a primeira estação de produção (MARTIN & DELPIN, 1978).

Embora algumas vezes considerada como uma cultura bem adaptada ao trópico quente úmido, a distribuição de feijão alado inclui ambientes mais secos, frios e altos do que a descrição geral poderia envolver. Ele é cultivado do nível do mar até altitudes maiores que 1800m e do Equador ao Norte a 20°N (KHAN, 1981; KHAN et al., 1977, in SUMMERFIELD & ROBERTS, 1985).

Não há uma informação definida sobre por quanto tempo é economicamente viável manter a plantação. Os fazendeiros atualmente tratam o feijão alado como planta anual (LAM SÁNCHEZ et al., 1981)

Esta espécie foi introduzida em Jaboticabal (SP, Brasil) e os resultados mostraram que ela pode ser cultivada com bastante sucesso nessa região. As plantas comportaram-se como espécies anuais, embora seus ciclos tenham se prolongado muito mais em relação aos de outras culturas nas condições locais (LAM SÁNCHEZ et al., 1981).

O feijão alado floresce em clima de monção tropical. As chuvas que destroem rapidamente a maioria dos outros feijoeiros estimulam a floração do feijão alado. As vagens não são danificadas pela chuva.

Por outro lado, o feijão alado pode se acomodar a curtos períodos de seca, porém, períodos prolongados sem chuva em quantidade suficiente poderão matar as plantas. Neste caso, haverá necessidade de irrigação (MARTIN & DELPIN, 1978).

O solo para o feijão alado pode ser extremamente variável. Este feijão tolera solos úmidos e inférteis. Antes da semeadura é interessante a incorporação de material orgânico ou o fornecimento de fertilizante mineral balanceado ao solo. No entanto, uma vez estabelecida, a planta parece ser capaz de fixar nitrogênio suficiente para seu crescimento (MARTIN & DELPIN, 1978).

1.4. Fotoperiodismo

A maioria dos componentes (se não todos) de qualquer ecossistema possui suas características particulares em resposta aos fotoperíodos aos quais eles vêm sendo expostos (VINCE-PRUE, 1975).

A percepção real, pela planta, do comprimento do dia e/ou noite se dá pela percepção de mudanças dos níveis de luz durante o crepúsculo, e isso é fortemente modificado pela qualidade do espectro (SALISBURY, 1981).

Num sentido mais amplo, a resposta ao fotoperíodo pode ser a um aumento no comprimento do dia (tipo: dia longo), a uma diminuição no comprimento do dia (tipo: dia curto) ou ser independente do comprimento do dia (tipo: indiferente). O ponto importante é que a resposta não se dá a um comprimento do dia absoluto, mas em relação a um fotoperíodo crítico (acima ou abaixo do qual a planta floresce). A planta

de dia curto, Xanthium strumarium, por exemplo, floresce quando os dias são mais curtos que 15,6h, enquanto que a planta de dia longo, Hyoscyamus niger, floresce quando os dias são mais longos que 12,5h. Então, ambas florescem quando o comprimento do dia está entre 12,5 e 15,6h. Uma planta indiferente, poderia florescer em qualquer comprimento do dia, embora uma situação mais comum seja alguma promoção por dia curto ou dia longo (SALISBURY, 1981).

A sensibilidade das plantas ao comprimento do dia frequentemente varia com a idade; em muitos casos elas tornam-se mais facilmente induzidas conforme ficam mais velhas. Isso poderia acontecer devido à existência de uma área foliar maior, já que as folhas são os órgãos de percepção do fotoperíodo. No entanto esse não é o único fator envolvido já que o mesmo número de ciclos é necessário para induzir uma planta intacta e uma planta com apenas uma folha. Experimentos onde apenas uma folha foi induzida, mostraram que as folhas não são todas igualmente sensíveis ao fotoperíodo (VINCE-PRUE, 1975).

Entre os processos regulados pelo fotoperíodo, a floração é o que mais tem sido estudado. Foram o francês J. TOURNOIS e o alemão H. KLEBS que em primeiro lugar concluíram, independentemente, que a floração era controlada pelo comprimento do dia ou da noite (EVANS, 1969). No entanto, foram GARNER & ALLARD (1920), que afirmaram claramente que a floração, assim como muitas das outras respostas das plantas podem ser controladas ou aceleradas por dias longos ou curtos, dependendo da planta. Uma observação, destes mesmos autores, que corrobora a hipótese de que as folhas em fotoperíodo apropriado produzem um estímulo indutor da floração é que com o desfolhamento completo rara-

mente ocorre a floração. A presença de uma quantidade pequena de tecido foliar no fotoperíodo apropriado pode ser adequada para induzir uma resposta floral substancial. Segundo esses autores, o fotoperíodo também exerce efeito no crescimento vegetativo, sendo que dias longos promovem o alongamento do caule e ramos, originando plantas altas e pouco densas.

VINCE-PRUE (1975) cita 23 espécies de plantas que apresentam um aumento na área foliar quando expostas a dias longos, e 3 espécies que mostram esse efeito em dias curtos. ZAIDAN et al. (1980) observaram que Stevia rebaudiana em condições de dias longos apresentava maior produção de folhas. METIVIER & VIANA (1979) constataram que sob dias longos de 16 horas o crescimento vegetativo de S. rebaudiana é maior, com aumento do comprimento dos entrenós, da área foliar, da emergência das folhas e do peso da matéria seca.

FELIPPE & GIULIETTI (1971a,b) e FELIPPE et al. (1971a,b) classificaram Porophyllum lanceolatum como planta de dias curtos para floração e verificaram que dias longos provocaram maior crescimento vegetativo.

LOWE et al. (1976) também observaram que em mandioca, fotoperíodos longos promoveram o crescimento da parte aérea mas ao mesmo tempo reduziram o desenvolvimento das raízes tuberosas. A existência dessa resposta oposta pode estar indicando que o fotoperíodo regula uma relação competitiva entre o crescimento da parte aérea e a tuberculização (MOSER & HESS, 1986 in LOWE et al., 1976).

Uma vez que muitos órgãos de reserva são importantes produtos alimentícios, os fatores que influenciam seu desenvolvimento tem

recebido atenção considerável. Em várias espécies a formação desses órgãos depende, ou é acelerado por exposição das folhas a fotoperíodos específicos (VINCE-PRUE, 1975). A formação de tubérculos e raízes tuberosas é promovida em muitas espécies por dias curtos (GREGORY, 1965; JOLIVET, 1969; MURTY & BANERJEE, 1977).

A planta de feijão alado requer dias curtos para formação de raízes tuberosas e para floração (WONG & SCHWABE, 1979; KLIB-NGERN & BAUTISTA, 1982). Ele é cultivado principalmente entre 20°N e 10°S de latitude nos Trópicos Asiáticos, e raramente floresce quando crescido fora dos trópicos. Isso tem sido atribuído mais às diferenças no comprimento do dia do que à temperatura (N.A.S., 1975). No entanto, dentro da zona tropical úmida, há uma variação mínima no comprimento do dia, mas a variação na topografia pode ser a causa de grandes diferenças na temperatura. A influência da temperatura nas respostas fotoperiódicas, no controle do crescimento e floração está bem estabelecida e tem sido estudada, em detalhes, em outras espécies (ARULRAJAH & ORMROD, 1973; GOYNE & HAMMER, 1982; BREWSTER, 1983) e os resultados confirmam que em espécies tropicais a temperatura é tão importante quanto o comprimento do dia, afetando crescimento e floração (HERATH & ORMROD, 1979; WONG & SCHWABE, 1979).

Em função dos inúmeros aspectos abordados, o objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de P. tetragonolobus introduzido nas condições locais (Campinas, São Paulo), quanto aos aspectos de crescimento, floração, formação de raízes tuberosas e as interrelações desses processos de desenvolvimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal

As plantas de Psophocarpus tetragonolobus (L.) D.C. (feijão alado) que forneceram sementes para todos os experimentos foram cultivadas sob condições naturais, nos canteiros do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Estas plantas foram obtidas originalmente de sementes provenientes da Indonésia e fornecidas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

2.2. Métodos

2.2.1. Estudo de germinação de sementes

Para o estudo da germinação, as sementes foram colocadas em caixas gerbox contendo vermiculita lavada e umedecida com água destilada. Estas foram mantidas em câmaras de crescimento Forma Scientific, modelo 24, equipadas com lâmpadas fluorescentes brancas (irradiância de $320\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$). Foram feitas quatro repetições com 25 sementes por tratamento. A condição de escuro foi obtida colocando-se as caixas gerbox em três sacos plásticos pretos sobrepostos.

O critério adotado para considerar a semente germinada foi a percepção da protrusão da radícula a olho nu. No caso de sementes germinadas em condição de escuro, as contagens foram feitas sob luz

verde de segurança.

Os dados, obtidos em porcentagem, foram transformados em valor angular para fins de análise estatística dos resultados.

2.2.1.1. Efeito de diferentes temperaturas constantes

Para verificar o efeito de diferentes temperaturas, as sementes foram mantidas em câmaras com temperaturas constantes de 20, 25, 30 e 35°C, em luz e no escuro e a germinação foi acompanhada diariamente.

2.2.1.2. Efeito de GA₃ e CCC

Procurando verificar o efeito do ácido giberélico (GA₃) e do cloreto de 2-cloroetil trimetilamônio (CCC) na germinação e posterior crescimento da plântula, as sementes foram inicialmente embebidas por 15 minutos em soluções de GA₃ $1,4 \times 10^{-3}M$ e CCC $10^{-2}M$ diluídos em diclorometano. Foram usadas como controle sementes embebidas em água e diclorometano puros. Após a embebição, as sementes foram colocadas em placas de Petri abertas e deixadas por 24 horas em capela para evaporação do diclorometano. A seguir o experimento foi montado como descrito anteriormente.

2.2.2. Estudo do crescimento e desenvolvimento das plantas

2.2.2.1. Condições de crescimento

As sementes foram colocadas para germinar em rolos de papel de filtro umedecidos com água destilada. Após a germinação, as plântulas foram transferidas para vasos com terra e esterco curtido, na proporção de 4:1, e mantidas em câmaras de crescimento, casas de vegetação ou canteiros. Os vasos foram regados diariamente com água de torneira e, ocasionalmente, com solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND & ARNON, 1938).

Os dados de duração máxima de insolação diária nos meses em que foram conduzidos os experimentos se encontram no apêndice (tab. 1) e as médias mensais de temperatura no período estão citadas nas descrições dos experimentos em Material e Métodos e também sob forma de tabela, no apêndice (tab. 2,3 e 4).

2.2.2.1.1. Experimentos em câmaras de crescimento

As plantas envasadas foram colocadas em câmaras de crescimento (Convicon) sob fotoperíodo e temperatura controlados. As lâmpadas fluorescentes e incandescentes forneciam uma irradiância de 3100 uW.cm^{-2} ao nível do topo das plantas.

2.2.2.1.2. Experimentos em casa de vegetação

As plantas envasadas foram mantidas em casa de vegetação, sob fotoperíodo natural que quando necessário era complementado por luz artificial, com uso de lâmpadas incandescentes de 60W ($0,53W.m^{-2}$).

2.2.2.1.3. Experimentos em canteiros

Após permanecer por aproximadamente 15 dias em vasos, as plantas foram transferidas para canteiros, mantendo-se o espaçamento de 50 centímetros entre linhas e 40 centímetros entre plantas. Os canteiros já previamente preparados com torta de mamona e esterco de curral, receberam um mês após o plantio uma adubação suplementar com 3,5 gramas de fertilizante (NPK) por planta. As plantas foram tutoradas ou não, dependendo do tratamento.

2.2.2.2. Tutoramento das plantas

Nos experimentos executados em canteiros ou em vasos para verificar a influência do tutoramento ou da posição do caule principal no desenvolvimento das plantas, estas foram tutoradas em alguns casos com estacas de bambú, e em outros com cordas de-nylon.

Para estudar os efeitos de fotoperíodo e influência da temperatura na floração, crescimento das plantas e formação de tubérculos, as plantas mantidas em vasos foram tutoradas com estacas de bambú.

A idade das plantas na ocasião das coletas será citada na apresentação dos resultados.

2.2.2.3. Coleta e preparação do material

2.2.2.3.1. Peso da matéria fresca ou seca

Após terem sido feitas todas as medidas de crescimento e desenvolvimento "in vivo", as diferentes partes da planta foram destacadas, acondicionadas individualmente em sacos plásticos e levadas imediatamente para pesagem da matéria fresca. Para determinação do peso da matéria seca, as partes das plantas foram colocadas em sacos de papel. Os tubérculos, devido à espessura, foram previamente cortados em fatias para facilitar a secagem. Para estimativa da área foliar, foram retirados 10 discos foliares, de cada planta utilizando-se um perfurador de folhas. Os discos de área foliar conhecida, assim como o restante das folhas, foram colocados, separadamente, em sacos de papel e encaminhados para a secagem.

Neste trabalho optou-se pelas expressões "peso de matéria fresca" e "peso de matéria seca", por serem termos utilizados internacionalmente, embora, na realidade, estejamos nos referindo à massa do material. Massa é o termo correto para expressar a quantidade de matéria do objeto (RESNICK & HALLIDAY, 1965).

2.2.2.3.2. Análise de proteínas e carboidratos solúveis totais

Para estas análises, em geral, foi retirado um grama de cada material fresco (folhas, raízes tuberosas, etc) que foi colocado em frasco com 10ml de solução de metanol-clorofórmio-água (MCW) na proporção de 12:5:3 (v/v/v). O extrato, quando não utilizado imediatamente, foi armazenado a -18°C .

No caso de sementes secas, estas foram moídas em moinho de bola (SPEX MIXER/MILL) até obtenção de um pó fino, do qual posteriormente foi tomado um grama para extração e dosagem.

2.2.2.3.3. Análise de ureídeos e aminoácidos totais contidos na seiva do xilema

A coleta de seiva do xilema foi feita segundo McClure et al. (1980). Os vasos foram regados com 500ml de solução nutritiva e após um intervalo de trinta minutos o caule foi cortado com lâmina de aço pouco acima do colo da planta. Os exsudatos de cinco plantas de cada tratamento foram coletados com auxílio de uma micropipeta de 50 μl , por capilaridade, e expelidos individualmente em frascos que se encontravam em recipientes de isopor com gelo. Após diluição de dez vezes com água, a seiva coletada foi armazenada a -18°C .

2.2.2.4. Análise de crescimento

2.2.2.4.1. Em diferentes períodos do ano

Foi feita a análise de crescimento de plantas cultivadas em canteiros, em dois períodos diferentes: Primavera-Verão (fotoperíodo médio de 13 horas) e Outono-Inverno (fotoperíodo médio de 11 horas). As plantas foram tutoradas com estacas de bambú (um tripé de estacas por planta) e periodicamente conduzidas para que não se enrodelhassem umas nas outras. A temperatura média mensal no período Primavera-Verão variou entre 18,2°C (em setembro) e 25,5°C (em fevereiro) e no período Outono-Inverno entre 17,9°C (em agosto) e 21,0°C (em abril).

A primeira amostragem foi feita quando as plantas possuíam noventa dias de idade, seguindo-se coletas mensais até 180 dias no período de Primavera-Verão e até 150 dias no período de Outono-Inverno. Em cada amostragem foram colhidas dez plantas, aleatoriamente, para medidas e cálculos de crescimento.

2.2.2.4.2. Medidas para avaliação do crescimento

De acordo com o tipo de experimento foram feitas diferentes observações, medidas e estimativas de índices fisiológicos visando a avaliação do crescimento e desenvolvimento das plantas:

- Peso da matéria fresca e seca de diferentes partes da planta - foi determinado em balança analítica SARTORIUS (sensibilidade de 0,1g)

ou AINSWORTH (sensibilidade de 0,01g) dependendo da quantidade de material. A determinação de peso da matéria seca, foi feita após permanência do material por 48 horas em estufa com circulação forçada a 80°C.

- Teor de água dos tubérculos - foi calculado subtraindo-se o peso da matéria seca do peso da matéria fresca.

- Área foliar (AF) - foi estimada utilizando-se amostras de discos foliares de área conhecida, a partir da relação entre o peso seco da área conhecida do disco e o peso seco do restante da folha (MAGALHÃES, 1979):

$$AF = \frac{\text{área do disco foliar}}{\text{peso da mat. seca disco foliar}} \times \text{peso da mat. seca foliar}$$

- Altura da planta - o comprimento do ramo principal foi medido do colo até o ápice.

- Comprimento e diâmetro de raízes tuberosas - o comprimento das raízes tuberosas foi medido do colo até o ápice, e o diâmetro determinado na região mais espessa da raiz tuberosa.

- Número de folhas - foram contadas todas as folhas das plantas que possuíam mais de 3 mm de comprimento.

- Número de nós - foram contados os números de nós do ramo principal da planta.

- Taxa de crescimento relativo (TCR) - foi feito o cálculo da TCR da parte aérea da planta e da TCR das raízes tuberosas, segundo WEST et al (1920):

$$TCR = \frac{\ln P_2 - \ln P_1}{t_2 - t_1} \text{ (mg.g}^{-1}\text{.dia}^{-1}\text{)}$$

onde: P_2 = peso de matéria seca total no tempo t_2

P_1 = peso da matéria seca total no tempo t_1

t_2 e t_1 = tempo (dias após plantio)

- Taxa de assimilação líquida (TAL) - foi calculada de acordo com BRIGGS et al (1920):

$$TAL = \frac{P_2 - P_1}{A_2 - A_1} \times \frac{\ln A_2 - \ln A_1}{t_2 - t_1} \text{ (mg.dm}^{-2}\text{.dia}^{-1}\text{)}$$

onde: P_2 = peso de matéria seca total da parte aérea no tempo t_2

P_1 = peso de matéria seca total da parte aérea no tempo t_1

A_2 = área foliar no tempo t_2

A_1 = área foliar no tempo t_1

t_2 e t_1 = tempo (dias após plantio)

- Área foliar específica (AFE) e Razão de área foliar (RAF) - foram calculadas segundo PEREIRA & MACHADO (1987):

$$AFE = \frac{A}{PF} \text{ (dm}^2\text{.g}^{-1}\text{)}$$

$$RAF = \frac{A}{P} \quad (\text{dm}^2 \cdot \text{g}^{-1})$$

onde: A = área foliar no tempo t

PF = peso de matéria seca foliar no tempo t

P = peso de matéria seca total no tempo t

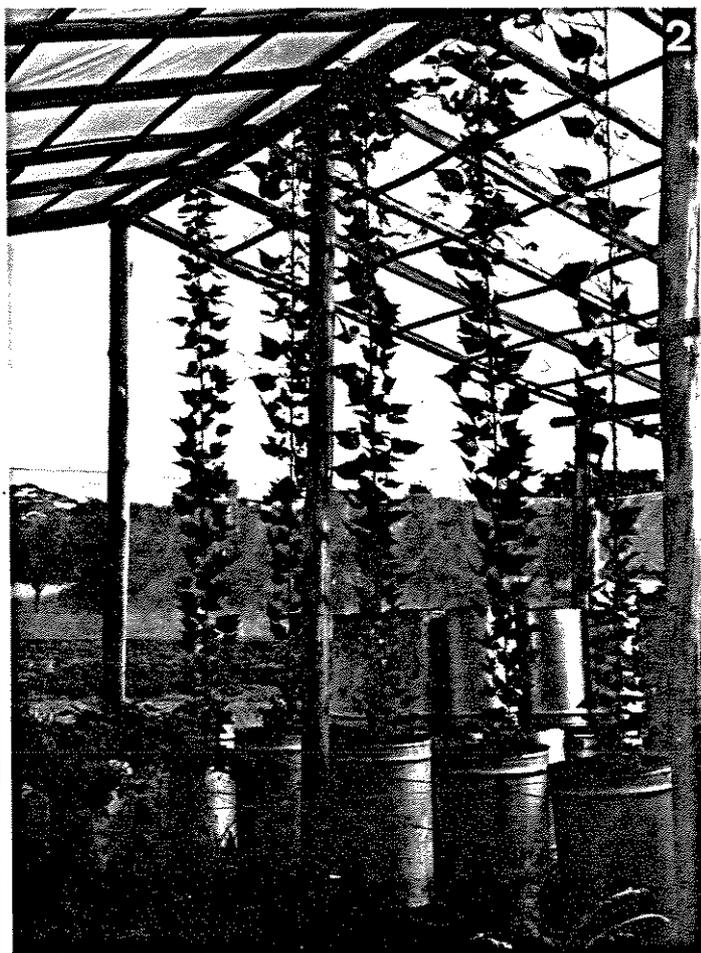
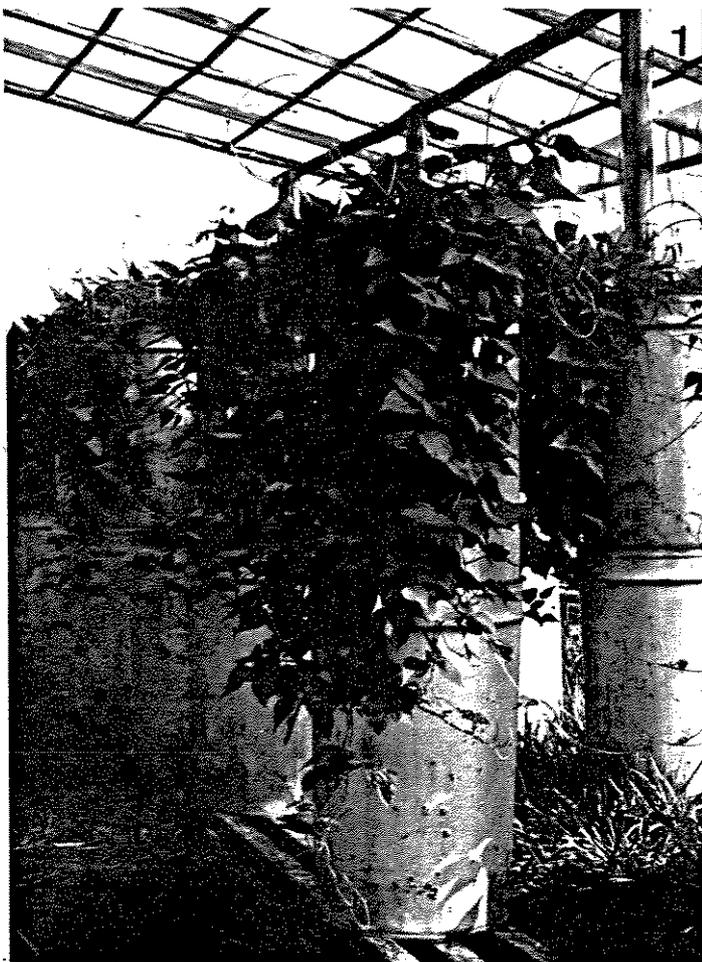
2.2.2.5. Influência do tutoramento no crescimento das plantas, floração e formação de raízes tuberosas

Foram montados dois experimentos em casa de vegetação: um com plantas em vasos de plástico (de aproximadamente 5 litros de capacidade) e outro com plantas em tambores de metal (de aproximadamente 100 litros de capacidade). Em ambos foram mantidas: plantas pendentes (Fig. 1), plantas tutoradas verticalmente (Fig. 2) e plantas tutoradas horizontalmente (Fig. 3). Para que as plantas crescessem pendentes, os vasos e tambores foram mantidos a aproximadamente 1,5 m acima da superfície do solo.

O experimento com plantas em vasos foi montado no mês de outubro e a coleta foi feita no mês de março. Portanto, as plantas se desenvolveram no período Primavera-Verão, quando a temperatura média variou de 20,7°C (outubro) a 25,5°C (fevereiro). O experimento com plantas em tambores, foi montado no mês de janeiro e a coleta final foi feita em agosto (Verão-Outono-Inverno) quando as plantas estavam com 7 meses de idade. Nesses meses, a temperatura média oscilou de 16,0°C em junho a 23,8°C em fevereiro).

Foram conduzidos ainda três experimentos em canteiros, comparando o comportamento de plantas tutoradas e rasteiras. Em dois de

Figuras 1, 2 e 3 - Plantas de Psophocarpus tetragonolobus cultivadas em tambores de diferentes maneiras: pendentes (fig. 1); tutoradas verticalmente (fig. 2) e tutoradas horizontalmente (fig. 3).



les (Exp. I e II), as plantas foram tutoradas com tripé de bambú e no terceiro (Exp. III) com fios de nylon. No experimento I as plantas foram transferidas para canteiros no mês de agosto após permanecer 90 dias em câmaras de crescimento com temperatura dia/noite de 25/20°C, e fotoperíodo de 11 horas. Foram realizadas 2 coletas: após 75 e 105 dias em canteiros. Nesse período, a temperatura média variou de 18,2°C, em setembro, a 22,4°C em novembro e dezembro. Nos experimentos II e III procedeu-se como nos demais experimentos em canteiros (item 2.2.1.1.). No experimento II, as plantas foram transferidas para canteiros no mês de setembro, quando foi registrada a menor temperatura do período (18,2°C) e foram mantidas até o mês de fevereiro, quando foi registrada a temperatura mais alta (25,5°C). O experimento foi desmontado quando as plantas completaram 170 dias em canteiros. No experimento III as plantas foram transplantadas para canteiros no mês de abril. Foram realizadas duas coletas: a primeira após 100 dias, e a segunda após 160 dias. A temperatura média mensal nesse período variou de 17,0°C em julho, e 22,1°C em abril (experimento realizado em período Outono-Inverno).

2.2.2.6. Efeito da posição do caule principal e de sua distância do solo na floração e formação de raízes tuberosas

As plantas cresceram em canteiros, sem tutoramento (sobre tela plástica), ou tutoradas. Das plantas sem tutoramento, 13 cresceram sobre tela plástica colocada diretamente sobre a superfície do solo e as outras foram mantidas a diferentes distâncias da superfície

(13 por tratamento). Para isso foram montadas armações de madeira sobre os canteiros, cobertas com tela plástica, com alturas de 15, 30 e 60cm (fig. 4).

Foram conduzidos 2 experimentos: um no período verão-inverno (11/1 - 25/8) e outro no período primavera-outono (28/11 - 15/06). A temperatura média mensal, no período Verão-Inverno, variou de no mínimo 17,9°C (agosto) a no máximo 25,5°C (fevereiro) e no período Primavera-Outono de no mínimo 16,0°C (junho) a 23,8°C (fevereiro).

2.2.2.7. Efeito da remoção de inflorescências no crescimento da planta e formação de raízes tuberosas

Foram avaliados os parâmetros de crescimento e a formação de raízes tuberosas em plantas tutoradas e rasteiras cultivadas em canteiros. Um grupo de plantas teve suas inflorescências removidas periodicamente, assim que eram visualizadas a olho nú e outro foi mantido como controle, sem remoção de flores. As plantas foram transplantadas para canteiros no mês de abril. Um mês depois, a maioria das plantas já estava com flores e então foi dado início ao tratamento. Foram realizadas duas coletas: 2 e 4 meses após o início do tratamento. Portanto, as plantas permaneceram em canteiros, ~~portanto~~, do mês de abril ao mês de setembro (período Outono-Inverno). A temperatura média mensal variou de 17,0°C (julho) a 22,1°C (abril).

Figura 4 - Plantas de P. tetragonolobus tutoradas e sem tutoramento (mantidas sobre tela plástica, a diferentes distâncias da superfície do solo).



2.2.2.8. Efeito da remoção de folhas na formação de raízes tuberosas

Para verificar qual o número mínimo de folhas necessário para que as plantas formassem raízes tuberosas, plantas com 45 dias de idade (aproximadamente 10 folhas) tiveram todas as gemas, ramos laterais e parte de suas folhas removidas.

As plantas foram divididas em seis grupos nos quais foram mantidas apenas:

- a - uma folha primária (1P+0T)
- b - duas folhas primárias (2P+0T)
- c - duas folhas primárias + uma trifoliolada (2P+1T)
- d - duas folhas primárias + duas trifolioladas (2P+2T)
- e - duas folhas primárias + três trifolioladas (2P+3T)
- f - duas folhas primárias + quatro trifolioladas (2P+4T)

Foi mantido também um 7º grupo de plantas controle, das quais não foram removidas folhas, ramos laterais e gemas laterais (plantas intactas). Esse experimento foi realizado em casa de vegetação no período Outono-Inverno (temperatura média mensal variando de 17,0°C, em julho a 22,1°C em abril) e as plantas foram coletadas 4 meses (120 dias) após o início do tratamento.

2.2.2.9. Efeito do fotoperíodo

As plantas, em vasos, foram mantidas em casa de vegetação, sobre bancadas, recebendo oito horas de luz natural. Após esse período as bancadas eram cobertas por armações revestidas de tecido preto que impediam a entrada de luz, e imediatamente tinha início a suplementação com luz artificial (lâmpadas de 60Watts), de modo a fornecer às plantas um total de: 10, 12, 14, 16 e 20 horas de luz diárias. Foram realizadas avaliações após 47, 60 e 67 dias de tratamento. Durante o decorrer do experimento a temperatura mensal média variou de ,no mínimo, 18,7°C (junho) a, no máximo, 21°C (abril).

2.2.2.10. Influência de diferentes regimes térmicos

Foram feitos dois experimentos em câmaras de crescimento com comprimento do dia constante (13 horas de luz), submetendo as plantas a combinações diferentes de temperatura dia/noite: 20/15, 25/20 e 30/25°C. Posteriormente, foi montado um terceiro experimento, no qual as plantas foram colocadas em combinações desfavoráveis para florescimento e tuberização (segundo o que se observou em experimentos anteriores) até atingir 9 a 10 nós no caule principal: fotoperíodo de 20 horas e temperatura dia/noite de 30/25°C. Após esse período as plantas foram colocadas nas condições descritas acima: temperatura dia/noite de 20/15, 25/20 e 30/25°C e fotoperíodo de 13 horas.

2.2.3. Extrações e dosagens

2.2.3.1. Carboidratos solúveis totais

A extração de carboidratos solúveis totais de diferentes partes da planta foi feita segundo BIELESKI & TURNER (1966). O material em MCW foi homogeneizado em Politron PT 35 (KINEMÁTICA GmbH-BRINKMANN INSTRUMENTS) e centrifugado a 129,5.g (2500rpm) durante dez minutos em centrífuga FANEN. O precipitado foi reservado para extração de proteínas, e a 4,0ml do sobrenadante foram adicionados 1,0ml de clorofórmio P.A. e 1,5ml de água destilada. Com a finalidade de separar as fases, o material foi submetido a nova centrifugação a 129,5.g por 5 minutos e a fase aquosa foi recolhida para dosagem de carboidratos solúveis totais pelo método de antrona (YEMM & WILLIS, 1954). A 1,0ml da solução da amostra foram adicionadas 2,0 de solução de antrona 0,2% em ácido sulfúrico 95%. Após agitação, os tubos foram aquecidos em banho maria a 100°C por três minutos e a seguir, foi feita a leitura das amostras em espectrofotômetro MICRONAL a 620nm. O cálculo da quantidade de carboidratos solúveis totais foi feito a partir de uma curva padrão de soluções de dextrose variando de 0 a 100µg.ml⁻¹.

2.2.3.2. Proteínas solúveis

O precipitado que foi reservado após homogeneização do material, foi ressuspendido três vezes com 5ml de NaOH 0,1M. O extrato foi centrifugado a 129,5.g durante cinco minutos e uma alíquota de 100µl

do sobrenadante foi utilizada para dosagem de proteínas solúveis pelo método de BRADFORD (1976). À amostra foram adicionados 5ml de solução de "Coomassie Brilliant Blue" e após agitação foi feita a leitura em espectrofotômetro MICRONAL a 595nm. A quantificação foi feita utilizando-se soluções de albumina de soro bovino (BSA) como padrão, variando de 0 a $100\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

2.2.3.3. Aminoácidos livres totais

Para dosagem de aminoácidos livres totais, de acordo com YEMM & COCKING (1955), a seiva coletada do xilema foi diluída 100 vezes. A 1,0ml de solução da amostra, foram adicionados 0,5ml de tampão citrato a pH 5,0 (0,2M), 0,2ml de ninhidrina 5% em metilcelussolve e 1,0ml de cianeto de potássio a 2% v/v 0,01M em metilcelussolve. Os tubos foram tampados com bolinhas de vidro e aquecidos em banho maria fervente durante 20 minutos. Após resfriamento, o volume foi completado para 4,0ml com etanol 60%. A seguir, foi feita a leitura das amostras em espectrofotômetro a 570nm. A avaliação dos resultados foi feita a partir de uma curva padrão de leucina em concentrações que variavam de 0 a $200\text{nmoles}.\text{ml}^{-1}$.

2.2.3.4. Ureídeos Totais

Para a determinação dos ureídeos totais, de acordo com TRITBELS & VOGELS (1966), a seiva coletada do xilema foi diluída 20 vezes. Em tubos de ensaio foram colocados 0,75ml da solução da amos-

tra, 0,25 ml de NaOH 0,5N e uma gota de fenil-hidrazina 0,33%. Após permanência dos tubos por oito minutos em banho maria a 100°C, foram acrescentados 0,25ml de HCl 0,65N e colocados novamente em banho maria a 100°C por quatro minutos. Após resfriamento foram adicionados 0,25ml de tampão fosfato 0,4M a pH 7,0 e 0,25ml de fenil-hidrazina 0,33%. Os tubos foram deixados por cinco minutos em temperatura ambiente e depois colocados imediatamente em banho de gelo para esfriar. Foram adicionados então, 1,25ml de HCl concentrado a 0°C e os tubos retirados do banho de gelo. Foram acrescentados 0,25ml de ferricianeto de potássio 1,65% e após um repouso de 15 minutos foi feita a leitura em espectrofotômetro a 535 nm. A quantificação dos ureídeos totais foi feita tomando como referência uma curva padrão de alantoína em concentrações que variaram de 0 a 100nmoles.ml⁻¹.

2.2.3.5. Clorofilas a e b

Oito discos foliares de área e peso conhecidos, foram mace- rados em almofariz, com 10ml de acetona 80%. Após filtragem do extrato em funil com papel de filtro, foram feitas as leituras em espectrofo- tômetro a 663 e 645nm, respectivamente. Os cálculos da quantidade de clorofila a e b e total foram feitos segundo ARNON (1949).

2.2.3.6. óleo

O óleo das sementes foi extraído com hexano a quente, em soxhlet por oito horas, e a dosagem gravimétrica foi feita segundo

AOAC (1970).

2.2.3.7. Ácidos Graxos

O óleo foi saponificado e esterificado de acordo com HARTMAN & LAGO (1973). Em balão de vidro de 125ml, foram colocados 400mg de óleo e 5,0ml de solução metanólica de KOH 0,5N. Após aquecimento por cinco minutos, em refluxo, foram adicionados 15ml de solução para esterificação (mistura de: 3,0ml de ácido sulfúrico concentrado, 2g de cloreto de amônia e 60ml de metanol) e a solução final novamente aquecida, em refluxo, por três minutos. Depois de fria, a mistura foi transferida para funil de separação e acrescentados 5,0ml de hexano. Essa operação foi repetida três vezes, agitando bem e descartando a fase aquosa. A fase hexano foi então lavada, quatro vezes, com 150ml de água destilada, filtrada em sulfato de sódio anidro, evaporada a vácuo e ressuspensa em 10ml de hexano.

A separação e quantificação dos ácidos graxos contidos no óleo, foi feita em cromatógrafo a gás (modelo CG37-D) equipado com coluna de vidro contendo dietilenoglicolsuccinato 14% (DEGS) em cromosorb W, a 182°C, usando N₂ como gás de arraste e detector de ionização de chama (HARTMAN & LAGO, 1973)

2.2.4. Análise "in situ"

Foram utilizadas raízes tuberosas de plantas com 2 e 8 meses de idade, crescidas em vasos mantidos em casa de vegetação e raízes

tuberosas de plantas com 12 meses de idade crescidas em canteiros, submetidas aos seguintes tratamentos: tutoradas com flores, tutoradas sem flores, rasteiras com flores e rasteiras sem flores

2.2.4.1. Fixação

As raízes tuberosas, após terem sido seccionadas em fatias de aproximadamente 0,3cm de espessura, foram submetidas à fixação em solução de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M a pH 7,4 e glutaraldeído a 2,5% durante 48 horas a 5°C (KIERNAN, 1981)

O material a ser submetido a digestão com enzimas proteolíticas foi fixado em etanol absoluto durante 48 horas a 5°C (LISON, 1953).

2.2.4.2. Processamento

Após a fixação, e quando necessário, o material foi desidratado em soluções de etanol com concentrações crescentes (70 a 100%) e diafanizado, inicialmente em xilol por 30 minutos, e em seguida por imersão em óleo de cedro por no mínimo 14 dias (POLICARD et al., 1957).

O material foi então incluído em parafina e seccionado, com 8µm de espessura (micrótomo: R. Jung, Heidelberg). Os cortes foram submetidos então a um processo de desparafinização e hidratação.

2.2.4.3. Métodos gerais, citoquímicos e citofísicos para determinações qualitativas

2.2.4.3.1. Hematoxilina-eosina (HE)

Para uma visualização geral dos tecidos, os cortes foram corados em hematoxilina por 7 minutos, deixados em água destilada por 12 minutos, a seguir em eosina por 10 minutos, rapidamente desidratados, diafanizados em xilol e montados em bálsamo do Canadá ($n_D = 1,54$) (MAIA, 1979).

2.2.4.3.2. Xylidine Ponceau a pH 2,5 (XP)

Para detecção de radicais positivos totais, o material foi corado durante 15 minutos com xylidine Ponceau à temperatura ambiente, lavado com ácido acético 2% durante 30 minutos, desidratado, diafanizado e montado em bálsamo do Canadá (VIDAL, 1970).

2.2.4.3.3. Digestões enzimáticas para extração de proteínas

Os cortes de materiais fixados em etanol absoluto, foram submetidos aos seguintes métodos de extração:

a - Digestão com pepsina

Após incubação por 6 horas a 37°C em solução de pepsina (2mg.ml⁻¹ em solução de HCl com pH ajustado para 1,6), o material foi lavado em água, corado com xylydine Ponceau a pH 2,5 e montado em bálsamo do Canadá. Como controle, foi feita a incubação do material em solução de HCl sem pepsina, a pH 1,6 (PEARSE, 1961).

b - Digestão com tripsina

Após incubação por 2 horas a 37°C em tampão fosfato 0,05M a pH 8,9, contendo 0,2mg.ml⁻¹ de tripsina, o material foi corado com xylydine Ponceau e montado em bálsamo do Canadá. Como controle foi feita a incubação do material na solução tampão sem tripsina (PEARSE, 1961).

2.2.4.3.4. Azul de toluidina a pH 4,0 (AT)

Para detecção de radicais aniônicos e metacromasia os cortes foram corados com azul de toluidina a pH 4,0 em tampão McIlvaine, lavados rapidamente (3 vezes) com água destilada, secos ao ar, diafanizados durante 10 minutos em xilol e montados em bálsamo do Canadá (VIDAL, 1977)

2.2.4.3.5. Microscopia de polarização

Para a detecção de birrefringência das paredes celulares e dos grãos de amido, os materiais foram observados em microscópio de polarização Pol Zeiss com analisador e polarizador cruzados.

2.2.4.3.6. Microscopia de fluorescência

Os cortes ~~preparados~~ a serem analisados em microscópio de fluorescência, após desparafinização, foram subdivididos em 2 grupos. O primeiro foi montado em óleo mineral não fluorescente (nujol) e as lamínulas lutadas com esmalte. O segundo grupo foi imerso durante 30 minutos em solução de butanol com 0,1% de 1 anilino-8-sulfonato naftaleno (ANS) para detecção de radicais hidrofóbicos, sendo a seguir lavado em butanol e montado como descrito para o primeiro grupo.

As observações foram feitas em microscópio Zeiss equipado para fluorescência, utilizando-se filtros de excitação: a) BG12/4, com intervalo de transmissão entre 330 e 500nm; b) BG3/4, com intervalo de transmissão entre 270 e 480nm; c) VG 1/3, que é praticamente um filtro negro com intervalo de transmissão entre 300 e 400nm e filtros de barreira: a) filtro 50, com transmissão acima de 500nm; b) filtro 53, com transmissão acima de 530nm e c) filtro 65, para detecção de fluorescência vermelha, com comprimento de onda acima de 650nm (VIDAL, 1987).

2.2.5. Análise dos resultados

No geral, foram utilizadas 10 plantas (repetições) por tratamento e o período de verificação dos resultados variou de acordo com o tipo de experimento. Foram realizadas análises de variância por delineamento inteiramente casualizado (SNEDECOR & COCHRAN, 1967) e no caso de F significativo ao nível de 5% de probabilidade foi aplicado o teste de Tukey para cálculo da diferença mínima significativa ($p < 0,05$) (GOMES, 1982).

Nas tabelas e gráficos referentes aos resultados, os valores expressam a média de 10 plantas, a não ser no caso de formação de raízes tuberosas, quando esses expressam a média do número de plantas que possuíam raízes tuberosas. Os valores seguidos de letras diferentes apresentam diferenças significativas ao nível de 5%.

Sempre que há mais de uma coleta, a análise de variância foi feita entre indivíduos e tratamentos de uma mesma coleta (nunca entre uma coleta e outra).

3. RESULTADOS

3.1. Germinação de sementes

3.1.1. Efeito de diferentes temperaturas constantes

A germinação de sementes de feijão alado foi significativamente diferente entre algumas das temperaturas utilizadas: na luz, a partir do 2º dia e no escuro em todos os dias.

Na luz, a menor porcentagem de germinação se deu, após 2 e 3 dias a 20°C e do dia 4 em diante a 35°C (fig.5).

No escuro, no 2º e no 3º dia, a taxa mais baixa de germinação ocorreu a 20°C e nos dias 6 e 7 a 35°C (fig. 6).

Nota-se portanto, que, no geral, as temperaturas de 25 e 30°C, tanto na luz como no escuro foram mais favoráveis à germinação de sementes de feijão alado, que as de 20 e 35°C e no 7º dia, apenas as sementes mantidas a 35°C apresentaram uma taxa de germinação menor.

Estas sementes apresentaram fotoblastismo positivo (germinação significativamente maior na luz que no escuro) apenas a 20°C nos primeiros dias de germinação (fig. 7).

3.1.2. Efeito de GA₃ e CCC

A germinação de sementes embebidas durante 15 minutos em soluções de GA₃ $1,4 \times 10^{-3}M$ e CCC $10^{-2}M$ diluídos em diclorometano não apresentou diferença significativa em relação aos controles (água ou diclorometano puro). No 4º dia todas as sementes haviam germinado,

Figura 5 - Germinação de sementes de P. tetragonolobus em temperaturas constantes, em luz fluorescente branca. As letras representam a DMS^{5%} (Tukey).

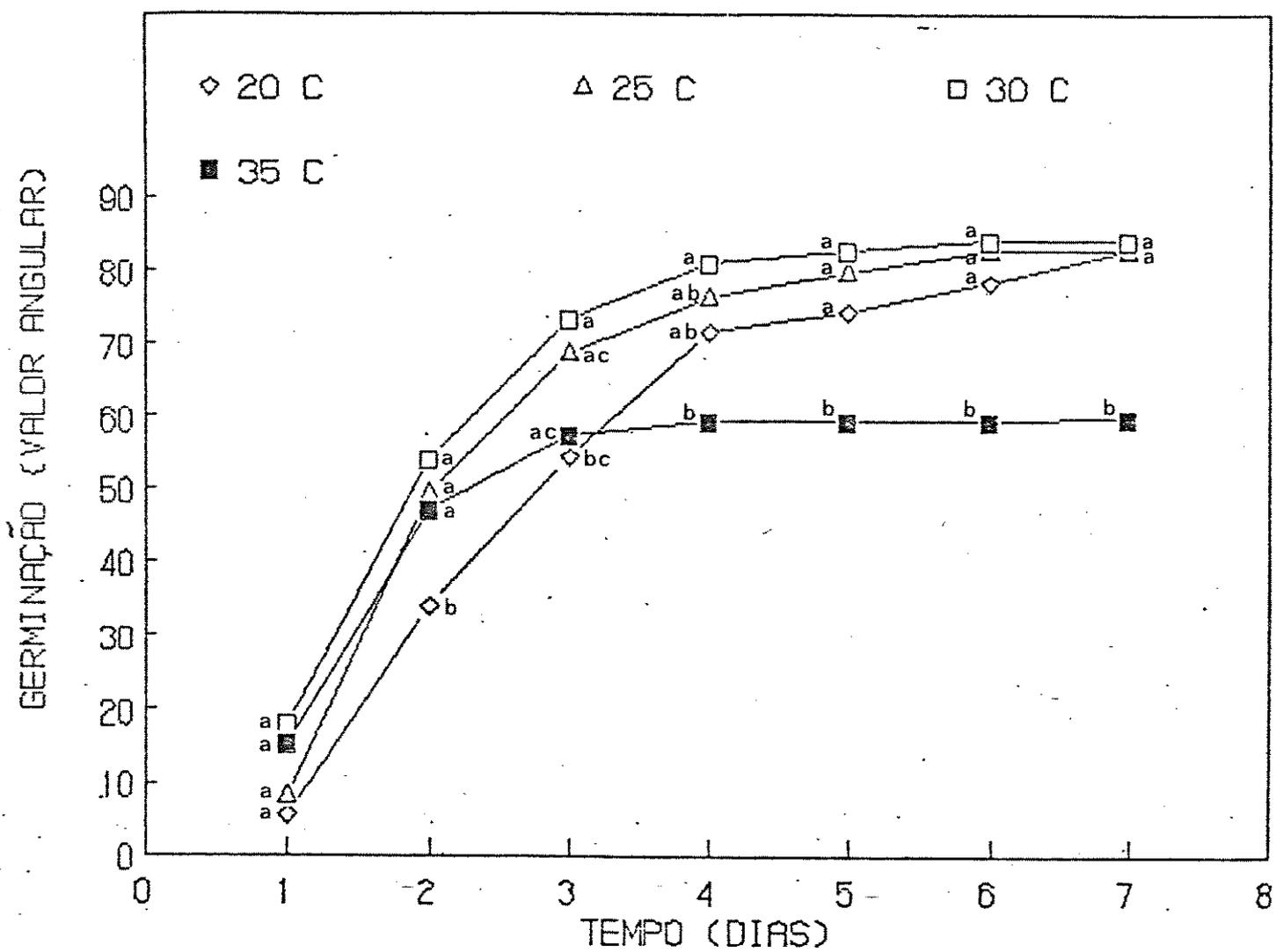


Figura 6 - Germinação de sementes de P. tetragonolobus em temperaturas constantes, no escuro. As letras representam a DMS^{5%} (Tukey).

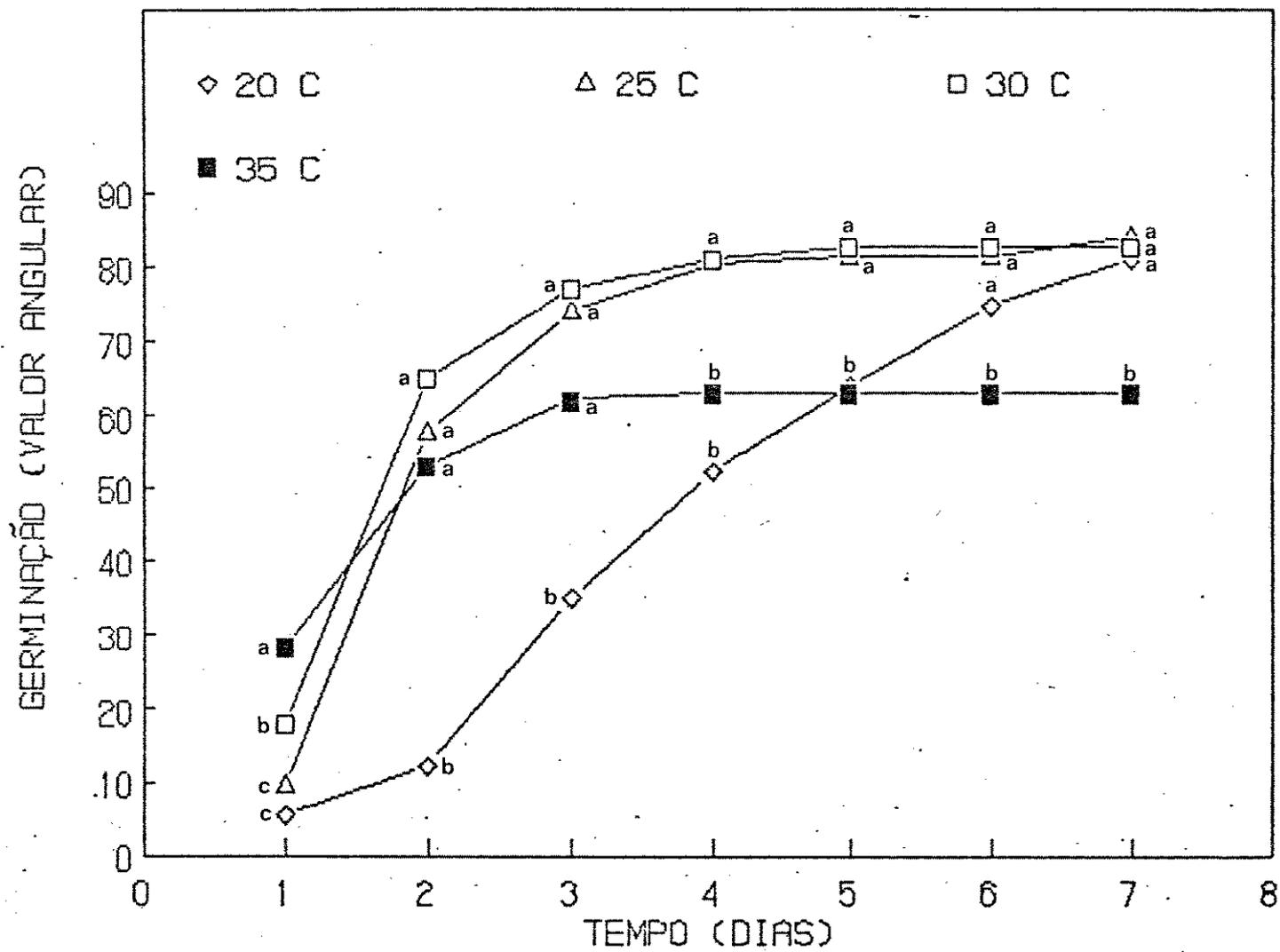
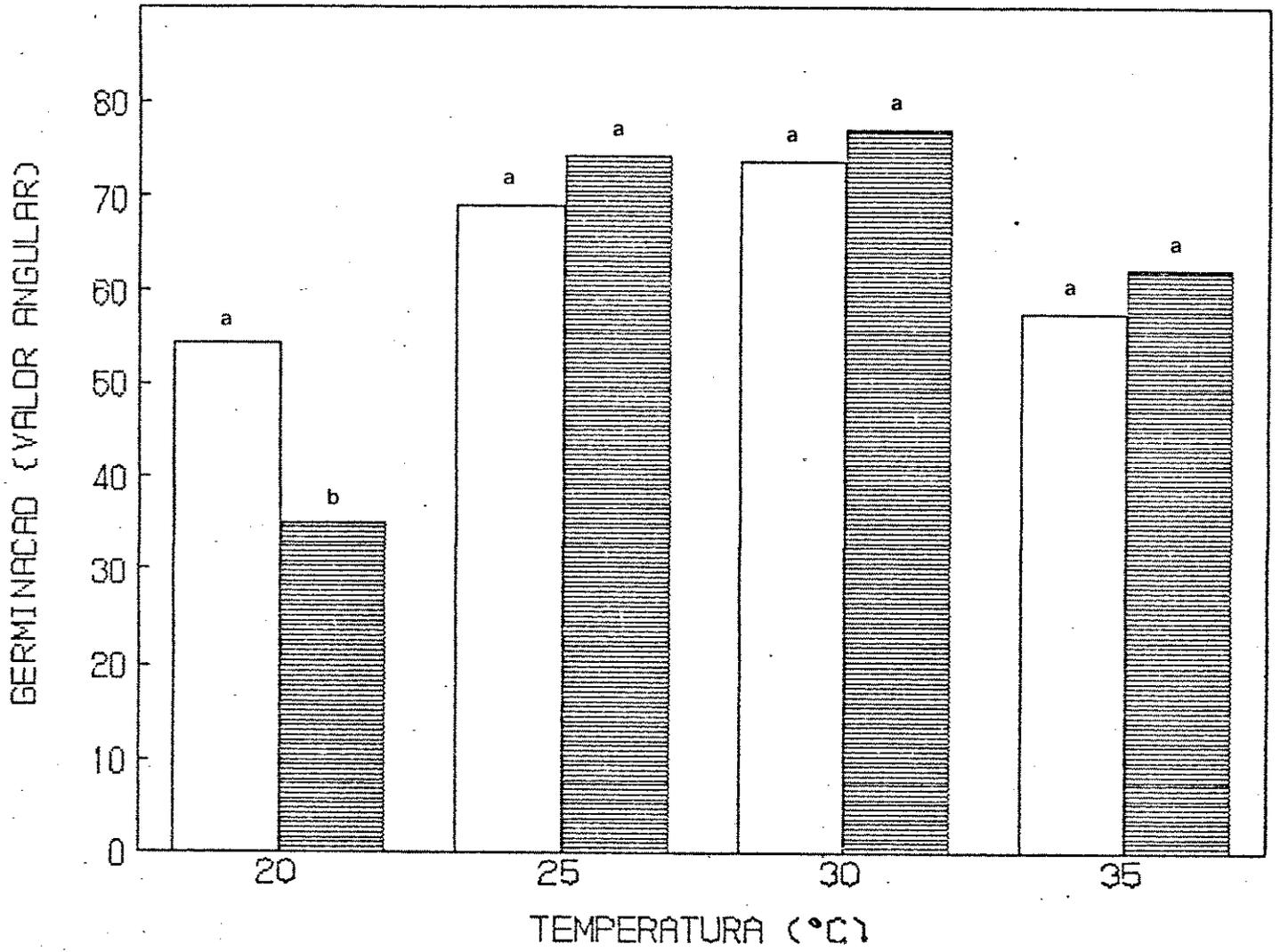


Figura 7 - Germinação de sementes de P. tetragonolobus em temperaturas constantes, em luz e no escuro, no 3º dia.

 = luz
 = escuro



independentemente do tratamento aplicado (fig. 8).

Em relação ao crescimento posterior das plântulas os resultados não foram concludentes.

3.2. Estudos com plantas

3.2.1. Crescimento das plantas

3.2.1.1. Análise de crescimento

Pode-se notar pelas tabelas 1 e 2 que as plantas cultivadas no período Primavera-Verão apresentaram do 3º para o 5º mês (1ª para 3ª coleta), uma porcentagem de aumento do peso da matéria seca da parte aérea e número de folhas cerca de 2 vezes maior do que as plantas de Outono-Inverno. As plantas com 150 dias de idade crescidas no período Primavera-Verão possuíam 5 vezes mais folhas que aquelas crescidas no período Outono-Inverno. A área foliar nesse mesmo intervalo de tempo aumentou 1,5 vezes mais: enquanto as plantas crescidas no período Primavera-Verão apresentaram um aumento de aproximadamente 11 vezes, aquelas crescidas no período Outono-Inverno aumentaram ao redor de 7,5 vezes.

A AFE permaneceu constante durante o desenvolvimento das plantas nas diferentes estações de crescimento. O mesmo se observa em relação a RAF no período Outono-Inverno, enquanto que no período Primavera-Verão essa razão diminuiu conforme a idade das plantas foi aumentando.

Figura 8 - Germinação de sementes de P. tetragonolobus embebidas em diferentes soluções.

△ -controle

□ -diclorometano

◇ -diclorometano + GA₃

■ -diclorometano + CCC

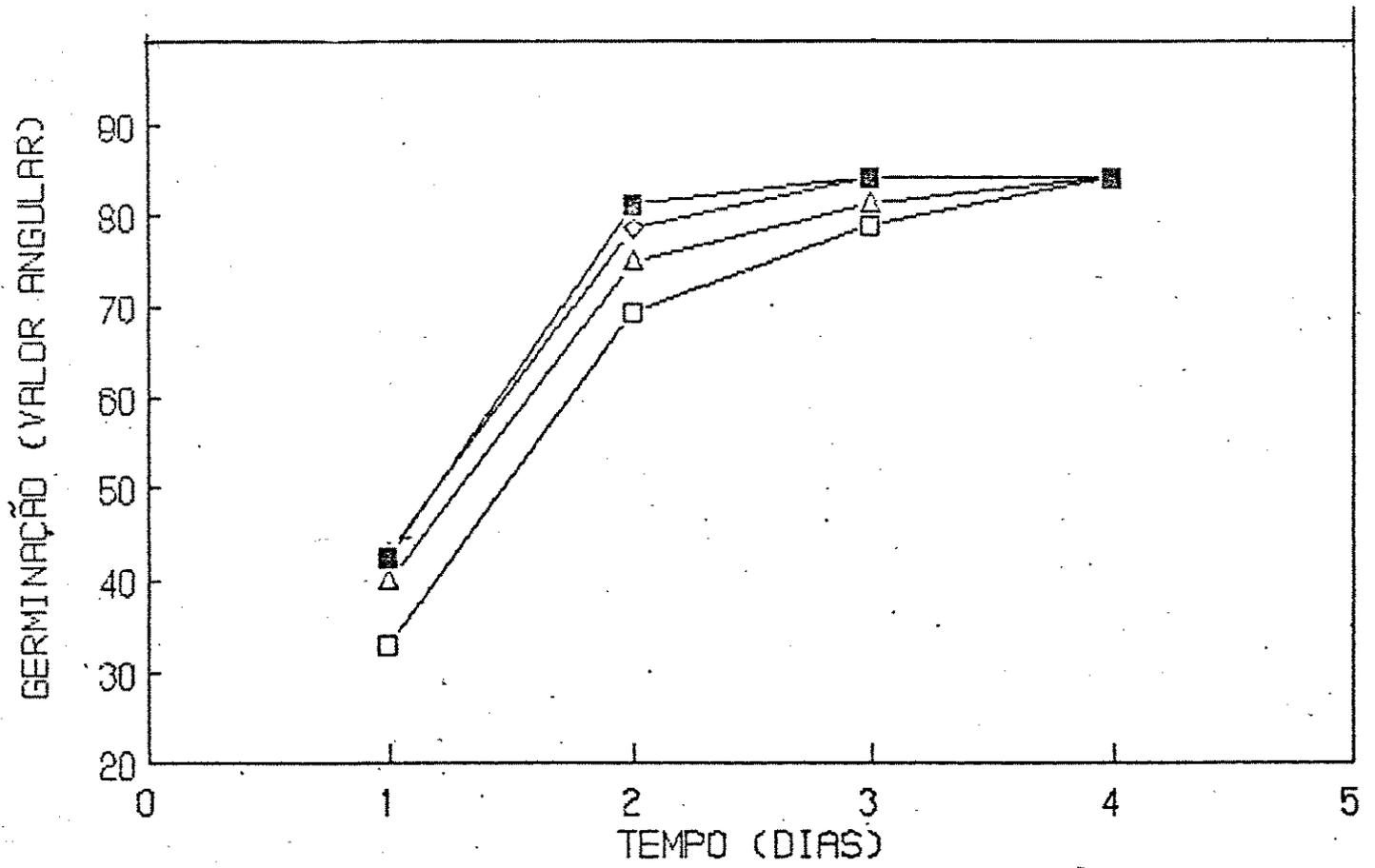


Tabela 1: Análise de crescimento de plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros no período Primavera-Verão.

Parâmetros	Tempo (dias após plantio)			
	90	120	150	180
Número de folhas	54	198	299	555
Peso da Mat. Seca lâm. foliar (g)	6,73	39,30	76,15	143,66
Peso da Mat. Seca caule (g)	2,60	20,23	48,97	145,50
Peso da Mat. Seca pecíolos (g)	1,67	10,37	22,11	47,58
Peso da Mat. Seca parte aérea (g)	11,00	69,98	147,23	336,7
Área Foliar (dm ²)	16,74	97,01	186,26	338,76
AFE (dm ² .g ⁻¹)	2,49	2,47	2,45	2,36
RAF (dm ² .g ⁻¹)	1,52	1,39	1,26	1,00

Tabela 2: Análise de crescimento de plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros no período Outono-Inverno.

Parâmetros	Tempo (dias após plantio)		
	90	120	150
Número de folhas	25	43	61
Peso da Mat. Seca lâm. foliar (g)	1,49	3,68	10,73
Peso da Mat. Seca parte aérea (g)	2,20	5,60	17,52
Peso da Mat. Seca caule (g)	0,34	1,21	4,07
Peso da Mat. Seca pecíolos (g)	0,36	0,74	1,78
Área Foliar (dm ²)	3,63	7,75	27,90
AFE (dm ² .g ⁻¹)	2,43	2,10	2,60
RAF (dm ² .g ⁻¹)	1,53	1,38	1,68

A TCR da parte aérea e a TAL de plantas do período Primavera-Verão, entre 90 e 120 dias foi bem maior do que entre 120-150 e 150-180 dias (tab. 3). Já no período Outono-Inverno, houve um aumento da TCR no intervalo de tempo de 120-150 dias em relação ao intervalo de 90-120 dias enquanto que a TAL permaneceu constante.

3.2.1.2. Influência do tutoramento e da posição do caule principal

Para verificar se o padrão de crescimento da parte aérea variava de acordo com o tutoramento e a posição do caule principal, foram montados experimentos com plantas crescendo em vasos, tambores e canteiros.

Plantas tutoradas verticalmente em vasos (165 dias de idade) e tambores (210 dias de idade), apresentaram maior comprimento do caule principal que aquelas tutoradas horizontalmente ou pendentes. Em termos de peso da matéria seca da parte aérea não houve diferença entre os três tratamentos (tab. 4 e 5). Ao mesmo tempo pode-se notar que as plantas tutoradas verticalmente apresentaram um maior número de nós porém menor número de ramificações no caule principal que as outras plantas (tab. 4).

No caso de plantas cultivadas em canteiros (Exp. I e II), o peso da matéria seca da parte aérea, foi maior em plantas tutoradas verticalmente do que naquelas mantidas rasteiras (fig. 9). No caso do experimento I isso pode ser confirmado pela tabela 6 onde são apresentados os dados de peso da matéria seca do caule e das folhas. Da 1ª

Tabela 3: Valores de taxa de crescimento relativo (TCR) e taxa de assimilação líquida (TAL) de plantas de P. tetragonolobus cultivadas nos períodos Primavera-Verão (P-V) e Outono-Inverno (O-I).

Parâmetros	Intervalo de tempo (dias)					
	90-120		120-150		150-180	
	P-V	O-I	P-V	O-I	P-V	O-I
TCR (mg.g ⁻¹ .dia ⁻¹)	61,68	25,28	24,79	37,49	27,58	-
TAL (mg.dm ⁻² .dia ⁻¹)	43,03	21,41	18,82	23,00	24,78	-

Tabela 4: Efeito da posição do caule principal no desenvolvimento de plantas de P. tetragonolobus cultivados em vasos por 165 dias.

Tratamentos	Peso Mat. seca parte aérea (g)	Comprimento caule prin- cipal (m)	Nº de nós no caule principal	Nº de ramifi- cações
Plantas tutoradas verticalmente	32,23a	5,05a	65a	6a
Plantas tutoradas horizontalmente	27,17a	1,69b	27b	15b
Plantas pendentes	35,27a	0,82b	21b	24b

Tabela 5: Efeito da posição do caule principal no acúmulo de matéria seca e comprimento do caule principal, em plantas de P. tetragonolobus cultivadas em tambores de 100 litros por 210 dias.

	Parte aérea	Comprimento do
	Peso Mat.seca (g)	caule principal
	(1)	(m)
	(1)	(2)
Plantas tutoradas verticalmente	127,76a	3,78a
Plantas tutoradas horizontalmente	134,76a	1,98b
Plantas pendentes	143,18a	1,35c

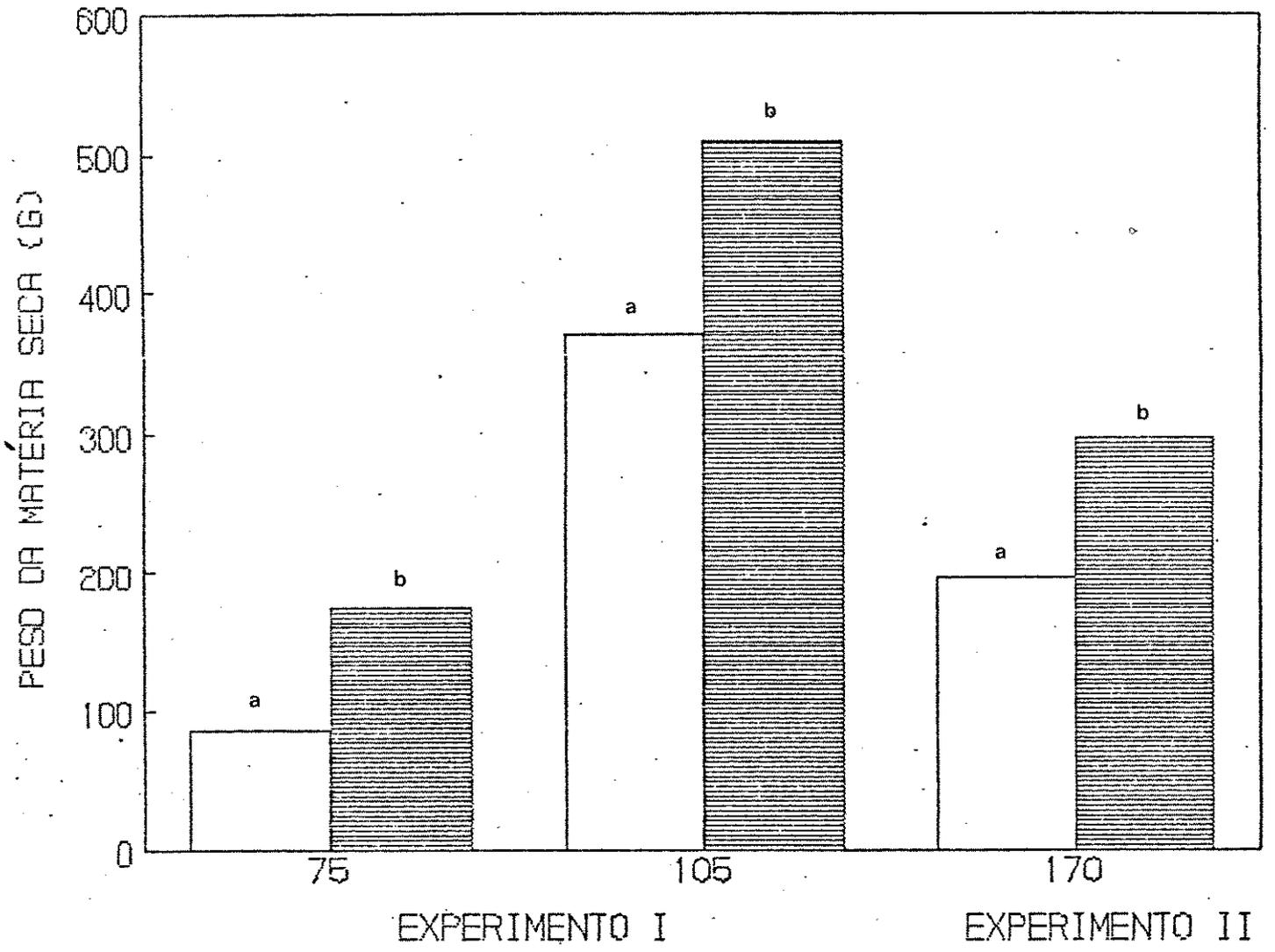
(1) Verificação feita em plantas com 210 dias de idade.

(2) Verificação feita em plantas com 75 dias de idade.

Figura 9 - Influência do tutoramento na produção de matéria seca da parte aérea de plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros (Experimentos I e II).

 - Plantas rasteiras

 - Plantas tutoradas verticalmente



para a 2ª coleta houve um aumento de cerca de 5 vezes no peso da matéria seca do caule de plantas rasteiras e de 3 vezes no caso de plantas tutoradas. O peso da matéria seca das folhas aumentou, nesse mesmo período, ao redor de 4 vezes no caso de plantas rasteiras e 3 vezes nas tutoradas. O número de folhas, que foi computado apenas na 1ª coleta, foi maior nas plantas tutoradas. Na 2ª coleta, como o número de folhas havia aumentado muito, tornando-se impraticável a contagem, optou-se por fazer a avaliação apenas pelo peso da matéria seca (tab. 6).

No experimento III, não houve diferença significativa entre o número de folhas formado pelas plantas nos dois tratamentos, tanto na primeira como na segunda coleta. As plantas tutoradas apresentaram, apenas na segunda coleta, o comprimento do caule e o peso da matéria seca significativamente maior do que plantas rasteiras. O tipo de resposta foi diferente nas duas coletas, sendo que, na primeira, as plantas rasteiras possuíam um maior número de ramificações que as tutoradas, e na segunda, nota-se que esse número não se alterou nas plantas rasteiras, mas aumentou nas plantas tutoradas. Sendo assim, estas passaram a ter maior número de ramificações que as plantas rasteiras (tab. 7).

3.2.1.3 Influência da remoção de inflorescências no crescimento das plantas

Tanto a remoção de flores, quanto o tutoramento, não afetaram o número de folhas formadas (tab. 8 e 9). No entanto, as plantas tutoradas que tiveram suas flores removidas, apresentaram, aos 60

Tabela 6: Efeito do tutoramento do caule no crescimento de plantas de *P. tetragonolobus* cultivadas por 75 dias e 105 dias em canteiros (Experimento I).

Parâmetros	Plantas rasteiras		Plantas tutoradas	
	75 dias	105 dias	75 dias	105 dias
Nº Folhas	250a	-	384b	-
Peso Mat. Seca caule (g)	25,30a	120,23A	59,20b	187,80B
Peso Mat. Seca folhas (g)	60,65a	251,17A	114,35b	322,53B

Tabela 7: Efeito do tutoramento do caule no crescimento de plantas de P. tetragonolobus cultivadas por 100 e 160 dias em canteiros (Experimento III)

Parâmetros	Plantas Tutoradas		Plantas Rasteiras	
	100 dias	160 dias	100 dias	160 dias
Comprimento do caule (cm)	120,91a	269,55A	93,78a	143,39B
Nº de folhas	31a	62A	37a	51A
Nº de ramos	1a	4A	2b	2B
Peso Mat. Seca Parte aérea (g)	4,55a	17,51A	3,34a	6,45B

Tabela 8: Efeito do tutoramento do caule no crescimento de plantas de *P. tetragonolobus* cultivadas em canteiros (Experimento III) - 60 dias após início do tratamento.

	Plantas Tutoradas		Plantas Rasteiras	
	com flor	sem flor	com flor	sem flor
Comprimento do caule (cm)	120,91a	121,94a	93,78ab	80,67b
Nº de folhas	31a	43a	37a	33a
Nº de ramos	1a	2b	2b	2b
Peso Mat. Seca parte aérea (g)	4,55ab	5,76a	3,34b	2,60b
Peso Mat. Seca folhas (g)	2,97ab	3,79a	2,15bc	1,70b

Tabela 9: Efeito do tutoramento do caule no crescimento de plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros (Experimento III) - 120 dias após início do tratamento.

	Tutoradas		Rasteiras	
	com flor	sem flor	com flor	sem flor
Comprimento do caule (cm)	269,55a	259,61a	143,39b	152,48b
Nº de folhas	62a	88a	51a	53a
Nº de ramos	4a	4a	2b	2b
Peso Mat. Seca parte aérea (g)	17,51a	21,57a	6,45b	7,52b
Peso Mat. Seca folhas (g)	10,76a	13,18a	3,61b	4,05b

dias, maior peso de matéria seca da parte aérea que as plantas rasteiras (tab. 8). Aos 120 dias, as plantas tutoradas, em geral, possuíam maior peso de matéria seca da parte aérea e de folhas. Nota-se também que as plantas tutoradas, com ou sem inflorescências, apresentam maior comprimento do caule que plantas rasteiras. Na primeira coleta, essa diferença só é significativa em relação às plantas rasteiras sem flor (tab. 8) enquanto que na segunda, é significativa para todas as plantas rasteiras (tab. 9). No entanto, as plantas tutoradas com flor apresentaram, na primeira coleta, menor número de ramos laterais que as plantas de todos os outros tratamentos (tab. 8). Na segunda coleta, a situação se modifica e as plantas tutoradas exibem maior número de ramos que as rasteiras (tab. 9).

3.2.1.4. Efeito do fotoperíodo

Plantas submetidas a fotoperíodo de 20 horas apresentaram altura maior do que as plantas mantidas em outros fotoperíodos (10, 12, 14, e 16 horas de luz diárias) como resultado de um aumento no número de nós e alongamento dos entrenós. As plantas que permaneceram em fotoperíodo de 12 horas formaram menor número de nós e apresentaram menor altura (fig. 10 e 11).

3.2.1.5. Influência de diferentes regimes térmicos

Nos experimentos I e II as plantas permaneceram, respectivamente, 96 e 63 dias em câmaras de crescimento com fotoperíodo de 13 horas e diferentes combinações de temperatura dia/noite (20/15, 25/20

Figura 10 - Efeito de diferentes fotoperíodos no número de nós do caule principal de P. tetragonolobus.

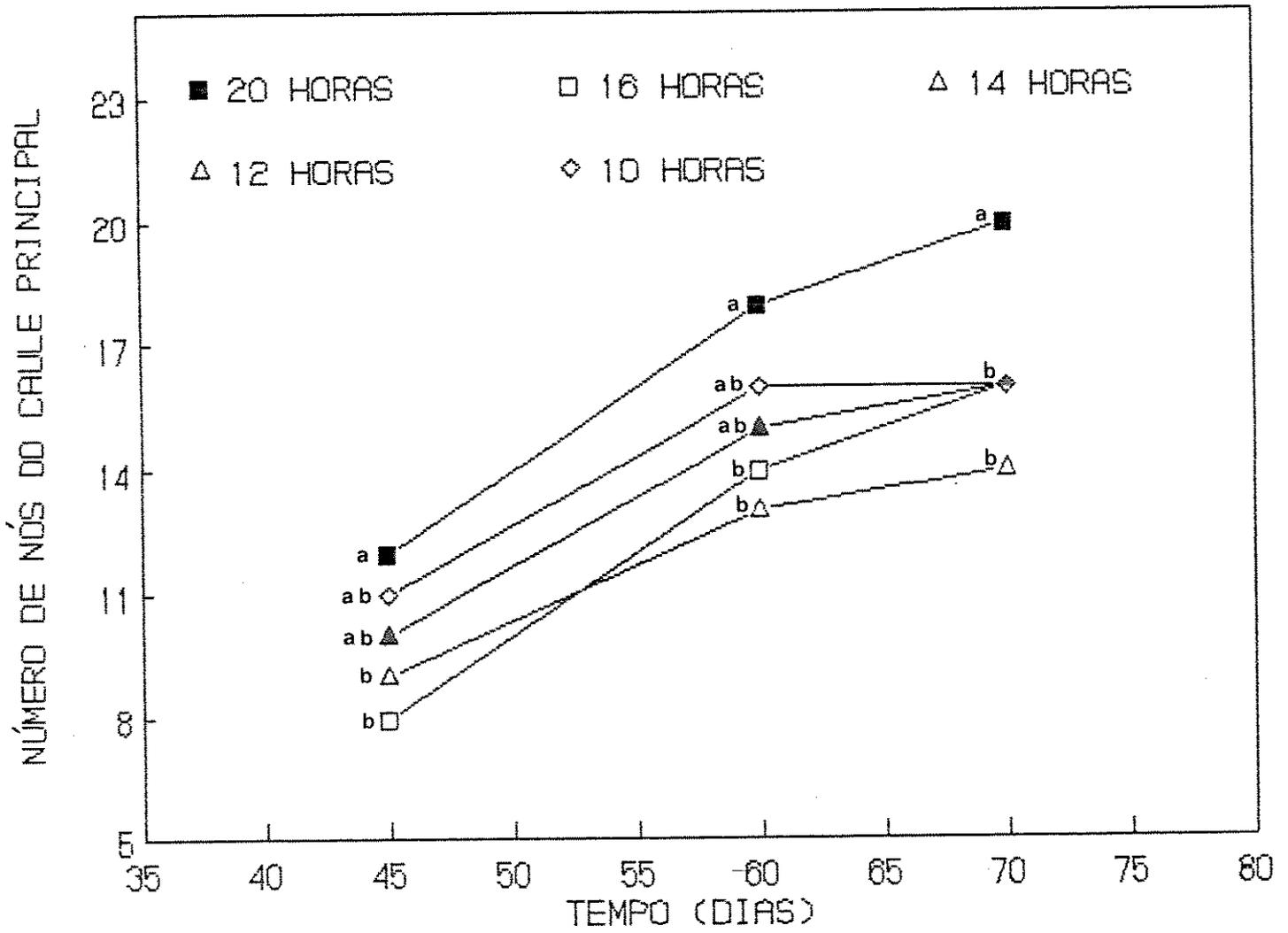
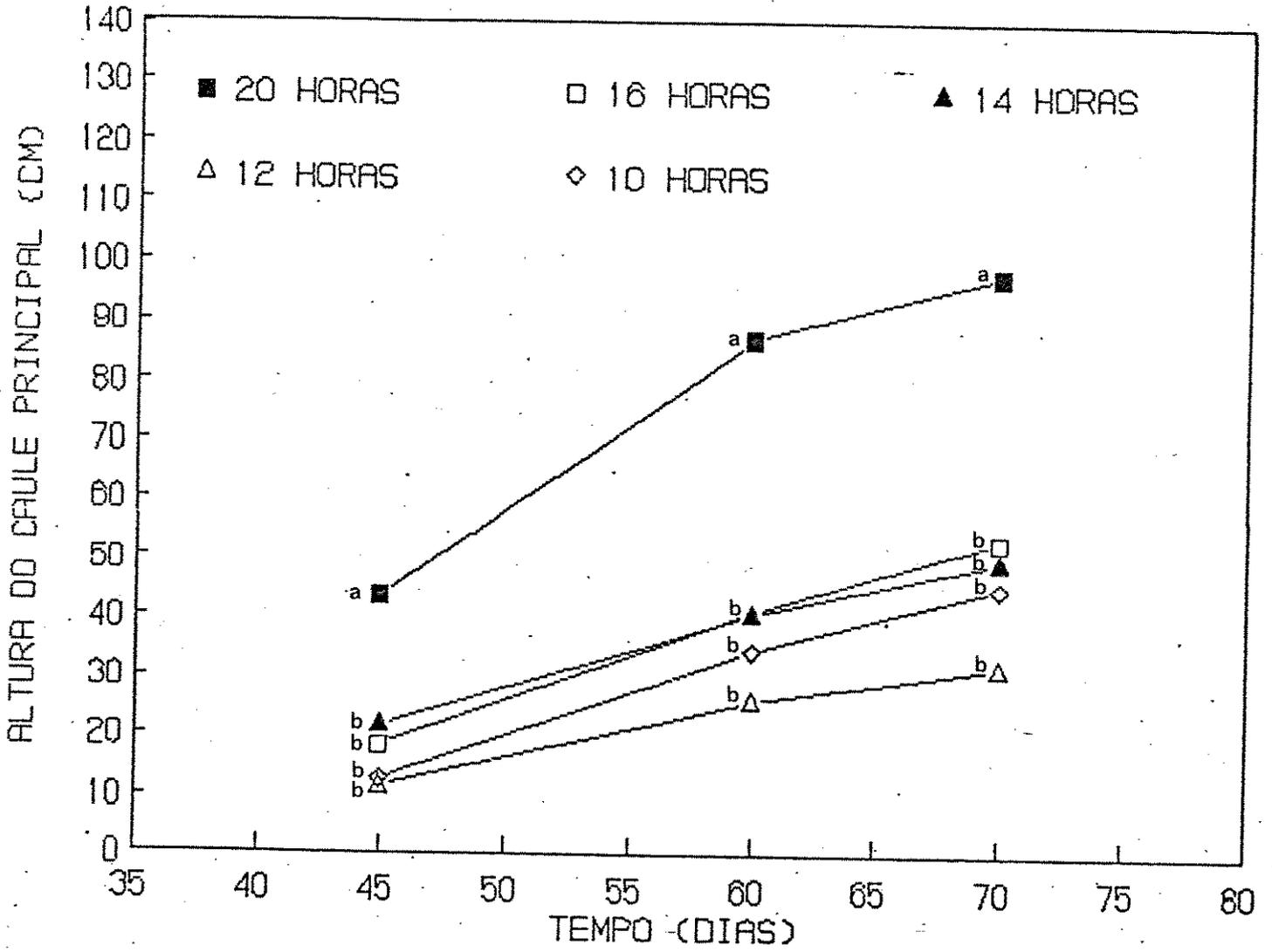


Figura 11 - Efeito de diferentes fotoperíodos na altura do caule principal de P. tetragonolobus.



e 30/25°C). O padrão de crescimento das plantas foi bastante afetado pela temperatura: plantas mantidas em temperatura dia/noite de 20/15°C exibiram menor número de folhas, de ramificações e de nós do caule principal. Essas plantas tiveram também menor altura, menor acúmulo de matéria seca e menor área foliar que as plantas mantidas em temperatura 25/20 e 30/25°C. Entre as plantas que cresceram nas temperaturas dia/noite de 25/20 e 30/25°C, não houve diferença significativa em relação à altura das plantas, número de nós e ramificações do caule principal (tab. 10 e fig. 12 e 14). O número de folhas também foi igual no experimento I (tab. 10), porém significativamente maior em 30/25°C no experimento II (fig. 13). As plantas mantidas em 30/25°C apresentaram maior acúmulo de matéria seca e maior área foliar que as que foram submetidas a outros regimes térmicos: peso de matéria seca da parte aérea 2 vezes maior e da lâmina foliar 1,5 vezes maior que de plantas crescidas em 25/20°C (tab. 10 e 11). As plantas submetidas a temperatura dia/noite de 30/25°C possuíam, no final do experimento I, área foliar 2 vezes maior que a de plantas crescidas em 25/20°C e 12 vezes maior que daquelas em 20/15°C (tab. 10).

Foi conduzido outro experimento (Exp. III), com o intuito de padronizar o crescimento inicial da parte aérea, colocando todas as plantas em temperatura dia/noite de 30/25°C e fotoperíodo de 20 horas até que possuíssem de 9 a 10 nós no caule principal. Essas condições eram, segundo se observou em experimentos anteriores, desfavoráveis ao florescimento e à formação de raízes tuberosas e favoráveis ao crescimento das plantas em alongamento. Após 20 dias sob essas condições as plantas foram medidas (tab. 12) e transferidas para as temperaturas dia/noite já testadas anteriormente, nas quais permaneceram por 80

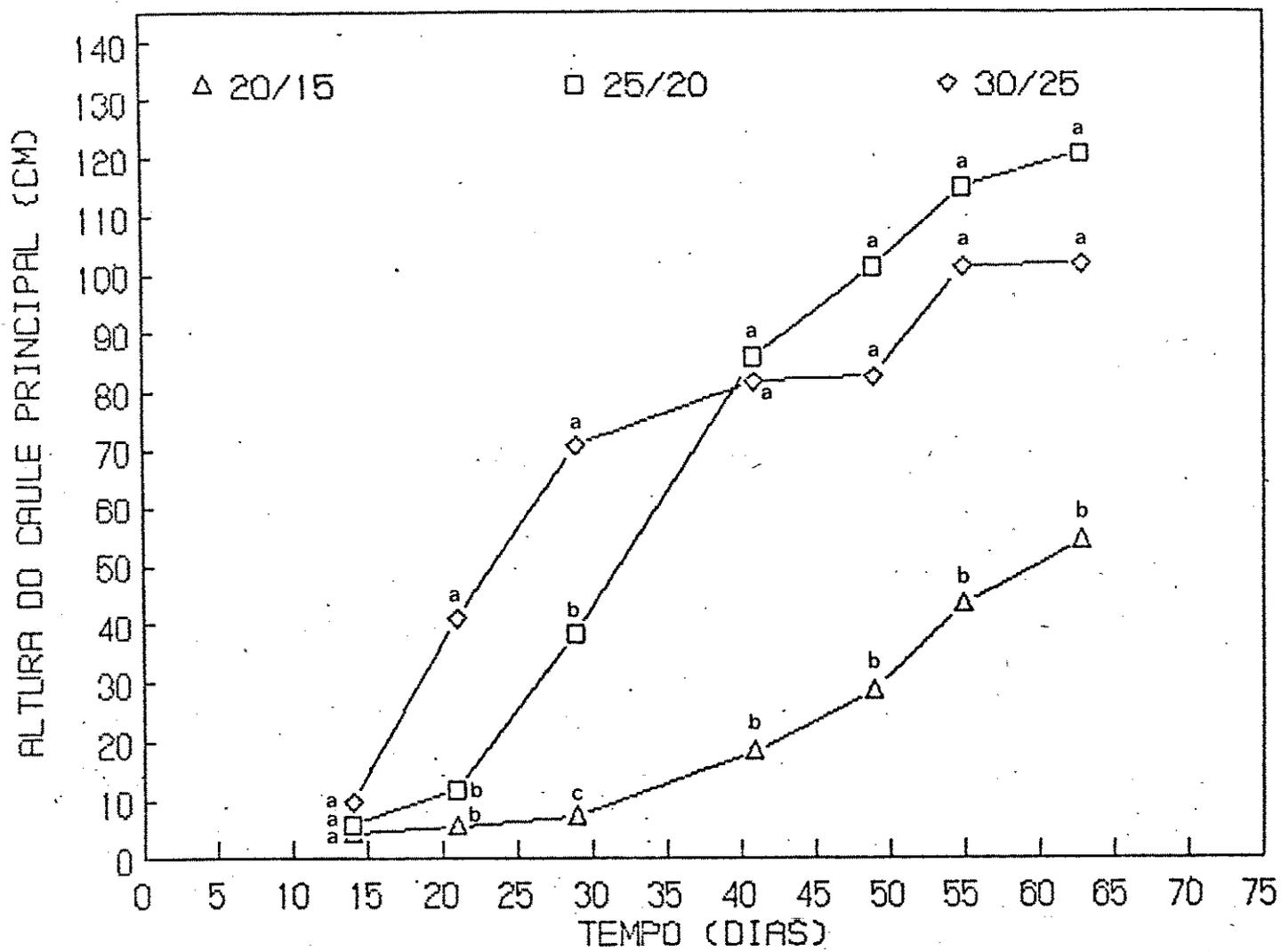


Figura 13 - Efeito de temperaturas dia/noite no número de folhas das plantas de P. tetragonolobus (Exp. II).

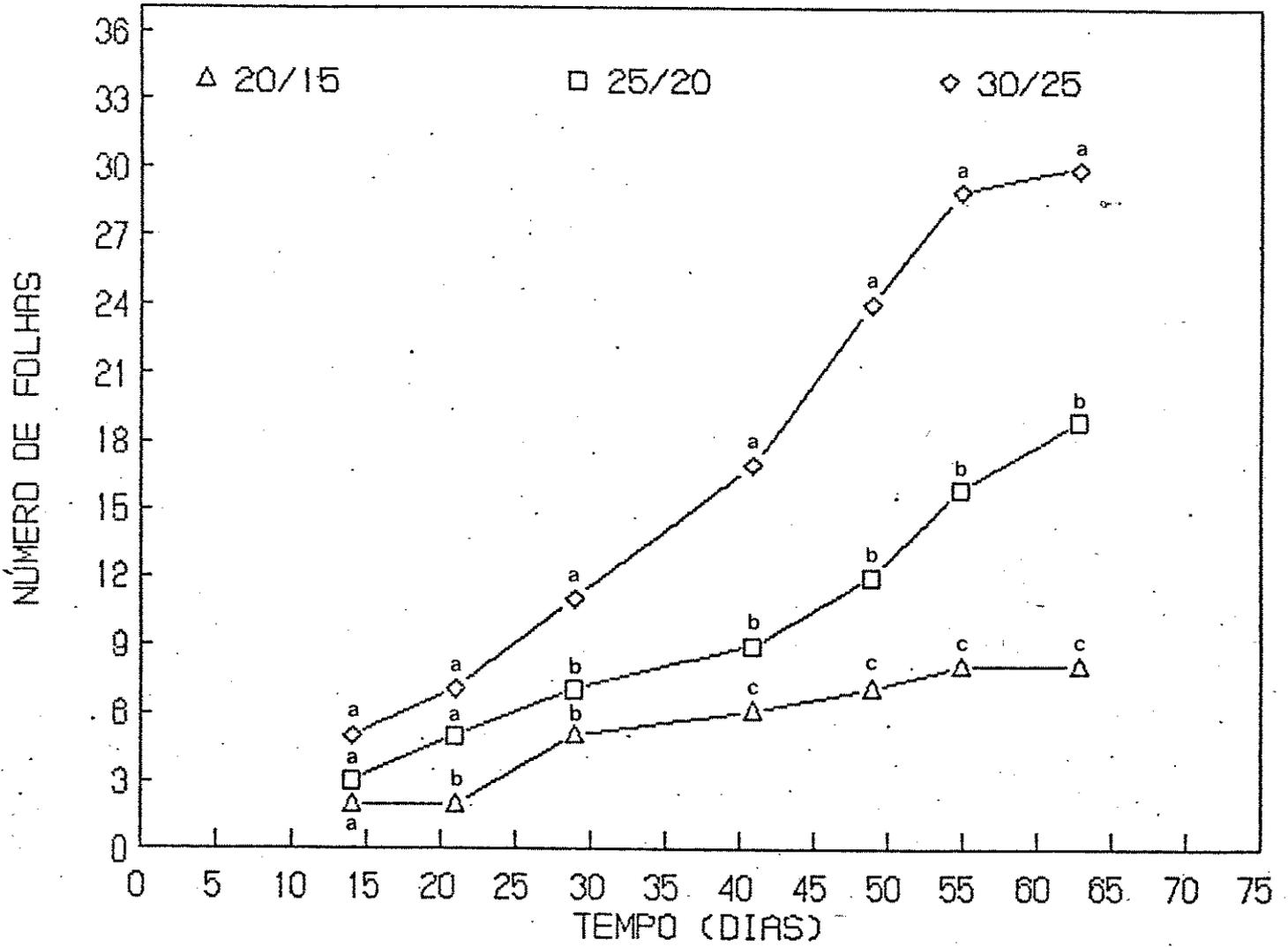


Figura 14 - Efeito de temperaturas dia/noite no número de nós do caule principal de plantas de P. tetragonolobus (Exp. II).

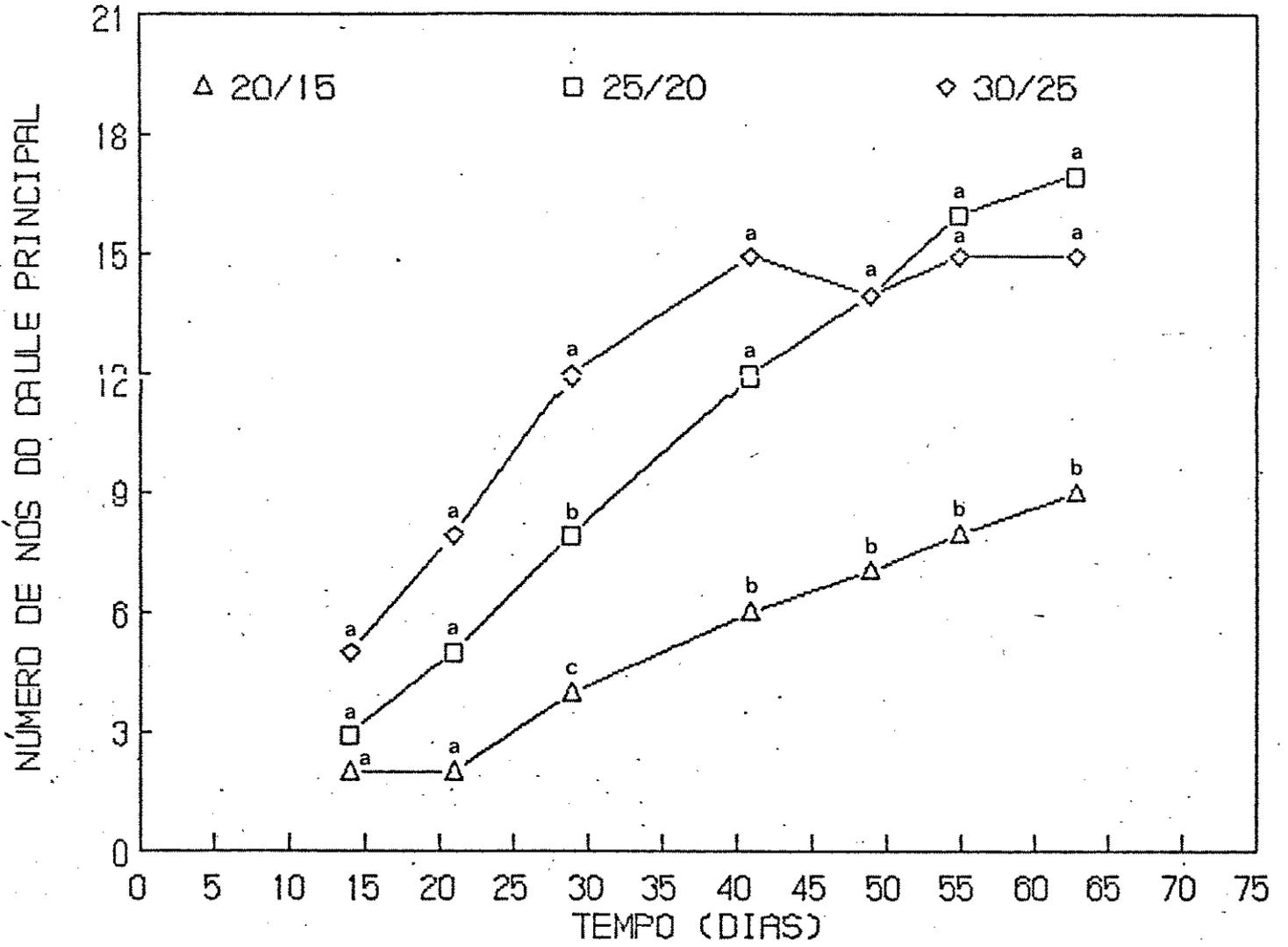


Figura 12 - Efeito de temperatura dia/noite na altura de plantas de P.
tetragonolobus (Exp. II).

Tabela 10: Efeito das temperaturas dia/noite no crescimento de plantas de P. tetragonolobus após 96 dias em câmaras (Experimento I).

Parâmetros	Temperatura dia/noite (°C)		
	20/15	25/20	30/25
Altura da planta (cm)	51,04a	121,64b	125,50b
Nº de folhas	13a	33b	31b
Nº de nós	13a	16b	15b
Nº de ramificações	1a	4b	4b
Peso Mat. seca lâmina foliar (g)	0,38a	1,58b	2,49c
Peso Mat. seca parte aérea (g)	0,62a	2,59b	5,09c
Área foliar (dm ²)	1,24a	6,85b	14,94c

Tabela 11: Efeito das temperaturas dia/noite no acúmulo de matéria seca da parte aérea de plantas de P. tetragonolobus após 63 dias em câmaras de crescimento (Experimento II).

Parâmetro	Temperatura dia/noite (°C)		
	20/15	25/20	30/25
Peso da Mat. Seca (g)	0,54a	1,79b	4,11c

Tabela 12: Comprimento e número de nós do caule principal e número de folhas de 3 grupos de plantas de P. tetragonolobus que permaneceram 20 dias sob 30/25°C e fotoperíodo de 20 horas (Experimento III).

Grupo de plantas	Comprimento caule principal (cm)	Nº de nós no caule principal	Nº de folhas
A	65,23a	10a	9a
B	63,81a	10a	8a
C	59,11a	9a	8a

dias. Após esse período foram feitas novas medidas e verificou-se que as plantas que estavam em temperatura mais baixas (20/15°C) novamente apresentaram menor altura, menor número de nós no caule principal e menor peso da matéria seca da parte aérea que as demais. Entre as plantas submetidas aos outros regimes térmicos não houve diferença em nenhum dos parâmetros analisados (tab. 13).

3.2.2. Floração e formação de raízes tuberosas

3.2.2.1. Influência do cultivo em diferentes épocas do ano

As plantas crescidas no período Primavera-Verão (fotoperíodo de 13 horas e temperatura média mensal variando de 18,2°C em setembro a 25,5°C em fevereiro) não floresceram e só apresentaram formação de raízes tuberosas na última coleta, quando as plantas possuíam 180 dias de idade. Essas raízes eram mais espessas que as não tuberosas e mais longas do que as raízes tuberosas normalmente são, não possuindo limites claros de começo e fim, por isso foram cortados os 20 cm basais (a partir do colo da planta), e esses pedaços pesados (média do peso da matéria seca de 10 plantas = 7,87g).

As plantas cultivadas no período Outono-Inverno (11 horas de luz e temperatura média mensal variando de 17,9°C em agosto a 21,0°C em abril), apresentaram flores a partir da 2ª coleta: 56% das plantas com 120 dias de idade estavam floridas. Aos 150 dias de idade (3ª coleta), 100% das plantas possuíam flores e 25% possuíam vagens (tab. 14). Em relação à formação de raízes tuberosas, pode-se observar que desde a 1ª coleta (plantas com 90 dias de idade), 100% das plantas

Tabela 13: Comprimento e número de nós do caule principal e peso seco da parte aérea de plantas de P. tetragonolobus que após permanecerem 20 dias sob 30/25°C e fotoperíodo de 20 horas foram mantidas por 80 dias em diferentes temperaturas dia/noite e fotoperíodo de 13 horas.

Grupo de plantas	Temperatura dia/noite (°C)	Comprimento caule principal (cm)	Nº de nós no caule principal	Peso Mat. Seca da Parte Aérea (g)
A	20/15	110,77a	15a	1,70a
B	25/20	231,38b	30b	8,36b
C	30/25	252,23b	33b	6,31b

Tabela 14: Floração e formação de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus cultivadas no período Outono-Inverno.

	Tempo (dias após plantio)		
	90	120	150
% de plantas floridas	0	56	100
Peso da mat. seca: flores (g)	0	0,06	0,77
% de plantas com vagens	0	0	25
Peso da mat. seca: vagens	0	0	0,17

possuíam raízes tuberosas bem caracterizadas, das quais foram avaliados, número, comprimento, maior espessura, peso e teor de água (tab. 15). As plantas com 120 dias possuíam em média raízes tuberosas com comprimento e diâmetro semelhante, porém em número bem maior que plantas com 90 dias de idade. Isso fica evidente quando se observa o aumento de peso fresco e seco e conseqüentemente do teor de água de uma coleta para outra. A TCR das raízes tuberosas não se alterou nos dois intervalos de tempo entre as coletas (tab. 15).

3.2.2.2. Influência do tutoramento, da posição do caule principal e de sua distância do solo.

As plantas cultivadas em vasos, tutoradas vertical e horizontalmente ou pendentes, possuíam, na ocasião da coleta, 165 dias de idade (5,5 meses) e não apresentavam formação de raízes tuberosas e nem de flores. Já no caso de plantas crescidas em tambores de 100 litros houve formação de flores, vagens e produção de raízes tuberosas. A coleta foi feita quando as vagens já se encontravam maduras e secas (plantas com 210 dias de idade).

A tabela 16 mostra que nas plantas cultivadas em tambores de 100 litros não houve diferença significativa entre os três tratamentos em termos de número e peso da matéria fresca e seca de raízes tuberosas, vagens ou sementes.

No caso de plantas cultivadas em canteiros (Exp. I, II e III) houve floração apenas nos experimentos I e III (tab. 17 e 18). Na primeira coleta do experimento I havia presença de pequena quantidade de flores nos dois tratamentos e de algumas vagens jovens em plantas

Tabela 15: Análise das características das raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus cultivadas no período Outono-Inverno.

	Tempo (dias após plantio)		
	90	120	150
% de plantas tuberculizadas	100	100	100
Nº de raízes tuberosas	1a	3b	5c
Peso Mat. Fresca (g)	7,06a	21,74b	55,48c
Peso Mat. Seca (g)	1,84a	5,94b	15,60c
Comprimento (cm)	16,15a	12,17a	-
Maior espessura (cm)	1,03a	1,44a	-
Teor de água (g)	5,22a	15,80b	39,88c
TCR	-	39,06	32,18

Tabela 16: Efeito da posição do caule principal no acúmulo de matéria seca e na produção de raízes tuberosas e vagens, em plantas de P. tetragonolobus cultivad^os em tambores de 100 litros.

Tratamentos	Raízes tuberosas		Vagens maduras		Sementes
	Nº	P.seco (g)	Nº	P.Seco(g)	P.Seco(g)
	Plantas tutoradas verticalmente	25a	111,25a	36a	122,36a
Plantas tutoradas horizontalmente	18a	82,57a	48a	193,09a	84,71a
Plantas pendentes	18a	109,09a	48a	152,30a	72,41a

Tabela 17: Efeito do tutoramento do caule na formação de flores e vagens em plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros por 75 e 105 dias. (Experimento I).

Parâmetros	Plantas rasteiras		Plantas tutoradas	
	75 dias	105 dias	75 dias	105 dias
Peso Mat. Seca Flores (g)	0,02	0,00	0,46	0,00
Peso Mat. Seca Frutos (g)	0,00	0,00	0,13	0,00

Tabela 18: Efeito do tutoramento do caule na produção de flores e vagens em plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros (Experimento III).

Parâmetros	Plantas tutoradas		Plantas rasteiras	
	100 dias	160 dias	100 dias	160 dias
Nº de flores	11a	15a	2b	3b
Peso Mat. Seca flores (g)	0,20a	0,66a	0,03b	0,04b
Nº de vagens	0	5a	0	1b
Peso Mat. Seca vagens (g)	0	1,34a	0	1,06b

tutoradas. Na 2ª coleta as flores e vagens haviam abortado (tab.17). No experimento III observou-se a presença de maior número e peso de matéria seca de flores em plantas tutoradas nas duas coletas. Na segunda coleta (plantas com 160 dias) já se constatou a presença de, em média, 5 vagens/planta tutorada e 1 vagem/planta rasteira. Assim como o número, o peso da matéria seca das vagens também foi maior em plantas tutoradas (tab. 18). Nos três experimentos houve formação de raízes tuberosas, embora não tenha havido diferença significativa no número, peso da matéria fresca ou seca e dimensão das mesmas (tab. 19, 20 e 21).

Foram montados outros dois experimentos em canteiros com intuito de verificar se a posição do caule e sua distância do solo tinham influência na floração e formação de raízes tuberosas. Esses experimentos foram montados com 5 grupos de plantas, como foi explicado no item 2.2.2.6. de Material e Métodos, em dois períodos diferentes: Verão-Inverno (Exp.IV) e Primavera-Outono (Exp.V).

O grupo de plantas tutoradas apresentou maior produção de vagens (número e peso) que os grupos de plantas que cresceram rasteiras sobre tela plástica, a diferentes distâncias do solo. Isso se mostra mais evidente no experimento V. As plantas mantidas a 15cm do solo formaram o menor número e tiveram o menor peso de vagens (tab. 22). Na tabela 23 pode-se constatar, especialmente no experimento V, que a menor produção de matéria fresca e seca de raízes tuberosas se deu em plantas que cresceram tutoradas. As plantas que cresceram sem tutoramento, a 60cm do solo, produziram três vezes mais raízes tuberosas em termos de peso que plantas tutoradas, mas também apresentaram

Tabela 19 - Efeito do tutoramento do caule na formação de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros por 75 e 105 dias. (Experimento I).

Parâmetros	Plantas rasteiras		Plantas tutoradas	
	75 dias	105 dias	75 dias	105 dias
Nº de raízes tuberosas	5a	5a	3a	4a
Comprimento Raízes tuberosas (cm)	5,6a	5,5a	7,6a	4,5a
Diâmetro maior das Raízes tuberosas (cm)	1,6a	1,5a	1,6a	1,5a

Tabela 20: Influência do tutoramento sobre a produção de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus cultivadas por 170 dias em canteiros (Experimento II).

Parâmetro	Plantas Tutoradas	Plantas Rasteiras
Peso Mat. Seca	7,34a	6,31a
Raízes tuberosas (g)		

Tabela 21 - Efeito do tutoramento do caule na produção de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus cultivadas por 100 e 160 dias em canteiros (Experimento III)

Parâmetros	Tutoradas		Rasteiras	
	100 dias	160 dias	100 dias	160 dias
Número	-	3a	-	4a
Peso Mat. Fresca (g)	14,14a	63,61a	15,79a	64,53a
Peso Mat. Seca (g)	4,34a	23,21a	4,63a	23,17a

Tabela 22: Efeito da posição do caule principal e de sua distância do solo no número e peso das vagens em plantas de P. tetragonolobus [Experimento IV- período Verão-Inverno (11/1-25/8) e Experimento V- período Primavera-Outono (28/11-15/06)].

Tratamentos	Nº de Vagens		Peso das vagens (g)	
	Exper. IV	Exper. V	Exper. IV	Exper. V
Sobre a superfície do solo	44	10	231,70	30,86
15 cm acima do solo	32	8	147,64	23,73
30 cm acima do solo	42	17	183,31	54,37
60 cm acima do solo	47	34	193,71	122,70
Tutoradas	51	131	312,06	772,22

Tabela 23: Efeito da posição do caule principal e de sua distância do solo na formação de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus [Experimento IV-período Verão-Inverno (11/1-25/8) e Experimento V- período Primavera-Outono (28/11-15/06)].

Tratamentos	Número	Peso Mat.Fresca (g)		Peso Mat.Seca (g)	
	Exp.IV	Exp.IV	Exp.V	Exp.IV	Exp.V
Sobre o chão	11,31a	219,37ab	132,70a	77,23ab	36,66a
15 cm acima do chão	9,75ac	280,06a	107,83a	112,96a	31,27a
30 cm acima do chão	6,92bc	177,09ab	107,23a	65,26ab	31,79a
60 cm acima do chão	6,80bc	133,47b	60,42b	46,05b	16,59b
Tutoradas	10,44ac	109,78b	22,43c	40,11b	4,81c

uma produção significativamente menor que as outras plantas não tutoradas quanto a esses parâmetros. No experimento IV a diferença entre os tratamentos não foi tão evidente .

3.2.2.3. Efeito da remoção de flores

A remoção de flores não afetou a formação de raízes tuberosas. Tanto plantas tutoradas como rasteiras, com ou sem flor, produziram o mesmo número de raízes tuberosas e estes possuíam o mesmo peso de matéria fresca e seca (tab. 24 e 25).

3.2.2.4. Efeito da remoção de folhas

Como já foi descrito no item 2.2.2.8. de Material e Métodos, 6 grupos de plantas tiveram parte de suas folhas removidas e um 7º grupo foi mantido intacto, como controle. As plantas intactas possuíam, na época da coleta, 46 folhas por planta em média. Essas plantas, assim como as plantas com apenas 6 folhas (2P +4T), produziram, maior número de raízes tuberosas que as outras plantas que foram submetidas à remoção de folhas. No entanto, verificou-se que mesmo as plantas que possuíam apenas uma folha formaram raízes tuberosas. O peso de matéria fresca foi maior em plantas intactas e entre as plantas que tiveram as folhas removidas, a maior produção foi em plantas com 4, 5 ou 6 folhas (2P+2T, 2P+3T e 2P+4T). Em termos de peso de matéria seca não houve diferença entre plantas com até 5 folhas e nem entre plantas com 4, 5 ou 6 folhas. Porém, de um modo geral, houve uma certa relação entre o número de folhas e o aumento de peso da matéria fresca

Tabela 24: Efeito do tutoramento do caule na produção de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros (Experimento III) - 60 dias após o início do tratamento.

	Tutoradas		Rasteiras	
	com flor	sem flor	com flor	sem flor
Peso Mat. Fresca (g)	14,14a	20,06a	15,79a	14,31a
Peso Mat. Seca (g)	4,34a	6,26a	4,63a	3,79a

Tabela 25: Efeito do tutoramento do caule na produção de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus cultivadas em canteiros (Experimento III) - 120 dias após o início do tratamento

	Tutoradas		Rasteiras	
	com flor	sem flor	com flor	sem flor
Número	3a	3a	4a	3a
Peso Mat. Fresca (g)	63,61a	60,25a	64,53a	65,93a
Peso Mat. Seca (g)	23,21a	24,28a	23,17a	22,02a

e seca das raízes tuberosas (tab. 26).

Foram realizadas extrações e dosagens de clorofilas das folhas (tab. 27) e de carboidratos solúveis e proteínas totais das raízes tuberosas (tab. 28) destas plantas.

A manutenção de plantas com diferentes quantidades de folhas praticamente não alterou o teor de clorofilas, embora o controle (plantas intactas) tenha apresentado valores aparentemente mais baixos. Visualmente, observou-se que as folhas das plantas controle eram de um verde bem mais pálido do que as plantas que foram submetidas à desfolha. A relação entre clorofilas a e b se manteve com pequenas oscilações nos diferentes tratamentos (tab. 27).

Em relação aos carboidratos solúveis, as variações encontradas não foram consistentes com os diferentes tratamentos, embora tenha havido uma redução nas plantas que possuíam 3 folhas (2P+1T). Parece ter havido uma ligeira diminuição dos teores de carboidratos nas plantas com apenas uma folha e um aumento em plantas com 6 folhas, em relação aos outros tratamentos. Os teores encontrados nestas últimas não foram muito diferentes daqueles encontrados em plantas intactas (tab. 28).

O conteúdo de proteínas foi semelhante em plantas com 2, 3, 4, 5 e 6 folhas, mostrando-se bastante superior às plantas com apenas uma folha e relativamente superior às plantas intactas (tab. 28).

Tabela 26: Avaliação da produção de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus, mantidas por 120 dias com diferente número de folhas.

Raízes Tuberosas	Plantas com						Plantas Intactas
	1P+0T	2P+0T	2P+1T	2P+2T	2P+3T	2P+4T	
Número	1,0a	1,6ab	2,0ab	2,6ab	2,4ab	3,2bc	5,0c
P. fresco/pl. (g)	0,92a	2,34ab	4,11ab	6,67bc	6,95bc	10,50c	16,10d
P. fresco/raiz (g)	0,92	1,17	2,05	2,22	3,47	3,5	3,22
P. seco/pl. (g)	0,12a	0,46a	0,93a	1,63ab	1,73ab	2,70bc	4,30c
P. seco/ ^{raiz} pl. (g)	0,12	0,23	0,46	0,54	0,86	0,90	0,86

Tabela 27: Conteúdo de clorofilas a, b e total de folhas de P. tetragonolobus mantidas por 4 meses com diferente número de folhas.

Clorofila (ug/ml)	Plantas com						Plantas Intactas
	1P+0T	2P+0T	2P+1T	2P+2T	2P+3T	2P+4T	
a	12,24	10,79	10,44	9,46	10,84	11,77	8,23
b	5,19	4,30	4,43	3,87	4,28	4,75	3,10
TOTAL	17,43	15,09	14,87	13,33	15,13	16,52	11,33
a/b	2,36	2,51	2,36	2,44	2,53	2,48	2,65

Tabela 28: Conteúdo de carboidratos solúveis totais e proteínas em raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus mantidas por 4 meses com diferente número de folhas.

Conteúdo	Plantas com						Plantas Intactas
	1P+0T	2P+0T	2P+1T	2P+2T	2P+3T	2P+4T	
Carboidratos (mg/g tub)	15,80	19,04	12,46	21,07	20,71	26,20	29,61
Proteínas (mg/g tub)	5,68	17,82	17,82	17,04	15,22	17,21	11,95

3.2.2.5. Efeito do fotoperíodo

Após manter as plantas sob diferentes fotoperíodos, verificou-se que a indução da floração e a formação de raízes tuberosas ocorreram em dias curtos: só floresceram e produziram raízes tuberosas plantas em fotoperíodos inferiores a 20 horas (figs. 15 e 16). Em fotoperíodo de 16 horas houve um atraso na floração das plantas em relação aos demais tratamentos fotoperiódicos (50% aos 47 dias e ^{45%} 25% aos 67 dias) (fig. 15).

3.2.2.6. Influência de diferentes regimes térmicos

Nos dois experimentos conduzidos em diferentes regimes térmicos, e fotoperíodo de 13 horas, houve floração apenas em plantas mantidas em temperaturas dia/noite de 25/20°C. No experimento I, o desenvolvimento das plantas foi acompanhado por 96 dias e verificou-se que em temperaturas dia/noite de 25/20°C houve início de floração quando as plantas estavam há 48 dias em câmaras. Aos 52 dias 100% das plantas estavam floridas, porém, aos 89 dias todas as inflorescências haviam abortado. No experimento II, o início da floração se deu aos 49 dias de permanência em câmaras e aos 55 dias 100% das plantas estavam floridas. No experimento I, o local de aparecimento da primeira flor variou de planta para planta: do 9º para o 14º nó, contando-se a partir do colo da planta. No experimento II, o primeiro nó do caule a formar inflorescência foi o 11º. Plantas em temperaturas dia/noite de 20/15 e 30/25°C não produziram flores até a época da coleta (96 e 63 dias em câmaras, respectivamente).

Figura 15 - Efeito de diferentes fotoperíodos na floração de P. tetragonolobus.

-  - 10 horas
-  - 12 horas
-  - 14 horas
-  - 16 horas
-  - 20 horas

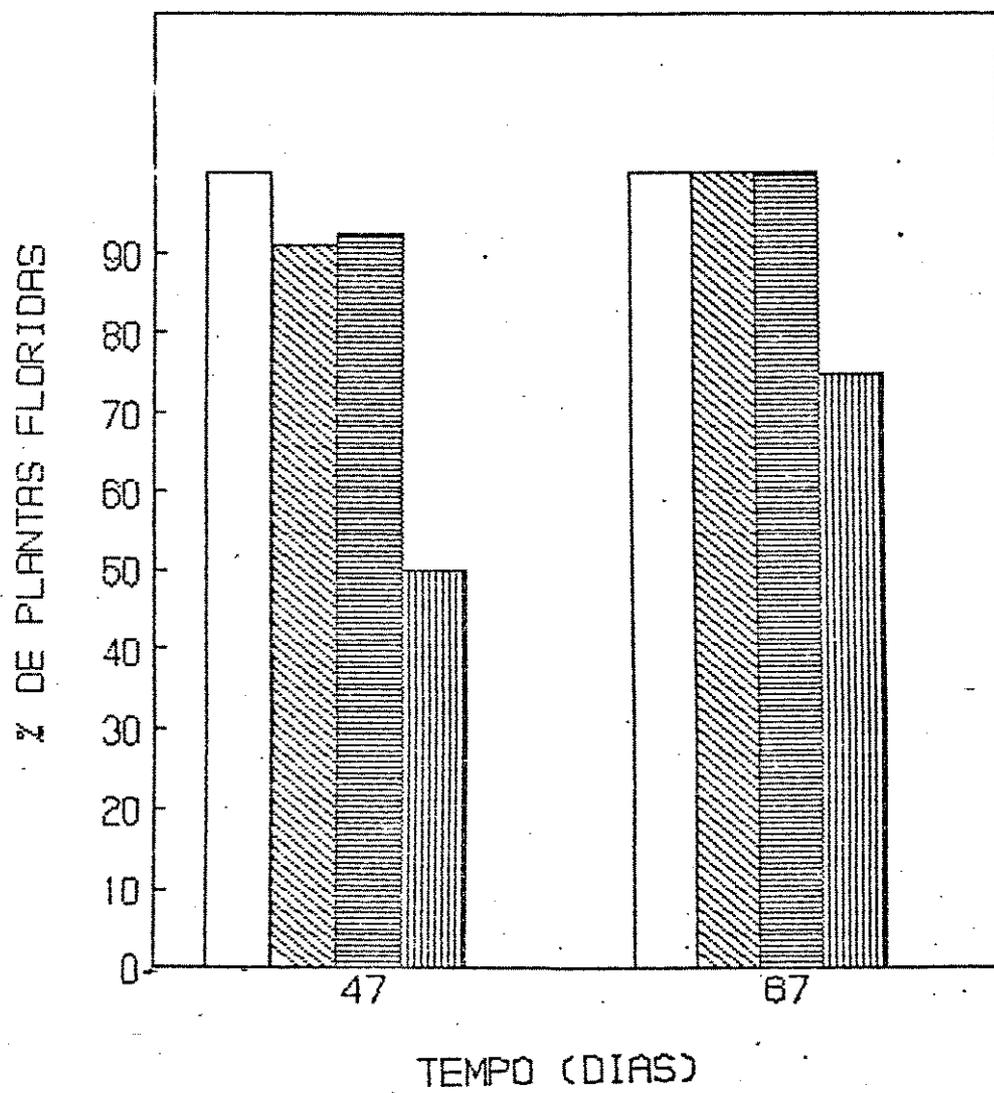
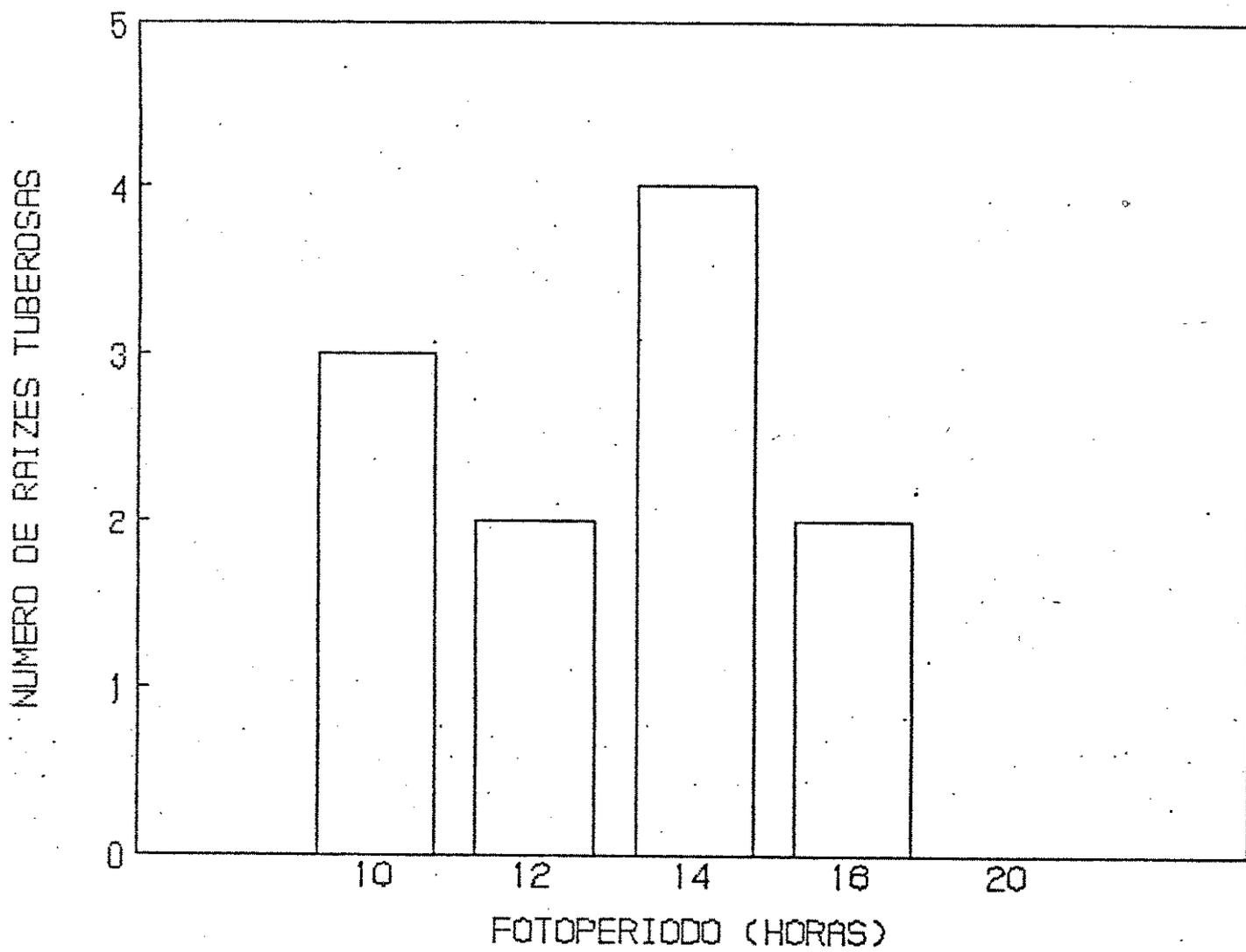


Figura 16 - Efeito de diferentes fotoperíodos na formação de raízes tuberosas em plantas de P. tetragonolobus (após 67 dias de tratamento).



Na época da coleta dos dados do experimento I (96 dias), as plantas dos três tratamentos possuíam raízes tuberosas, porém aquelas que cresceram em temperatura dia/noite de 25/20°C, apresentaram maior peso da matéria fresca e seca e maior diâmetro que as plantas dos outros tratamentos, embora não houvesse diferença significativa entre o número de raízes tuberosas/planta, nem no comprimento das mesmas (tab. 29). No experimento II, aos 63 dias de tratamento as plantas mantidas em temperatura dia/noite de 30/25°C não possuíam raízes tuberosas e nos outros dois tratamentos houve formação de raízes tuberosas em 20% das plantas cultivadas em temperatura dia/noite de 20/15 e em 90% das plantas cultivadas em temperatura dia/noite de 25/20°C. Também nesse caso, as dimensões das raízes eram aparentemente semelhantes e o peso da matéria seca maior em temperatura dia/noite de 25/20°C (tab. 30).

3.2.3. Dosagens bioquímicas

3.2.3.1. Carboidratos solúveis totais e proteínas

Para verificar se o feijão alado realmente se destaca como planta altamente protéica foram dosados os teores de proteínas de folhas, vagens verdes totalmente desenvolvidas, sementes e raízes tuberosas. Nessas mesmas regiões foram dosados também os carboidratos solúveis totais. Para isso foram utilizadas plantas com 8 meses de idade, cultivadas em canteiros, com e sem tutoramento (tab.31).

Comparando-se os diferentes órgãos da planta, nota-se que as sementes apresentaram os maiores valores em termos de teor de proteí-

Tabela 29: Efeito de diferentes regimes térmicos na formação e características de raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus (Experimento I).

Parâmetros	Temperatura dia/noite (°C)		
	20/15	25/20	30/25
% de plantas com raízes tuberosas	100	100	90
Número/planta	1a	3a	2a
Peso Mat. Fresca (g)	1,41a	6,32b	1,37a
Peso Mat. Seca (g)	0,32a	1,67b	0,30a
Comprimento (cm)	6,13a	5,45a	5,75a
Diâmetro maior (cm)	0,40a	0,88b	0,46a

Tabela 30: Efeito de diferentes regimes térmicos na formação e características de raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus (Experimento II).

Parâmetros	Temperatura dia/noite (°C)		
	20/15	25/20	30/25
% de Plantas com raízes tuberosas	20	90	0
Número/planta	1	1	0
Peso Mat. Seca (g)	0,09	0,39	0
Comprimento (cm)	6,70	6,66	0
Diâmetro maior (cm)	0,55	0,53	0

Tabela 31- Conteúdo de carboidratos solúveis totais e proteínas em plantas tutoradas e rasteiras de P. tetragonolobus com 8 meses de idade, em % de Peso de Matéria Fresca.

Regiões da planta	Plantas Tutoradas		Plantas Rasteiras	
	Proteínas	Carboidratos	Proteínas	Carboidratos
Folhas	23,51a	30,36A	20,36a	27,31A
Vagens	15,27a	43,41A	17,03a	40,04A
Sementes	31,14a	38,90A	29,87a	39,24A
R. tuberosas	6,20a	84,96A	8,23a	81,27A

nas (31,14 e 29,87%, em plantas tutoradas e rasteiras, respectivamente), enquanto que os menores valores foram encontrados em raízes tuberosas (6,20 e 8,23%, em plantas tutoradas e rasteiras, respectivamente).

Em termos de carboidratos os maiores teores foram observados em raízes tuberosas (84,96 e 81,27%) e os menores em folhas (30,36 e 27,31%).

3.2.3.2. Aminoácidos livres totais e ureídeos

As dosagens de aminoácidos livres totais e ureídeos foram feitas em seiva de plantas que possuíam 3 meses de idade e que foram mantidas em casas de vegetação em fotoperíodo de 18 horas (DL) e fotoperíodo natural (DN). Não houve diferença significativa entre os dois tratamentos, em nenhum dos compostos dosados (tab. 32).

3.2.3.3. Óleo e ácidos graxos

O teor de óleo encontrado por peso de matéria seca foi de 18,33% e as porcentagens de ácidos graxos contidos no óleo podem ser observadas na tabela 33. Como se pode notar, a maior porcentagem corresponde ao ácido linoléico (38,40%) e a menor ao ácido linolênico (0,21%). Outro ácido graxo insaturado encontrado foi o ácido oléico, também em grande quantidade (24,89%). Entre os ácidos graxos saturados, o ácido palmítico foi o que apresentou maiores teores (24,05%), seguindo-se os ácidos beênico (7,38%) e, esteárico (4,43%), araquídico (0,63%).

Tabela 32- Teor de aminoácidos e ureídeos de seiva de xilema de plantas de P. tetragonolobus com 3 meses de idade, cultivadas em dias longos (DL) ou dias normais (DN).

fotoperíodo	Aminoácidos ($\mu\text{mol.ml}^{-1}$)	Ureídeos ($\mu\text{mol.ml}^{-1}$)
Dias normais	1,23a	1,65a
Dias longos	1,65a	1,70a

Tabela 33: Valores de ácidos graxos no óleo de sementes de P. tetragonolobus.

Ácidos graxos	% de ácidos graxos/óleo
Palmitico (16:0)	24,05
Esteárico (18:0)	4,43
Oléico (18:1)	24,89
Linoléico (18:2)	38,40
Araquídico (20:0)	0,63
Linolênico (18:3)	0,21
Beênico (22:0)	7,38

3.2.4. Análise "in situ"

3.2.4.1. Hematoxilina-eosina

Nos cortes corados pela hematoxilina-eosina foi evidenciado o padrão radial de distribuição das células nas raízes tuberosas com as paredes celulares hematoxilina positivas. O padrão de distribuição do material de reserva das células situadas próximas à região da casca das raízes tuberosas, mostrou-se diferente daquele das células localizadas mais internamente (fig. 17).

No citoplasma foi observada uma grande quantidade de grânulos não corados, circundados por material eosinófilo. Na região central desses grânulos notou-se também a presença de material corado (fig. 18).

3.2.4.2. Xylidine Ponceau

Em plantas com dois meses de idade, as raízes tuberosas apresentaram células pouco coradas pelo xylidine Ponceau (fig. 19). À medida que estas se desenvolvem (8 meses) nota-se um acúmulo de material XP positivo disperso pelo citoplasma das células (fig. 20). Aos 12 meses de idade, esse material é detectado circundando os grânulos não corados já visualizados nos cortes submetidos à coloração pela HE (fig. 21).

Após a coloração pelo XP, os controles dos tratamentos enzimáticos com pepsina e tripsina apresentaram resultados semelhantes aos dos demais materiais corados por esse método (fig. 22 e 24). Nos cor-

Figura 17 e 18 - Cortes transversais de raiz tuberosa de plantas de P. tetragonolobus corados pela hematoxilina-eosina. As paredes celulares são coradas pela hematoxilina enquanto que o citoplasma apresenta material eosinófilo circundando grânulos não corados. Aumento: 290 vezes. Fig. 17 - Corte próximo à casca da raiz. Nota-se que as células da região mais externa (RE) não apresentam um padrão de distribuição radial como pode ser visualizado nas células situadas mais próximas ao centro da raiz (RI). Fig. 18: Região mais interna mostrando que nos inúmeros grânulos não corados () existe uma região central eosina-positiva.



Figura 19, 20 e 21 - Cortes transversais de raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus corados pelo xylidine Ponceau para proteínas totais. Fig. 19 - Raízes de plantas com 2 meses de idade. Nota-se que as células estão pouco coradas pelo xylidine Ponceau. Aumento: 460 vezes. Fig. 20 - Raízes de plantas com 8 meses de idade. Há um acúmulo de material XP positivo disperso pelo citoplasma das células. Aumento: 460 vezes. Fig. 21 - Raízes de plantas com 12 meses de idade. O material XP positivo aparece circundando os grânulos não corados já visualizados com HE. Aumento: 290 vezes.

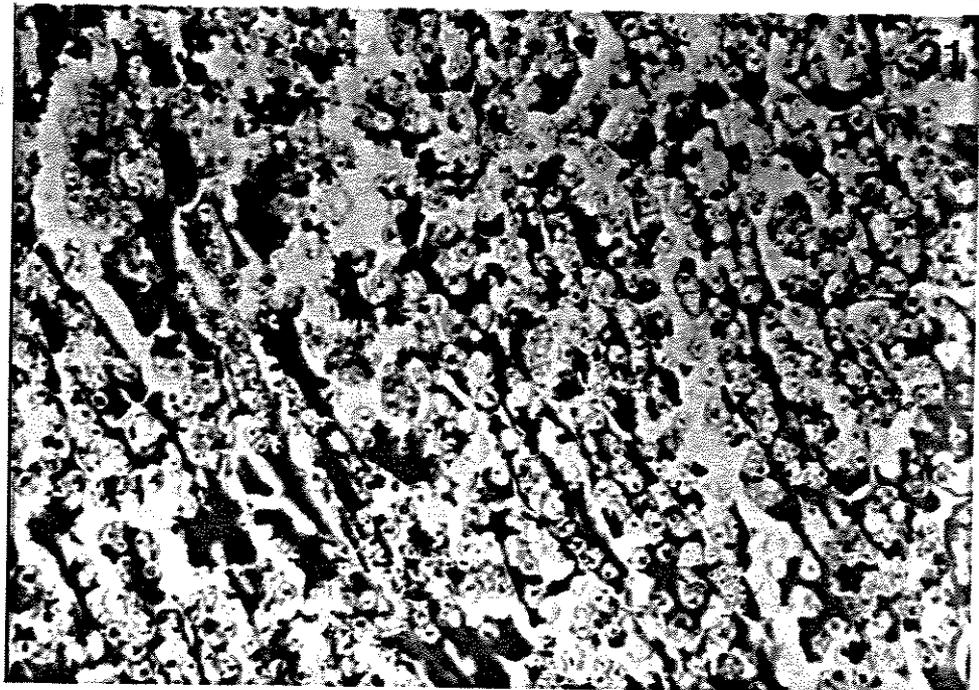
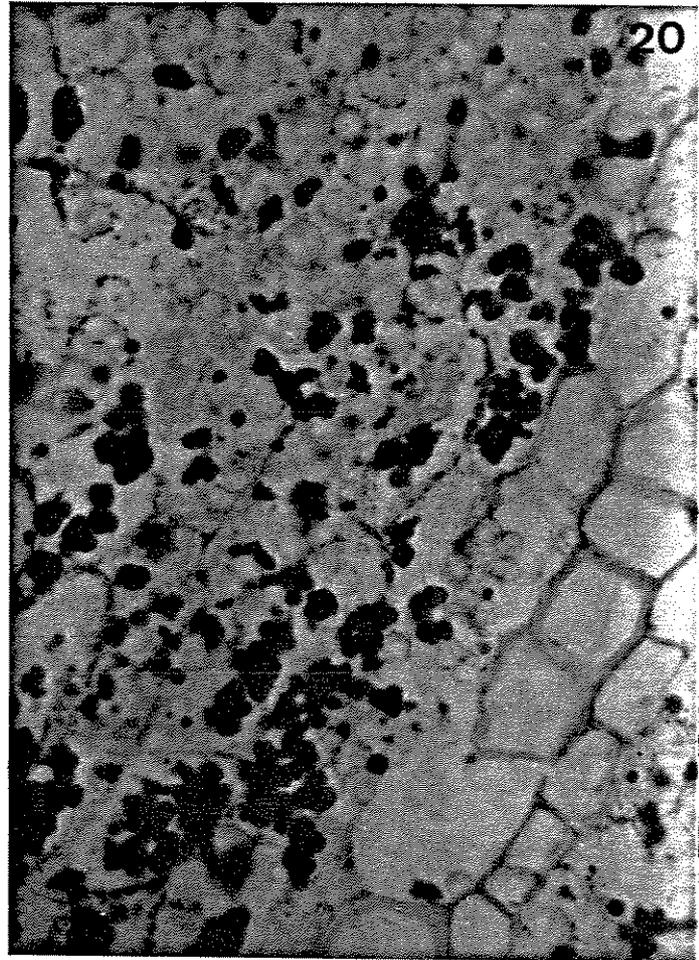
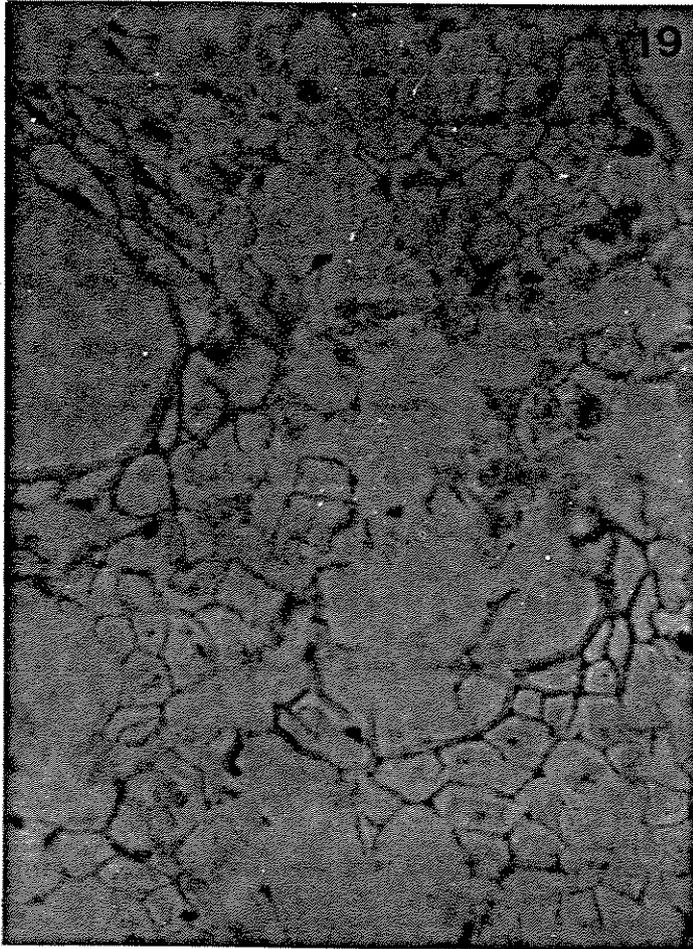
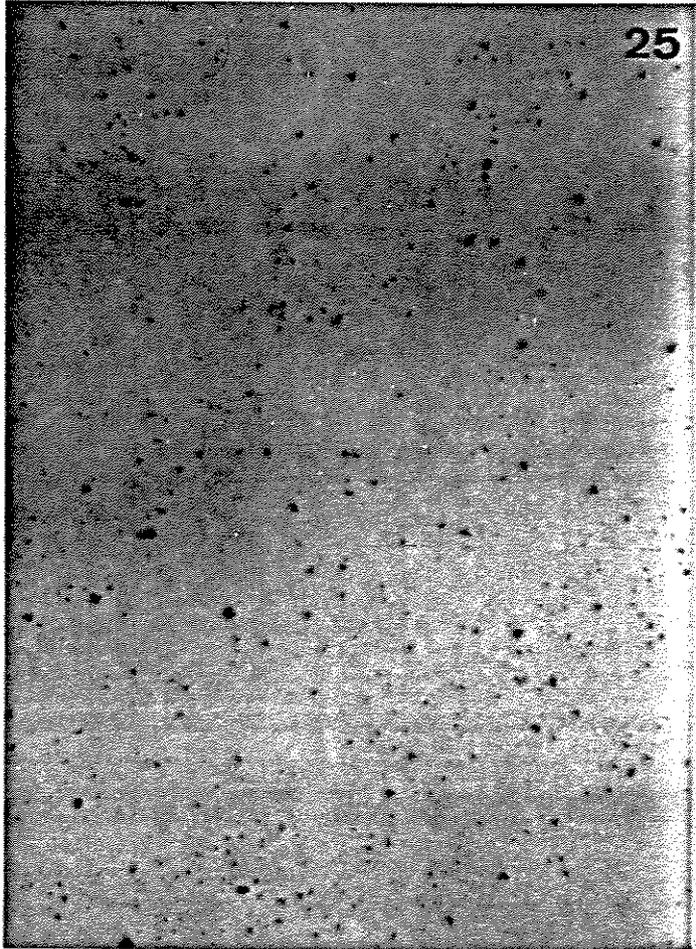
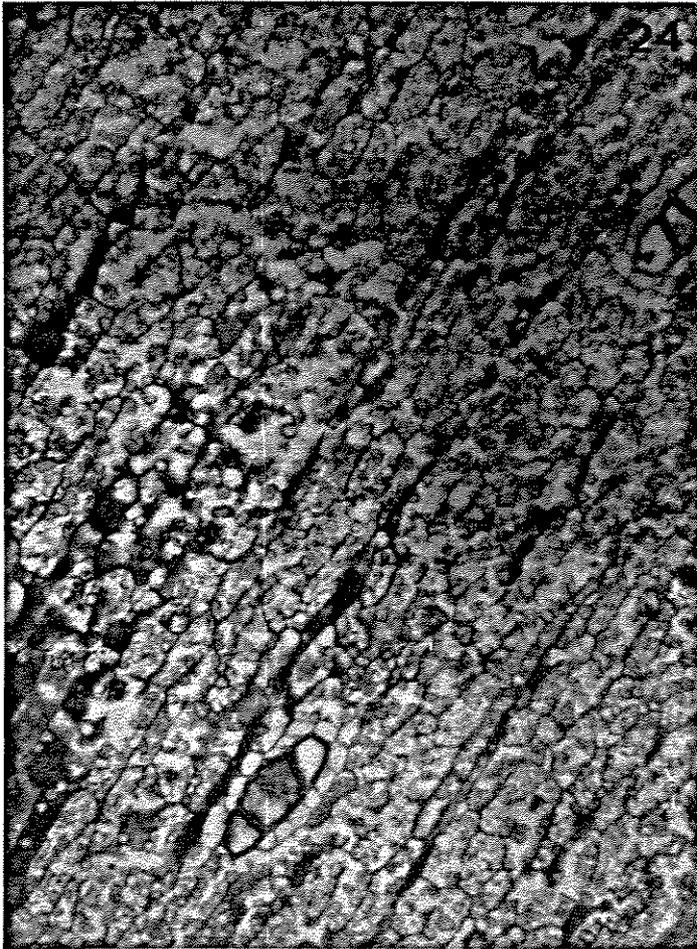
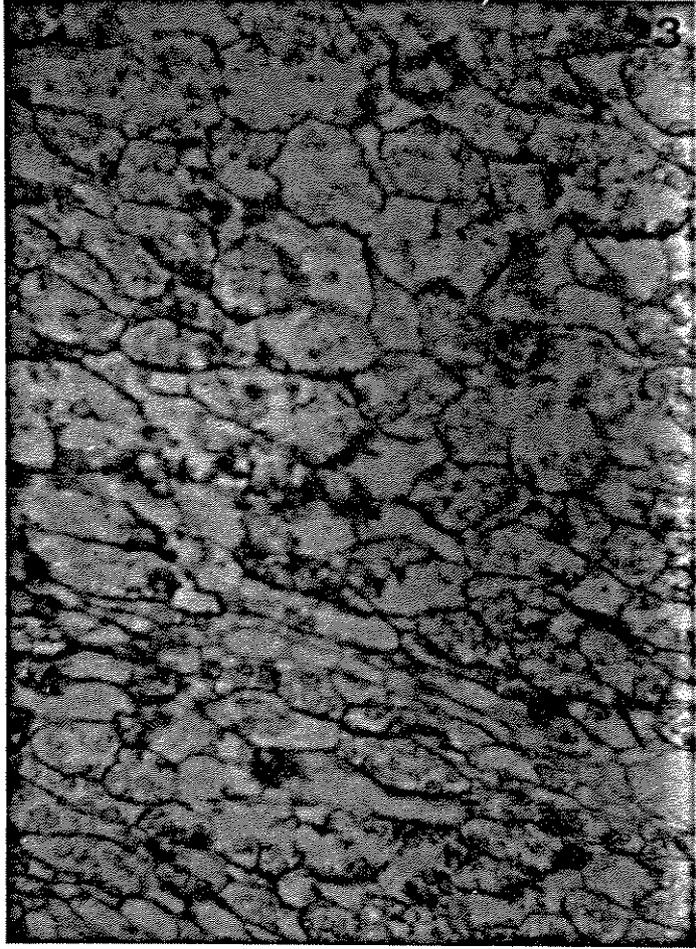
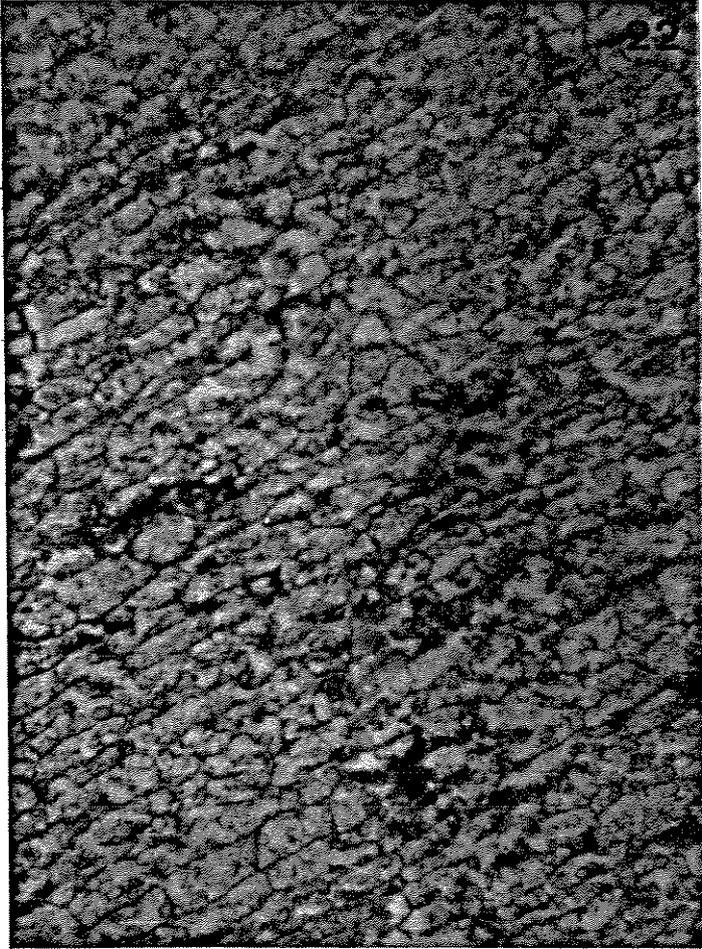


Figura 22 a 25 - Cortes de raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus submetidas a digestão com enzimas proteolíticas e posteriormente corado com xilidine Ponceau a pH 2,5. Aumento: 115 vezes. Fig. 22: Controle do método de extração com tripsina. Pode-se notar reação positiva ao corante. Fig. 23: Corte de material tratado com tripsina. Neste tratamento, a eficiência de digestão foi pequena, principalmente no material protéico associado às paredes celulares. Fig. 24: Controle do método de extração com pepsina. Nota-se reação positiva ao corante. Fig. 25: Corte de material tratado com pepsina. Pode-se observar a remoção quase total do material XP positivo, inclusive na região das paredes celulares.



tes tratados pela tripsina, apenas pequena parte do material corado foi digerido. Mesmo assim, pode ser notada uma remoção diferencial desse material, com uma ação mais eficiente ao nível do conteúdo citoplasmático e menor digestão ao nível das paredes celulares (fig. 23). Com a utilização de pepsina, pode-se observar a remoção praticamente total do material XP positivo (fig. 25).

3.2.4.3. Azul de toluidina

As paredes celulares foram coradas pelo azul de toluidina apresentando-se metacromáticas. Em raízes tuberosas de plantas com 2 meses de idade, não foi observada a presença de material corado no citoplasma (fig. 26). Nas plantas com 8 meses e principalmente naquelas com 12 meses de idade foi notada a existência de uma certa quantidade de material granular acumulada no citoplasma, como já descrito nos métodos anteriores (fig. 27).

A coloração com azul de toluidina revelou ainda a ortocromasia das paredes das células vasculares do xilema que se distribuem principalmente na região central dos tubérculos (fig. 28).

3.2.4.4. Microscopia de polarização

A análise dos cortes em microscópio de polarização revelou a birrefringência das paredes celulares e dos grânulos não corados pelos demais métodos (fig. 29 e 30).

As paredes das células dos feixes vasculares exibiram uma birrefringência de cor branca de primeira ordem, mais evidente que as

Figura 26 e 27 - Cortes de raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus corados pelo azul de toluidina. Fig. 26: Plantas com 2 meses de idade. As paredes celulares mostram-se metacromáticas e o material citoplasmático não apresenta coloração. Nota-se ainda a presença de paredes celulares coradas em verde. Aumento: 460 vezes. Fig. 27: Plantas com 12 meses de idade. Nota-se a metacromasia das paredes e a presença de uma certa quantidade de material granular acumulada no citoplasma (). Aumento: 115 vezes.

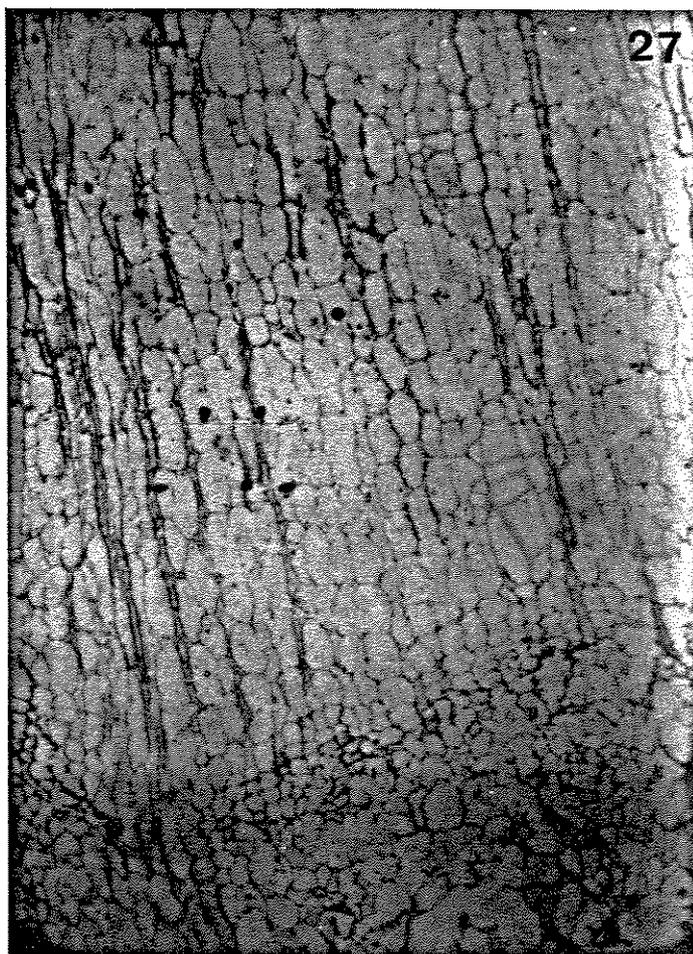
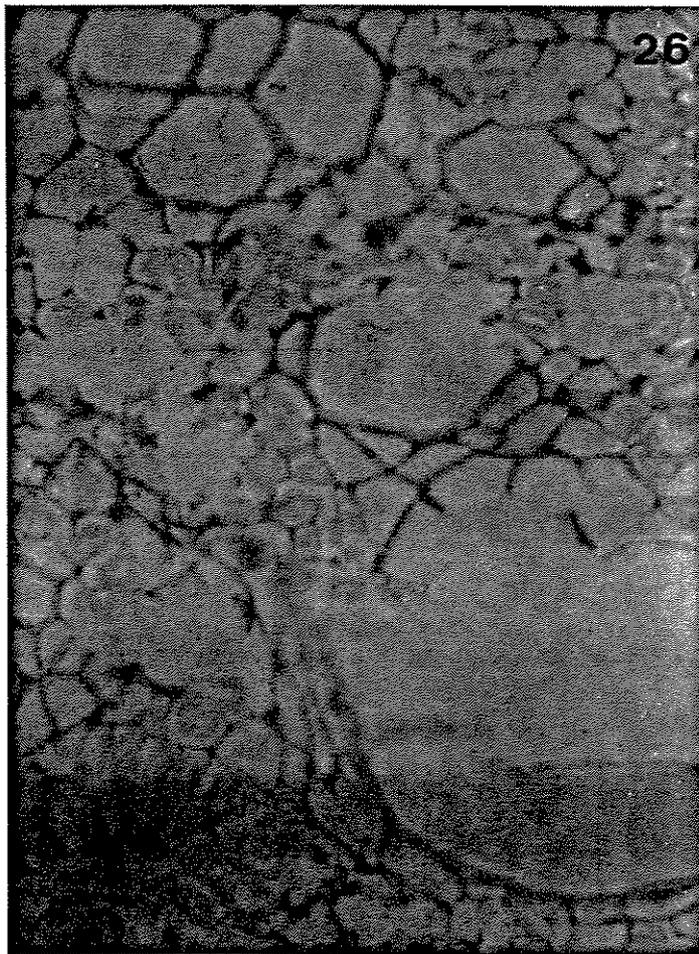


Figura 28 e 29 - Cortes de raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus com 12 meses de idade, corados pelo azul de toluidina. Aumento: 290 vezes. Fig. 28: região central mostrando a ortocromasia das paredes das células do xilema e a metacromasia das demais paredes. Fig. 29: Análise do mesmo corte em microscópio de polarização, com polarizador e analisador cruzados (90°). Pode-se observar a birrefringência das paredes celulares e dos grânulos não corados pelos demais métodos.

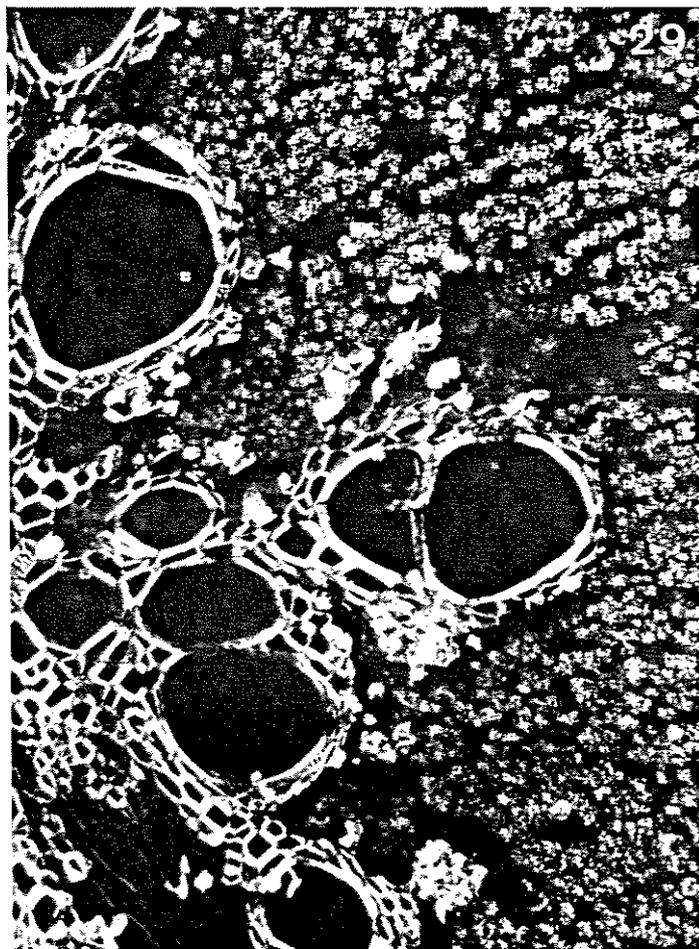
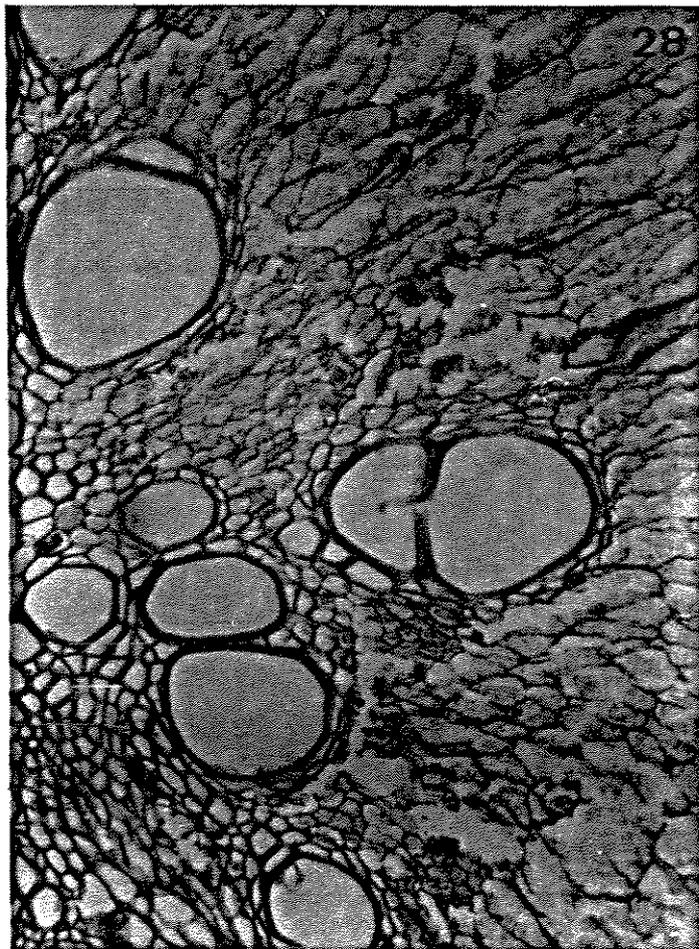
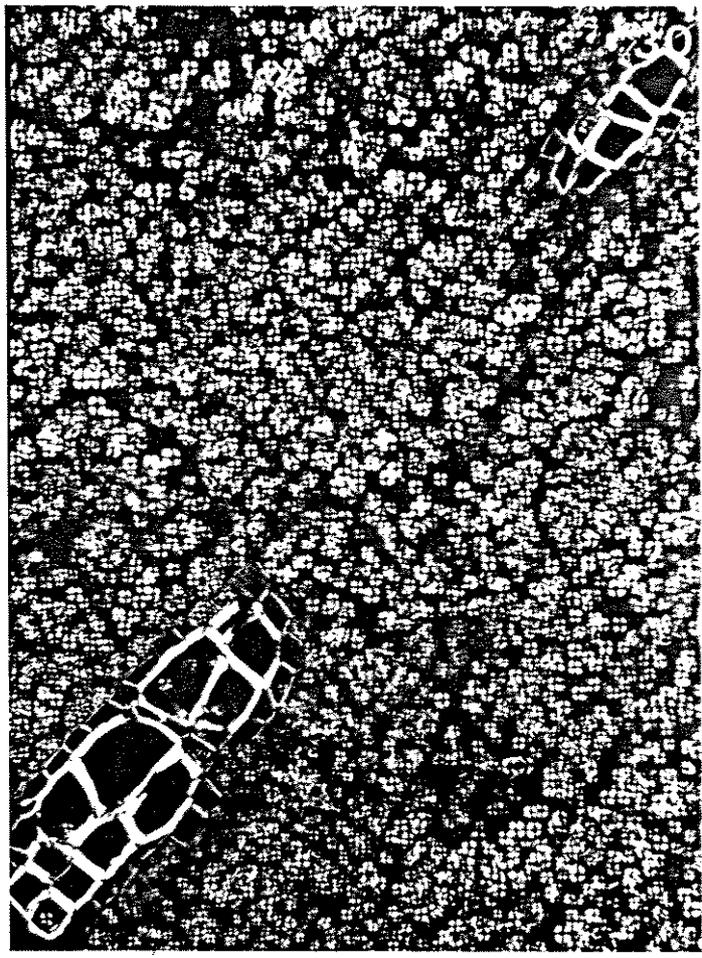


Figura 30 - Corte de raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus, visualizado em microscópio de polarização com analisador e polarizador cruzados. Pode-se observar a birrefringência das paredes celulares e dos grânulos de amido que apresentam a estrutura em "Cruz de Malta". Aumento: 290 vezes.



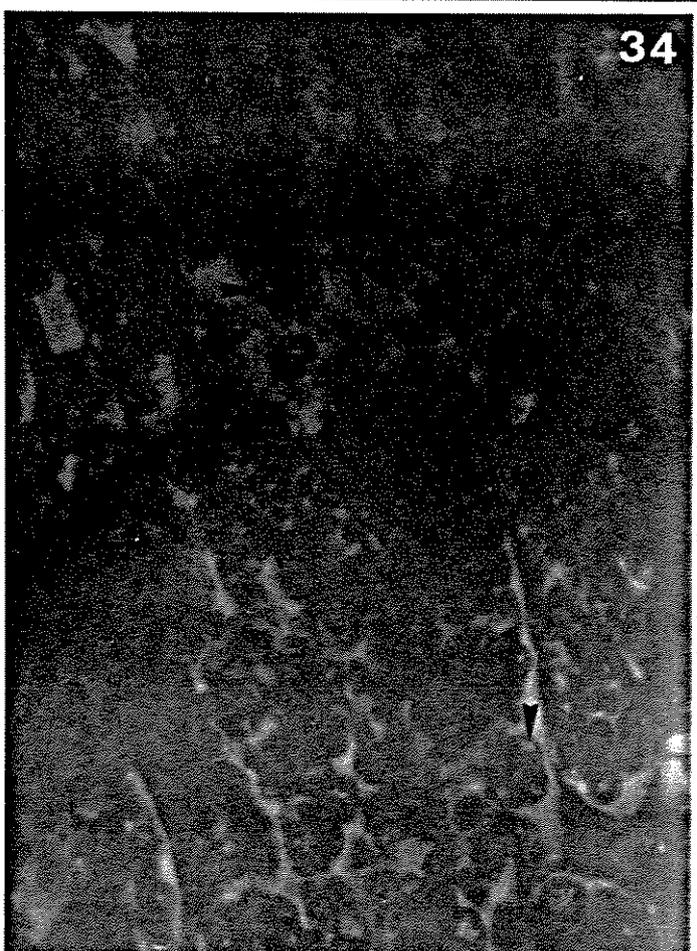
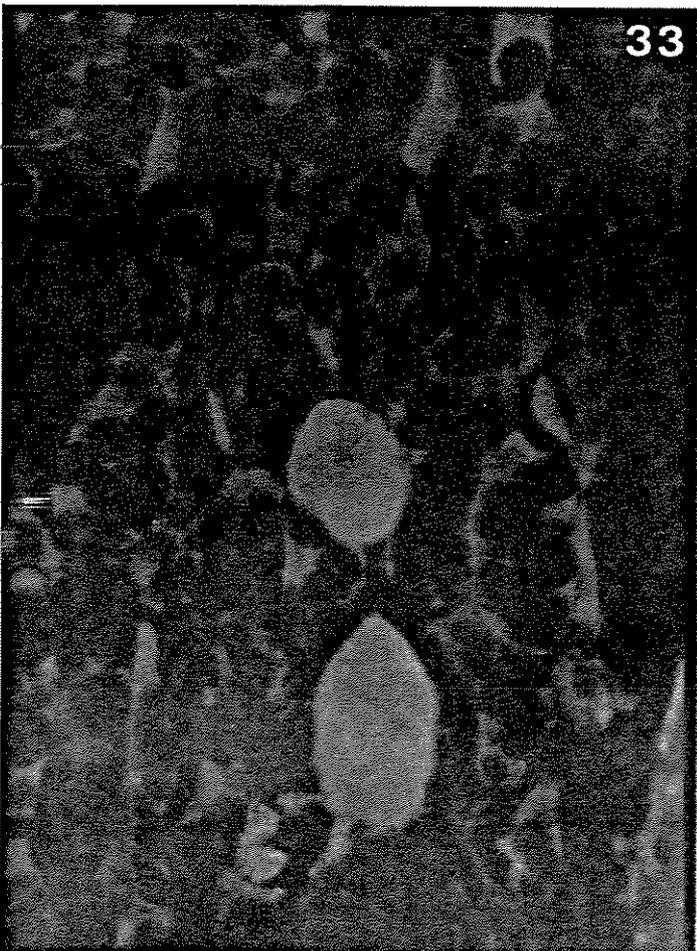
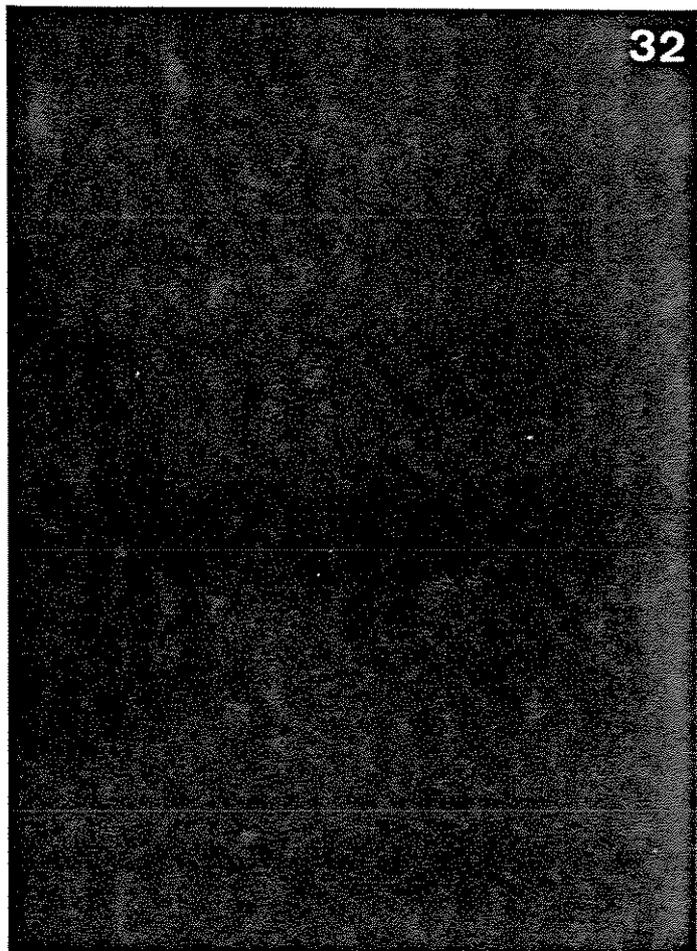
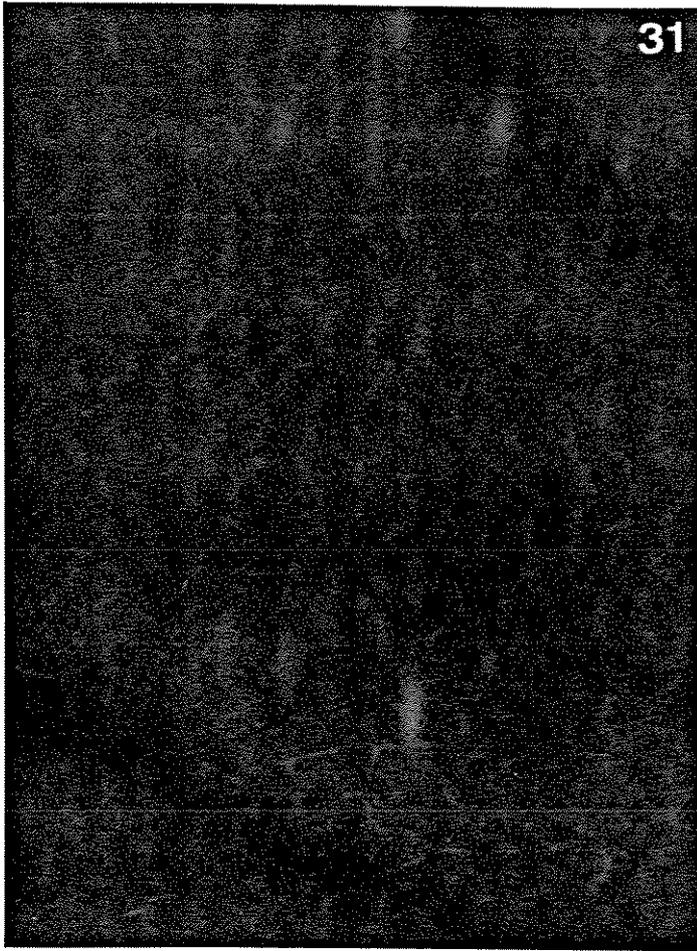
das outras células (fig. 29). Os inúmeros grânulos birrefringentes apresentaram-se arredondados, com estrutura em "Cruz de Malta" que se manteve constante mesmo com a rotação da platina do microscópio. Por essa característica peculiar pode-se afirmar que esses grânulos tratam-se de grãos de amido (Fig. 30).

3.2.4.5. Microscopia de fluorescência

O uso do microscópio de fluorescência permitiu a observação de fluorescência natural verde quando foi utilizado o filtro de barragem de 500 nm e, com menor intensidade, de fluorescência vermelha, com filtro de barragem de 650 nm.

No material com 2 meses de idade, apenas as paredes celulares apresentaram-se fluorescentes (fig. 31). Essa característica ou fluorescência se mantém nos tubérculos mais velhos, sendo que a partir do 8º mês já pode ser notada a presença de material globular fluorescente (fig. 32). Aos dozes meses, esse material aparece circundando os grânulos birrefringentes (fig. 33). Em muitas regiões observadas esses grânulos apresentaram material fluorescente em sua porção central (fig. 34). Essa técnica permitiu a observação de células exibindo um conteúdo fluorescente mais amarelado (fig. 33).

Figura 31 a 34 - Cortes de raízes tuberosas de plantas de P. tetragonolobus observados em microscópio de fluorescência. Aumento: 370 vezes. Fig. 31: Planta com 2 meses de idade. Nota-se que apenas as paredes celulares apresentam-se fluorescentes. Fig. 32: Planta com 8 meses de idade. Já pode ser notada a presença de material globular fluorescente. Fig. 33: Planta com 12 meses de idade. O material fluorescente aparece circundando os grânulos birrefringentes. Nota-se a presença de células exibindo um conteúdo fluorescente amarelo. Fig. 34: Plantas com 12 meses de idade. Em certas regiões os grânulos apresentam material fluorescente em sua porção central ().



4. DISCUSSÃO

4.1. Germinação

Segundo MARTIN (1977), as sementes de feijão alado germinam lentamente, e isso pode ser acelerado pelo processo de pré-embebição e/ou escarificação. MARTIN & DELPIN (1978) comentam que as sementes de feijão alado podem ser plantadas em qualquer época do ano e que germinam entre 5 e 15 dias. Nos experimentos do presente trabalho, que visavam testar a germinação de feijão alado verificou-se que após 6 dias em luz ou 7 dias no escuro, a 25°C, houve germinação de 100% das sementes. A 30°C, 100% das sementes haviam germinado aos 6 dias na luz e 99% após 5 dias no escuro, o que confirma os dados existentes em literatura.

O fato das sementes terem sido previamente embebidas e colocadas para germinar em vermiculita úmida parece ter influenciado na velocidade da germinação, visto que nesse experimento 100% das sementes já havia germinado após 4 dias em gerbox.

A aplicação de GA₃ e de CCC nas concentrações usadas, não teve efeito promotor ou inibidor na germinação de feijão alado.

Segundo KARSEEN (1976a,b) e BERRIE et al. (1974), não é aconselhável a aplicação de hormônios em sementes não embebidas, pois estes poderiam causar alterações na estrutura das membranas celulares. Para contornar esse possível problema, os reguladores de crescimento

foram dissolvidos em solvente altamente volátil (diclorometano), o que possibilitou a penetração dessas substâncias nas sementes ainda não embebidas.

Como nesse trabalho não havia necessidade de reduzir o tempo de germinação das sementes, e como a taxa de germinação mostrou-se sempre bastante alta, não foram feitos testes de escarificação para confirmar resultados de literatura de que esse método seria conveniente para aceleração desse processo ou aumentar a % de germinação (MARTIN & DELPIN, 1978).

4.2. Análise de crescimento

A produção final de uma planta é o resultado de suas interações com o ambiente, sendo a planta um integrador dos estímulos ambientais. Do ambiente provêm os ingredientes necessários aos processos fisiológicos, mas fatores internos inerentes a cada planta é que ditam o padrão de utilização dos recursos ambientais disponíveis (MACHADO et al., 1982).

A comunidade vegetal é dinâmica, sofrendo variações constantes tanto no número quanto no tamanho, forma, estrutura e composição química dos indivíduos. A análise quantitativa do crescimento é o primeiro passo para se avaliar a produção vegetal e requer informações simples, como a quantidade de material contido na planta toda e em suas partes (folhas, raízes, frutos, etc) e o tamanho do aparelho fotossintetizante (área foliar). Essas informações são obtidas a intervalos de tempo durante a estação de crescimento do vegetal, ou seja,

durante a variação temporal da quantidade de matéria das plantas (PE-REIRA E MACHADO, 1987).

Em plantas de feijão alado crescidas nos períodos Primavera-Verão e Outono-Inverno, o aumento no peso de matéria seca da lâmina foliar acompanhou o aumento de área foliar (porcentagem de aumento igual nos dois parâmetros) e por isso a AFE se apresentou constante. No entanto, as plantas em Primavera-Verão tiveram um crescimento mais vigoroso (o que foi refletido por um aumento grande do peso de matéria seca de caules e pecíolos) em relação ao crescimento das plantas de Outono-Inverno. Isso explica a diminuição da RAF com o aumento da idade das plantas no período Primavera-Verão, e a constância no caso de plantas de Outono-Inverno.

A TCR e a TAL entre o terceiro e o quarto mês (90-120 dias) foi bem maior nas plantas que cresceram no período Primavera-Verão do que nas crescidas no período Outono Inverno, visto que, nesse intervalo de tempo houve um aumento de 6,4 vezes no peso da matéria seca da parte aérea em plantas de Primavera-Verão e de apenas 2,5 vezes em plantas de Outono-Inverno.

Entre o quarto e o quinto mês as plantas de Outono-Inverno apresentaram um aumento da TCR em relação aos outros intervalos de tempo analisados. Nessa ocasião (a partir do quarto mês-120 dias) essas plantas já possuíam flores e vagens jovens como componentes do peso da matéria seca da parte aérea e provavelmente, em consequência disso, houve um aumento maior de peso da matéria seca da parte aérea, nesse intervalo de tempo, nas plantas Outono-Inverno (3,1 vezes) do que nas Primavera-Verão (2,1 vezes).

Como a temperatura afeta o metabolismo, também influencia no crescimento das plantas (SUTCLIFFE, 1977). O predomínio de temperaturas baixas no período de Outono-Inverno, principalmente durante a noite, provavelmente influenciou provocando atraso no crescimento das plantas nessa época do ano.

4.3. Tutoramento e posição do caule principal

Embora a habilidade de formar tubérculos pareça ser primariamente dependente da variedade genética (MARTIN & DELPIN, 1978), também é afetada por fatores ambientais como comprimento do dia (LOWE et al., 1976), temperatura e certas práticas de cultivo (GREGORY, 1965).

Quando em cultura, as plantas de feijão alado crescem normalmente suspensas por estacas ou treliças quando o interesse é a produção de vagens e sementes, mas podem ser mantidas rasteiras quando o objetivo é a produção de raízes tuberosas (N.A.S., 1975).

BANERJEE et al. (1984), compararam esses dois tipos de cultivo e obtiveram maior produção (vagens, sementes e raízes tuberosas) em plantas estaqueadas do que naquelas mantidas sem suporte.

Pelos resultados dos experimentos conduzidos neste trabalho, pode-se concluir que, no geral, em vasos, tambores ou canteiros, houve maior crescimento vegetativo em plantas tutoradas verticalmente. Esse crescimento é caracterizado, no caso de vasos e tambores, por maior peso de matéria seca da parte aérea, maior comprimento do caule e maior número de nós, e em canteiros por maior comprimento do caule,

maior número de ramos laterais e maior peso da matéria seca da parte aérea.

A produção de flores e vagens em plantas em canteiros foi, no geral, maior em plantas tutoradas. No entanto, em quatro dos experimentos, não houve diferença estatística significativa entre o peso da matéria fresca e seca, número e dimensões de raízes tuberosas em plantas tutoradas e rasteiras. Apenas no Exp.V houve maior produção de raízes tuberosas em plantas rasteiras do que em tutoradas.

A gravidade é um fator importante para o crescimento das plantas por ter uma intensidade contínua e uniforme e uma direção constante. As plantas terrestres, por estarem restritas a um local fixo no qual vivem, precisam regular constantemente seu crescimento em relação à gravidade (BROWN, 1974).

WAREING & NASR (1958, 1961) e WAREING & LONGMAN (1958) exploraram consideravelmente os efeitos da gravidade no crescimento em extensão, dominância apical e floração em muitas árvores frutíferas e em uma conífera. Quando variedades de plantas de maçã, ameixa e cereja crescidas em vasos eram mantidas na posição horizontal, o crescimento em extensão era consideravelmente menor do que nas plantas controle que cresciam verticalmente. Em algumas espécies, a redução no crescimento total, era devido a uma diminuição tanto no número como no comprimento dos internós, e em outras espécies isso se dava principalmente devido ao comprimento dos internós. A floração era também muito aumentada quando essas árvores cresciam na posição horizontal.

Em P. tetragonolobus a floração foi maior em plantas mantidas na posição vertical, talvez porque esta planta seja herbácea, tre-

padeira, enquanto que os autores citados ~~em~~ trabalharam com espécies frutíferas lenhosas.

A partir dos experimentos de WAREING & NASR (1961), BROWN (1974) lança a hipótese de que a gravidade teria causado uma alteração no balanço dos fatores de crescimento no ponto onde os ramos orientados verticalmente encontra a porção que foi colocada na posição horizontal (ponto mais alto do arco). Como resultado, as condições internas são mais favoráveis para a produção inicial "in situ" de citocinina liberando essas gemas de suas inibições. Uma vez que as gemas estejam liberadas da inibição, a síntese de outros fatores de crescimento no meristema da gema estimula a divisão e alongamento celular adicional resultando em rápido crescimento em extensão.

4.4. Remoção de flores e folhas

Órgãos vegetativos de armazenamento crescem por expansão de vários tecidos diferentes incluindo caules (tubérculos, colmos), raízes (raízes tuberosas) e folhas (bulbos). Fisiologicamente, entretanto, eles todos tem uma função similar como órgãos perenes e são regiões para os quais os materiais de armazenamento são mobilizados. Seu desenvolvimento é usualmente acompanhado pela parada do crescimento ativo seguido por senescência e morte do restante da planta (VINCE-PRUE, 1975).

Como em certas regiões há a prática de poda e remoção de flores para obter maior produção de raízes tuberosas (N.A.S., 1975) foi montado um experimento com plantas tutoradas e rasteiras, compa-

rando-se plantas das quais foram removidas as inflorescências com plantas mantidas com flores (como controle). Verificou-se que o crescimento das plantas não foi influenciado pela remoção de flores, embora se possa citar que houve diferença entre o crescimento de plantas tutoradas e rasteiras (independentemente da remoção de flores).

Em relação à produção de raízes tuberosas, não houve influência, nem do tutoramento nem da remoção de flores.

Segundo NODA et al. (1984), a remoção das inflorescências de feijão-macuco, propiciou um incremento de até 10 vezes no rendimento em raízes tuberosas. No entanto, ALVARENGA (1987), trabalhando com a mesma planta, verificou que a remoção de flores não afetou o peso das raízes tuberosas formadas.

Os fotossintatos e outros produtos do metabolismo são translocados das folhas para outras partes da planta. As raízes, os caules, as folhas jovens, frutos e flores em desenvolvimento terão necessidade desse material para seu crescimento e irão metabolizá-los ou armazená-los.

Qualquer tecido que esteja crescendo, armazenando ou metabolizando algo, pode ser considerado dreno. Folhas jovens, frutos, raízes, colmos, tubérculos, flores em desenvolvimento, caules em crescimento e ápices de raiz são exemplos comuns (SALISBURY & ROSS, 1978).

Nesse trabalho, esperava-se que com a remoção das flores pudesse haver um redirecionamento dos fotossintatos para a região das raízes tuberosas, possibilitando maior produção.

Como não houve diferença significativa no desenvolvimento das raízes tuberosas entre plantas com flores (controle) e sem flores (flores removidas), pode-se supor que não havia competição pela quantidade de fotossintatos produzidos pelas folhas, ou que essa produção era suficientemente grande para suprir esses dois drenos.

Procedeu-se então à remoção de folhas, para averiguar qual seria o menor número de folhas necessário para que houvesse formação de raízes tuberosas. Foi verificado que apenas uma folha já foi suficiente para promover formação de raízes tuberosas e que apenas plantas mantidas com 6 folhas ou plantas intactas, com 46 folhas, apresentaram diferença significativa em relação ao número de raízes formadas. Notou-se uma tendência de aumento progressivo no peso das raízes conforme aumento no número de folhas. O mais surpreendente, foi que não houve diferença significativa entre as plantas que foram mantidas com apenas 6 folhas e as plantas intactas que possuíam 46 folhas.

SCHOONHOVEN et al. (1974) e ALVARENGA (1987) verificaram que a desfolha parcial da planta não afetou a produção de raízes de mandioca e jacatupé, respectivamente. Os autores concluem que isso ocorreu por ter havido uma compensação rápida da área foliar perdida pelo aumento da superfície foliar e desenvolvimento de novas folhas. No entanto, no caso deste trabalho, não houve essa possibilidade pois, em plantas submetidas à remoção de folhas, as folhas novas eram removidas assim que surgiam e portanto o número de folhas por planta foi mantido constante do começo ao fim do experimento.

4.5. Influência do fotoperíodo e da temperatura

Os principais passos do processo de florescimento, isto é, indução, evocação, iniciação e desenvolvimento da flor (KINET *et al.*, 1985) podem ser diferentemente afetados por fatores ambientais (BLAKE, 1960). O comprimento do dia e a temperatura são fatores que exercem influência tanto sobre esse processo (VINCE-PRUE, 1975), como sobre o crescimento vegetativo de plantas de dia curto ou longo (SCHWABE, 1956).

Foram realizados experimentos em canteiros, casas de vegetação e câmaras de crescimento, nos quais se avaliou o crescimento vegetativo, a floração e a formação de raízes tuberosas em plantas de feijão alado em fotoperíodos e temperaturas dia/noite diferentes.

Plantas de feijão alado crescidas em casa de vegetação em fotoperíodo de 20 horas apresentaram maior alongamento do caule e maior número de nós, do que plantas mantidas em fotoperíodos menores. As plantas que mostraram menor crescimento e número de nós foram aquelas mantidas em 12 horas de luz.

Os experimentos em canteiros foram realizados em duas épocas diferentes. No período Primavera-Verão o fotoperíodo médio na região de Campinas (22°54' L.S.) é de 13 horas, e a temperatura média mensal variou de 18,2°C (setembro) a 25,5°C (fevereiro), e no período Outono-Inverno o fotoperíodo médio é de 11 horas e a temperatura média mensal variou de 17,9°C (agosto) a 21°C (abril).

Como houve maior crescimento (peso de matéria seca, área foliar e número de folhas) em plantas cultivadas no período P-V, fica

claro, que o fotoperíodo é um dos fatores que afeta o crescimento dessas plantas, o que confirma o que já foi demonstrado em trabalhos feitos anteriormente (WONG & SCHWABE, 1979; RUSSEL & STUBER, 1983); THOMAS & RAPER, 1984). WONG & SCHWABE (1979) verificaram que o peso da matéria seca era significativamente maior em plantas em fotoperíodo de 16 horas que em 8 horas quando estas cresciam em temperatura dia/noite de 26/18°C.

No entanto, em temperaturas dia/noite mais altas (32/22°C) não houve diferença em acúmulo de matéria seca entre os dois fotoperíodos.

Em relação ao efeito da temperatura dia/noite sobre o crescimento de plantas em câmaras, verificou-se que plantas que permaneceram em fotoperíodo de 13 horas, em temperatura dia/noite de 20/15°C, tiveram o crescimento reduzido (número de folhas, ramificações e nós, altura, peso de matéria seca e área foliar). Entre plantas crescidas em 25/20 e 30/25°C só houve diferença significativa em peso de matéria seca e área foliar, que foram maiores em 30/25°C.

Em casa de vegetação com fotoperíodo controlado os experimentos foram conduzidos em período em que a temperatura ambiente variou de 18,7 a 21,0°C. Verificou-se que as plantas de feijão alado estudadas podem ser consideradas plantas de dias curtos pois floresceram em fotoperíodos inferiores a 16 horas.

Como já foi dito anteriormente, em experimentos realizados em canteiros, em qualquer época do ano o fotoperíodo era menor que o fotoperíodo crítico para floração e formação de raízes tuberosas nas plantas de feijão alado estudadas..

Outros autores já haviam afirmado que a maioria das seleções de feijão alado é sensível ao comprimento do dia (HERATH & ORMROD, 1979), sendo caracterizadas como plantas de dias curtos (KHAN, 1978).

Com base nisso, foram montados dois experimentos em câmaras de crescimento onde as plantas foram mantidas em temperatura dia/noite de 20/15, 25/20 e 30/25°C e fotoperíodo de 13 horas. Apesar das plantas se encontrarem em fotoperíodo indutivo, houve floração apenas em plantas em 25/20°C. A floração teve início aos 48 dias em câmara e aos 52 ou 55 dias (experimento I e II, respectivamente) 100% das plantas estavam floridas.

No experimento I a primeira flor foi detectada do 9º ao 14º nó (dependendo da planta), enquanto no experimento II as primeiras folhas surgiram no 11º nó em todas as plantas. No primeiro experimento as plantas foram mantidas em câmaras por 96 dias e se verificou que após 89 dias todas as flores haviam abortado.

A temperatura e o fotoperíodo interagem, portanto, de tal modo que o fotoperíodo crítico tende a mudar conforme a temperatura de crescimento da planta, como foi relatado por HEIDE (1977) para morango. WONG & SCHWABE (1979) afirmaram que a temperatura é tão importante quanto o comprimento do dia no controle da floração de feijão alado. Eles demonstraram que em um experimento as plantas mantidas em fotoperíodo de 8 horas floresceram em temperatura dia/noite de 26/18°C e que em temperaturas mais altas (32/22°C) a floração foi inibida. Em um segundo experimento verificaram que aumentando ou diminuindo a temperatura do dia ou diminuindo a temperatura da noite, houve inibição da floração, mesmo em dias curtos.

HERATH & ORMROD (1979) trabalhando com 15 seleções de feijão alado da Universidade de Nova Guiné e 5 do Sri Lanka, também observaram que a temperatura foi tão importante quanto o fotoperíodo no controle da floração desse feijão. Todas as seleções da Nova Guiné e duas do Sri Lanka floresceram em fotoperíodo de 11 horas a 25/20°C, mas não floresceram no mesmo fotoperíodo a 30/25°C e nenhuma seleção floresceu em fotoperíodo de 14 horas.

RUEEGG (1981) estudou quatro grupos de feijão alado em fotoperíodo de 12 horas e temperatura dia/noite de 27/23 e 22/18°C. Em todos os tratamentos houve floração e a produção mais alta de sementes foi no grupo a 27/23°C.

Segundo VINCE-PRUE (1975), a formação de órgãos subterrâneos de reserva, como caules e raízes tuberosas, é dependente ou acelerada pela exposição das folhas da planta a fotoperíodos adequados. Vários autores citam que o processo de formação desses órgãos pode ser favorecido por exposição das plantas a dias curtos (GARNER & ALLARD, 1923).

Não há muitos trabalhos sobre a influência do fotoperíodo na formação de raízes tuberosas. ALVARENGA & VÁLIO (1989) estudando P. tuberosus, verificaram que a tuberização só ocorreu em fotoperíodos inferiores a 16 horas e classificaram-na como uma planta de dias curtos para tuberização.

A formação de raízes tuberosas em plantas de feijão alado estudadas no presente trabalho, só ocorreu em plantas mantidas em fotoperíodo inferior a 16 horas, quando em casa de vegetação.

WONG & SCHWABE (1979) verificaram que a formação de raízes tuberosas só ocorre em dias curtos independentemente da temperatura dia/noite fornecida. RUEEGG (1981), no entanto, verificou que nas mesmas condições citadas acima, a formação de raízes tuberosas só ocorreu em dois dos quatro grupos e foi maior em 22/18°C que em 27/23°C.

No caso deste trabalho, em um dos experimentos em que as plantas foram mantidas por 96 dias em câmara de crescimento (Exp. I) notou-se a formação de raízes tuberosas nos três regimes térmicos testados. No experimento II, no entanto, que foi encerrado aos 63 dias de tratamento, houve formação de raízes tuberosas de maneira efetiva (90%) apenas nas plantas em temperatura dia/noite de 25/20°C, enquanto 20% das plantas em temperatura 20/15 formaram raízes tuberosas e em 30/25°C não houve formação. Talvez nesse caso, não tenha havido tempo suficiente para que as raízes se formassem totalmente. Nos dois experimentos não houve diferença significativa no número e dimensões das raízes tuberosas dos diferentes tratamentos, mas as plantas mantidas em temperatura dia/noite de 25/20°C apresentaram maior peso de matéria seca.

Em P. tuberosus houve maior influência da temperatura que do fotoperíodo na tuberização, sendo que houve inibição em altas temperaturas (30/25°C) e estímulo em temperaturas mais baixas (20/15 e 25/20°C) (ALVARENGA & VÁLIO, 1989).

Pensando em termos gerais, as sementes de feijão alado utilizadas nesse trabalho são provenientes de plantas da Indonésia. Esse país está situado na região equatorial (estendendo-se desde 11° de latitude sul a 5°55' de latitude norte), onde não há muita variação em

termos de fotoperíodo, e possui um relevo extremamente montanhoso em grande parte da sua extensão, o que possibilita que as temperaturas anuais, em geral mais altas que 25°C, caiam situando-se em torno de 18°C em média, por ano.

ALVARENGA & VÁLIO (1989) fazem uma análise a respeito da temperatura e do fotoperíodo na floração e tuberização de P. tuberosus, que é uma espécie nativa de região de altas temperaturas (região Amazônica) onde o fotoperíodo é praticamente constante durante o ano (ao redor de 12 horas).

As plantas de P. tuberosus, do mesmo modo que as de feijão alado, só floresceram e formaram raízes tuberosas em fotoperíodos inferiores a 16 horas, e apresentaram um incremento no peso da matéria seca destas raízes em regime térmico de 25/20°C. Pelo fato dessas características não coincidirem com as características do local nativo de P. tuberosus, ALVARENGA & VÁLIO (1989) sugerem que a floração e tuberização nessa espécie talvez seja controlada por outros fatores ambientais que não foto e termoperíodo, ou agindo juntamente com eles. Comentam também que esse mecanismo de resposta a foto e termo período talvez exista, mas só seja disparado quando essa espécie atinge latitudes mais altas por dispersão natural. Essa suposição poderia também ser aplicada no caso de P. tetragonolobus.

4.6. Dosagens bioquímicas e análises "in situ"

Pelo fato do feijão alado ser considerado uma espécie particularmente rica em proteínas e altamente nutritiva, as pesquisas sobre

conteúdo de seus diferentes órgãos geralmente se atém a dosagens de proteínas, aminoácidos, óleo e ácidos graxos.

O conteúdo protéico de folhas, vagens, sementes e raízes tuberosas das plantas de feijão alado estudado nesse trabalho foi, no geral, semelhante àquele já obtido por outros pesquisadores. Vários autores apresentam resultados de dosagem de proteínas em raízes tuberosas (DE LUMEN & REYES, 1982; HILDEBRAND et al., 1982; TADERA et al., 1984), e alguns comentam que o nível protéico destas raízes é mais alto que o encontrado em raízes tuberosas de outras plantas tropicais (POULTER, 1982; TADERA et al., 1984). Em sementes, afirma-se com frequência que o conteúdo protéico é semelhante ao de soja (EKPENYONG & BORCHERS, 1982; PRAKASH et al., 1987). BANERJEE et al. (1984) observou, fazendo dosagens em várias regiões da planta, que o teor de proteínas é semelhante em plantas estaqueadas ou rasteiras. Resultados semelhantes foram verificados neste trabalho.

Considera-se que as folhas de feijão alado possuem um valor nutritivo bastante alto por apresentarem alto teor protéico e baixo teor de carboidratos (N.A.S., 1975). Os conteúdos protéicos encontrados aqui (entre 20,36 e 23,51% do peso da matéria fresca), se aproximam daquele observado por HERNANDEZ et al. (1987), que foi de 25,37%. No caso de vagens, esses mesmos autores citam 17,86% e BANERJEE et al. (1984) citam 27-30%. Neste trabalho foi detectado 15,27% de proteínas em plantas tutoradas e 17,03% em plantas rasteiras (a diferença entre esses números não foi significativa).

O teor de carboidratos nas raízes tuberosas das plantas estudadas foi ao redor de 39% do peso da matéria fresca, enquanto que DE

LUMEN & REYES (1982) encontrou 57,72%. No caso de proteínas, esse mesmo autor cita 16,4% e POULTER (1982) encontrou de 7,40 a 15,00%, enquanto que neste trabalho foram detectados teores de 6,20 e 8,23%.

O maior número de avaliações sobre o potencial nutritivo de feijão alado, é feito com sementes. Os seguintes valores de conteúdo protéico em sementes foram citados anteriormente, em % de peso seco: 29,2 a 40,9 (HARDING et al., 1978); 27,8 a 47,2 (KHOR et al., 1982); 34,8 (YANAGI, 1983); 32,3 a 38,7 (YANAGI et al., 1983), 29,92 a 43,80 (RAMACHANDRA & MONTEIRO, 1986); 38,1 a 45,0 (PRAKASH et al., 1987). Os valores encontrados nesse trabalho, variaram entre 29,87 e 31,14%, estando no entanto, dentro das faixas apresentadas.

No caso de conteúdo protéico, deve-se considerar que em vários trabalhos de pesquisa, emprega-se a dosagem pelo método Kjeldahl que avalia o conteúdo total de nitrogênio, enquanto que com o método de Bradford se estima a concentração de nitrogênio em proteínas. Isso poderia explicar o fato dos valores encontrados nesse trabalho serem algumas vezes inferiores aos citados em literatura.

Os cortes anatômicos de raízes tuberosas de plantas que cresceram tutoradas e rasteiras, com e sem flor, não apresentaram diferenças de coloração em nenhum dos tratamentos. Assim, nos resultados foram apresentadas apenas as fotos de cortes de raízes de plantas tutoradas com flor. Esses dados, corroboram os obtidos nas demais avaliações realizadas nessas plantas, uma vez que elas apresentaram o mesmo número de raízes tuberosas, e os valores obtidos para os pesos da matéria fresca e seca não apresentaram diferenças significativas.

O uso da hematoxilina-eosina para uma análise geral mostrou-se eficiente para a visualização das paredes celulares, hematoxilina-positivas e do conteúdo eosinófilo do citoplasma como já demonstrado em outros vegetais como o feijão jacatupé (VIDAL & PIMENTEL, 1985) e soja (CORTELAZZO & VIDAL, 1990).

O material protéico do tecido de raiz, pôde ser visualizado utilizando-se xylidine Ponceau a pH 2,5 porque nesse valor de pH, mesmo proteínas ricas em ácido glutâmico e ácido aspártico, como é o caso do material protéico de sementes de Glycine max, já se encontram protonadas uma vez que apresentam um ponto isoelétrico aparente superior a 3.5 (Cortelazzo & Vidal, 1989). Desse modo, o xylidine Ponceau que é um corante aniônico interagiria eletrostaticamente com o substrato. Ainda assim, para confirmar a natureza do material corado, foram realizadas digestões com pepsina e tripsina. Com pepsina a remoção do conteúdo protéico foi quase total enquanto que com tripsina a digestão foi pequena, restando o material protéico ligado às paredes celulares. Essa diferença em relação aos controles corados pela XP possivelmente está relacionada à natureza do material protéico, uma vez que a pepsina, não muito específica, rompe ligações peptídicas ao nível dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano e tirosina) e muitos outros enquanto que a tripsina, bastante específica, catalisa a hidrólise das ligações peptídicas das quais participa a carboxila de resíduos de arginina ou lisina (LEHNINGER, 1985).

Houve acúmulo do material XP positivo disperso pelo citoplasma das células das raízes tuberosas, à medida que a planta se tornava mais velha. Aos dois meses de idade as células se apresentaram

pouco coradas, havendo um maior acúmulo aos 8 meses e finalmente, aos 12 meses o material protéico aparece circundando grânulos não corados mostrando assim o acúmulo gradativo dessa reserva no interior das células das raízes tuberosas.

O azul de toluidina foi utilizado para detectar possíveis alterações na metacronásia das paredes celulares das plantas tutoradas e rasteiras, com e sem flor. Um aumento na metacromasia significa aumento na disponibilidade de poliânions do substrato possibilitando um empilhamento das moléculas do corante, deslocando o pico de absorção para comprimentos de ondas menores. Essas alterações têm sido detectadas em diversos materiais durante a germinação, como por exemplo em paredes de células cotiledonares de Canavalia ensiformis e C. gladiata (Cortelazzo, 1989) e em paredes de células rizoidais de gametófitos jovem de Cyathea delgadii (Randi et al. 1989). Entretanto, nas raízes tuberosas dos diversos cortes analisados não foram detectadas alterações visuais de metacromasia enfatizando a semelhança das raízes tuberosas de plantas rasteiras e tutoradas, com e sem flor.

Com a visualização dos cortes em microscópio de polarização, com analisador e polarizador cruzados, chega-se à conclusão de que os grânulos existentes no citoplasma das células e que apareceram não corados com HE, AT e XP são grãos de amido, por se apresentarem birrefringentes e com a característica estrutura em "Cruz de Malta". Essa estrutura deve-se à disposição circular das moléculas de amilose e amilopectina, a partir de um centro de nucleação (VIDAL, 1987).

Poulter (1982) cita que amido foi o carboidrato presente em maior quantidade nas raízes tuberosas (21,7 a 32,1% de peso de matéria

fresca). Realmente, pode-se verificar analisando a figura 30, que esses tecidos apresentam uma grande quantidade de grãos de amido.

A análise do material em microscopia de fluorescência revelou a fluorescência natural das paredes celulares, bem como do conteúdo protéico. No material com 2 meses apenas as paredes celulares exibiram fluorescência, enquanto que aos 8 meses, pode ser observada também, fluorescência ao nível do material protéico. Essa característica é acentuada nos tubérculos de plantas com 12 meses, onde a proteína se distribui ao redor dos grãos de amido. A detecção de fluorescência natural revela a presença de aminoácidos aromáticos no conteúdo protéico principalmente triptofano e tirosina uma vez que fenilalanina possui excitação máxima em comprimento de onda de 260nm (UDENFRIEND, 1962) e os filtros de excitação utilizados apresentavam intervalos de transmissão superiores a esse valor. No caso das paredes celulares a fluorescência observada deve-se possivelmente a material hidrofóbico presente neste local.

Pôde ainda ser notada a presença de pontos fluorescentes no centro dos grãos de amido sugerindo que os centros de nucleação são de natureza protéica, e células exibindo uma intensa fluorescência amarela devido à interação de materiais com fluorescência verde e vermelha.

POULTER (1982) estudando seleções de feijão alado provenientes da Tailândia, verificou que as raízes tuberosas continham um conteúdo excepcionalmente alto de ácido aspártico e deficiência nos aminoácidos que contém enxofre, em comparação com o que foi detectado em sementes secas.

No presente trabalho foi realizada dosagem de óleo e verificadas as proporções de ácidos graxos no óleo de sementes secas. FERNANDO & BEAN (1985) comentam que o teor de óleo encontrado ~~em~~ em sementes secas de diferentes cultivares de feijão alado da Indonésia, mostraram níveis moderados de óleo e HAFEZ et al. (1984) encontraram valores variando entre 17,48 e 20,00%. Outros autores citam níveis semelhantes aos de soja variando de 15,2 a 27,8% (KHOR et al., 1982), 14,3 a 19,1% (HARDING et al., 1978) ou 15,2 a 17,6% (YANAGI et al., 1983).

No caso deste trabalho, o teor encontrado (18,33%) se aproxima bastante daqueles citados em literatura. Os teores de ácidos graxos /óleo, no entanto, variaram tanto em quantidade quanto em qualidade, como ocorre com os trabalhos de outros autores. Entretanto, em termos de ácidos graxos insaturados observou-se uma porcentagem de 63,50%, o que coincide com o teor de 63,69% encontrado por KHOR et al. (1982).

HOMMA et al. (1983), encontrou 10,9% de ácido palmítico, 37,1% de ácido oléico e 19,0% de ácido linoléico, enquanto que neste trabalho foram encontrados 24,05; 24,89 e 38,40%, respectivamente.

No geral, o teor de ácido beênico encontrado neste trabalho (7,38%), foi menor do que aqueles encontrados em literatura. BODGER et al. (1982) detectaram teores na faixa de 12,6 a 14,4%, HOMMA et al. (1983) citou 18,5% e BERRY (1985) de 13 a 16% deste ácido em sementes de diferentes variedades de feijão alado.

5. RESUMO

O objetivo desta trabalho foi estudar o comportamento de plantas de P. tetragonolobus obtidas a partir de sementes provenientes da Indonésia, quando cultivadas nas condições locais (região de Campinas).

As temperaturas mais favoráveis para germinação de sementes, tanto na luz como no escuro, foram 25 e 30°C.

As plantas cultivadas em canteiros no período Primavera-Verão apresentaram um crescimento mais vigoroso (o que foi refletido por um aumento grande de peso da matéria seca da parte aérea e maior área foliar) que plantas que cresceram no período Outono-Inverno. As TCR e TAL de plantas do período Primavera-Verão foram maiores que as de Outono-Inverno entre 90 e 120 dias e diminuíram nos períodos subsequentes, enquanto nas plantas de Outono-Inverno houve um aumento da TCR. Houve floração e formação de raízes tuberosas apenas em plantas cultivadas no período Outono-Inverno.

Observou-se que, em geral, as plantas (crescidas em vasos, tambores ou canteiros) apresentaram maior crescimento vegetativo e maior produção de flores, quando tutoradas. No caso de raízes tuberosas, não se verificou diferença significativa em peso da matéria fresca e seca, número e dimensões, em relação ao método de cultivo.

A remoção de flores durante o desenvolvimento da planta não influenciou o crescimento vegetativo nem a produção de raízes tuberosas. Com a remoção de folhas, mantendo plantas com apenas 1, 2, 3, 4, 5 e 6 folhas, verificou-se que apenas uma folha foi suficiente para

promover formação de raízes tuberosas. Não houve diferença significativa entre plantas com 6 folhas e plantas intactas (que possuíam 46 folhas na época da coleta) com relação ao número de raízes tuberosas formado.

Foram realizados experimentos em canteiros, casas de vegetação e câmaras de crescimento, nos quais se avaliou o crescimento vegetativo, a floração e a formação de raízes tuberosas em plantas de feijão alado em fotoperíodos e temperaturas dia/noite diferentes. Constatou-se que o fotoperíodo afeta o crescimento de plantas em canteiros, sendo que, as plantas cultivadas no período Primavera-Verão tem um crescimento significativamente maior.

As plantas de feijão alado só floresceram e formaram raízes tuberosas em fotoperíodos inferiores a 16 horas e por isso foram consideradas plantas de dias curtos.

Em relação ao efeito da temperatura dia/noite no crescimento de plantas em câmaras, verificou-se que plantas que permaneceram em fotoperíodo de 13 horas, em temperatura dia/noite de 20/15°C, tiveram o crescimento reduzido (número de folhas, ramificações e nós, altura, peso de matéria seca e área foliar). Entre plantas crescidas em 25/20 e 30/25°C só houve diferença significativa em peso de matéria seca e área foliar, que foram maiores em 30/25°C. Apesar das plantas estarem em fotoperíodo indutivo, houve floração apenas em plantas em 25/20°C. A floração teve início aos 48 dias em câmara e aos 52 ou 55 dias 100% das plantas estavam floridas.

Segundo foi observado pelos dados de dosagens bioquímicas em diferentes partes da planta e análise "in situ", as plantas estudadas

possuem conteúdo de proteínas e carboidratos semelhantes aos citados em literatura para outras variedades de feijão alado. Com a visualização de cortes anatômicos de raízes tuberosas em microscópio de polarização, puderam ser observados inúmeros grãos de amido no citoplasma das células. Em microscópio de fluorescência notou-se a presença de material protéico que se acumula à medida que a planta se torna mais velha e que aparece circundando esses grânulos em raízes de plantas com 12 meses de idade. O teor de óleo em sementes secas foi de 18,33%, o que se aproxima de dados encontrados em literatura. As porcentagens de ácidos graxos no óleo, no entanto, variaram tanto em quantidade quanto em qualidade, quando comparadas às encontradas por outros autores.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AXELSON, M.L.; CASSIDY C.M.; COLON, M.M.; HACKLANDER, E.H.; NERUDA, G.S. & RAWLING, K.E. Consumption and use of the winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) by Sri Lankan villagers. Ecol.Food Nutr., 12: 127-38, 1982.
- ARULRAJAH, T. & ORMROD, D.P. Responses of Okra (Hibiscus esculentus L.) to photoperiod and temperature. Annals of Botany, 37:331-40, 1973.
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology, 24: 1-15, 1949.
- A.O.A.C. Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis. Washington, AOAC, 1970. 1015p.
- ALVARENGA, A.A. Estudo de alguns aspectos de desenvolvimento do Feijão Jacatupé Pachyrrhizus tuberosus (Lam.) Spreng. Tese de doutorado, UNICAMP, 1987.
- ALVARENGA, A.A. & VALIO, I.F.M. Influence of temperature and photoperiod on flowering and tuberous root formation of Pachyrrhizus tuberosus. Ann.Bot., 64: 411-4, 1989.

- BANERJEE, A. BAGCHI, D.K. & SI, L.K. Studies on the potential of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) as a multipurpose legume cover crop in tropical regions. Exp. Agric., 20:297-302, 1984.
- BERRIE, A.M.M.; PATERSON, J. & WEST, H.R. Water content and the responsivity of lettuce seeds to light. Physiol. Plant., 31:90-6, 1974.
- BERRY, S.K. Long-chain fatty acids (20-carbon to 24-carbon) in winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) oil. Nutr. Rep. Int., 31:265-72, 1985.
- BIELESKI, L.R. & TURNER, N.A. Glutamato syntetase in developing cotyledons of Pisum sativum. Plant Physiol. 57:862-6, 1966.
- BODGER, D.; DAVIS, J.B.; FARMERY, D.; HAMMONDS, T.W.; HARPER, A.J.; HARRIS R.V.; HEBB, L.; MACFARLANE, N.; SHANKS, P. & SOUTHWELL, K. Extraction, refining and composition of oil from winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). J. Am. Oil. Chem. Soc., 59:523-30, 1982.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. Anal. Biochem., 72:248-51, 1976.

- BREWSTER, I.L. Effects of photoperiod, nitrogen nutrition and temperature on inflorescence initiation and development in Onion (Allium cepa L.). Ann.Bot., 51:429-440, 1983.
- BRIGGS, G.E.; KIDD, F. & WEST, C. A quantitative analysis of plant growth. Pt.1. Ann.Appl.Biol., 7:103, 1920.
- BROWN, C.L. Growth and form. In: ZIMMERMANN, M.H. & -----
Trees structure and function. Ed.2. New York, Springer-Verlag, 1974. cap.III, p.125-67.
- CORTELAZZO, A.L. Caracterização topoquímica e bioquímica de sementes de Canavalia ensiformis DC. e Canavalia gladiata DC. Tese de doutorado, UNICAMP, 1989.
- & VIDAL, B.C. Determination of the apparent isoelectric point of the protein bodies of Glycine max. Citologia, 54:635-9, 1989.
- & ----- Soybean seed proteins: detection "in situ" and mobilization during germination. Submetido- Revta.brasil. Bot., 1990.
- CSIZINSKI, A.A. Methods of increasing seed germination of winged bean, Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC.. Hortscience, 15:252, 1980.

- DE LUMEN, B.O. & REYES, P.S. Chemical composition studies on winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) tubers. J. Food Sci., 47:821-4, 1982.
- DENCH, J.E. Extration of nitrogenous material from winged bean [Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC] flour and the preparation and properties of protein isolates. J. Sci. Food Agric., 33: 173-84, 1982.
- EGLEY, G.H. & DUKE, S.D. Physiology of weed seed germination in soil. In: NEWMAN, D.W. & WILSON, K.G., eds. Models in plant physiology. Florida, Boca Raton, 1987. v. III, cap. 12, p. 57-61.
- EKPERYOUNG, T.E & BORCHERS, R.L. Aminoacid profile of the seed and other parts of the winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). Food Chem. 9: 175-82, 1982.
- EVANS, L.T. The nature of flower induction. In: EVANS, L.T., ed. The induction of flowering: some case histories. New York, Cornell Univ. Press, 1969. p. 475-80.
- FELIPPE, G.M. & GIULIETTI, A.M. Efeito do fotoperíodo, ácido giberélico e cloreto de 2-cloroetil trimetilamônio no crescimento de Porophyllum lanceolatum DC. Hoehnea, 1:41-60, 1971a.

FELIPPE, G.M. & GIULIETTI, A.M. Efeito do fotoperíodo, ácido giberélico (GA₃) e cloreto de 2-cloroetil trimetilamônio (CCC) no desenvolvimento foliar de Porophyllum lanceolatum DC. Hoehnea, 1:61-79, 1971b.

FELIPPE, G.M.; LUCAS, M.N.C. & GIULIETTI, A.M. Estudos de floração em Porophyllum lanceolatum DC. I- Efeito do fotoperíodo na floração. Hoehnea, 1:21-27, 1971a.

FELIPPE, G.M.; GIULIETTI, A.M. & LUCAS, N.M.C. Estudos de floração em Porophyllum lanceolatum DC. II- Efeito de GA₃ e CCC na floração. Hoehnea, 1:29-40, 1971b.

FERNANDO, T. & BEAN, G. Variation of the anti-nutritional behenic acid content among the cultivars of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). Food Chem., 18: 265-70, 1985.

GARNER, W.W. & ALLARD, H.A. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. J.Agric.Res., 18:553-606, 1920.

GARNER, W.W. & ALLARD, H.A. Further studies in photoperiodism, the response of the plant to relative length of day and night. J.Agric.Res., 23:553-605, 1923.

GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. São Paulo, Nobel, 1982. 430p.

- GOYNE, P.J. & HAMMER, G.L. Phenology of sunflower cultivars. II* Controlled-Environment studies of temperature and photoperiod effects. Aust.J.Agric.Res., 33: 251-61, 1982.
- GREGORY, L.E. Physiology of tuberization in plants (tubers and tuberous roots). In: RUHLAND, W. ed. Encyclopedia of Plant Physiology, Berlin, Springer-Verlag, 1965. p.1328-54
- GRUEN, L.C.; TAO, Z.J. & KORTT, A.A. Stability and physicochemical properties of a trypsin inhibitor from winged bean seed (Psophocarpus tetragonolobus (L) DC), 791:285-93, 1984.
- HAFEZ, Y.S.; MOHAMED, A.I. & HERATH, W. Nutrient composition of different strains of winged bean seeds and tubers. Nutr.Rep.Int. 29: 253-62, 1984.
- HARDING, J.; MARTIN, F.W. & KLEIMAN, R. Seed protein and oil yields of the winged bean, Psophocarpus tetragonolobus, in Puerto Rico. Trop.Agric., 55: 307-14, 1978.
- HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Lab.Prac., 1:475-6, 1973.
- HEIDE, D.M. Photoperiod and temperature interactions in growth and flowering of strawberry. Physiol.Plant., 409:21-6, 1977.

- HERATH, H.M.W. & ORMROD, D.P. Effects of temperature and photoperiod on winged beans [Psophocarpus tetragonolobus (L.) D.C.]. Ann.Bot. 43: 729-36, 1979.
- HERNANDEZ, D.; LUIS, F.; MUNOZ, C.A. & CASTELLAR, P.N. Evaluation of the agronomic potential of the winged bean Psophocarpus tetragonolobus (L.) D.C. in the conditions of Valle del Cauca [Colombia]. Acta Agron., 37:50-9, 1987.
- HIGUCHI, M.; TERAO, J. & IWAI, K. Gas chromatography-mass spectrometric determination of fatty acids in seed oil of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). J.Nutr.Sci.Vitaminol, 28:511-8, 1982.
- ; SUGA, M. & IWAI, K. Participation of lectin in biological effects of raw winged bean seeds on rats. Agric. Biol.Chem., 47: 1879-86, 1983.
- ; TSUCHIYA, I. & IWAI, K. Growth inhibition and small intestinal lesions in rats after feeding with isolated winged bean lectin. Agric.Biol.Chem., 48: 695-701, 1984.
- HILDEBRAND, D.F.; CHAVEN, C. HYMOWITZ, T. & BRYAN, H.H. Variation in storage root protein content in winged beans, Psophocarpus tetragonolobus. Trop.Agric., 59:59-61, 1982.

HOMMA, S.; OMACHI, M.; TAMURA, A.; ISHAK, E. & FUJIMAKI, M. Lipid composition of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). J. Nutr. Sci. Vitaminol., 29: 375-80, 1983.

HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. Univ. Calif. Agric. Exp. Stn. Cir., 347, 1938.

JOLIVET, E. Physiologie de la tubérisation. Ann. Physiol. vég., 11:265-301, 1969.

KARSEEN, C.M. Two sites of hormonal action during germination of Chenopodium album seeds. Physiol. Plant. 36:264-70, 1976a.

----- Uptake and effect of abscisic acid during induction and progress of radicle growth in seeds of Chenopodium album. Physiol. Plant. 36:259-63, 1976b.

KHAN, T.N. Papua New Guinea: a centre of genetic diversity in winged bean (Psophocarpus tetragonolobus [L.] DC.). Euphytica: 25:693, 1976.

----- Proceedings of International Winged Bean Workshop, Los Banos, Laguna, Philippines, 1978.

KHOR, H.T.; TAN, N.H. & WONG, K.C. The protein, trypsin inhibitor and lipid of the winged bean [Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC] seeds. J. Sci. Food Agric., 33:996-1000, 1982.

KIERNAN, J.A. Histological & histochemical methods: theory & practice. London, Pergamon, 1981. 344p.

KLIB-NGERN, P. & BAUTISTA, O.K. Flower initiation and development of winged bean [Psophocarpus tetragonolobus] under diferent photoperiods and photoinductive cycles. Philipp. Agric. 65: 17-26, 1982.

KORTT, A.A. Isolation and characterization of the trypsin inhibitors from winged bean seed (Psophocarpus tetragonolobus (L) Dc.). Biochim. Biophys. Acta, 557: 371-82, 1979.

----- Isolation and properties of a chymotrypsin inhibitor from winged bean seed (Psophocarpus tetragonolobus (L) Dc.). Biochim. Biophys. Acta, 624: 237-48, 1980.

----- Specificity and stability of the chymotrypsin inhibitor from winged bean seed (Psophocarpus tetragonolobus (L) Dc.). Biochim. Biophys. Acta, 657: 212-21, 1981.

----- Comparative studies on the storage proteins and anti-nutritional factors from seeds of Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC from five South-East Asian countries. Qual. Plant Plant Foods Hum. Nutr. 33: 29-40, 1983.

----- Purification and properties of the basic lectins from winged bean seed [Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC]. Eur. J. Biochem., 138:519-25, 1984.

----- Characterization of the acidic lectins from winged bean seed (Psophocarpus tetragonolobus(L.)DC.). Arch. Biochem. Biophys. 236:544-54, 1985.

KORTT, A.A. & CALDWELL, J.B. Characteristics of the proteins of the tubers of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC). J. Sci. Food Agric., 35:304-13, 1984.

LAM SÁNCHEZ, A.; FAGGIONI, J.L.M. & KRONKA, S.N. Efeito da época de plantio sobre várias características de duas cultivares de feijão alado (Psophocarpus tetragonolobus (L) DC) na região de Jaboticabal-São Paulo. Científica, 9:137-44, 1981.

LAM SÁNCHEZ, A. & TONDATO, A.J. Seed dormancy breaking in winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). Científica, 11:197-204, 1985.

LAM SÁNCHEZ, A.; DURIGAN, J.F. & TONDATO, A.J. Hidratação de sementes de feijão alado (Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC.). Científica, 15:9-16, 1987.

LEHNINGER, A.L. Princípios de bioquímica. São Paulo, Sarvier, 1985. 725p.

- LISON, L. Histochimie et cytochimie animales. 2ed. Paris, Gauthier-Villars, 1953. 607p.
- LOWEE, S.B.; MAHON, J.D. & HUNT, L.A. The effect of daylength on shoot and formation of tubers in young plants of cassava (Manihot esculenta Grantz). Plant Sci. Letters, 6:57-62, 1976.
- MACHADO, E.C.; PEREIRA, A.R.; FAHL, J.I.; ARRUDA, H.V. & CIONE, J. índices biométricos de duas variedades de cana-de-açúcar. Pesq. agrop. bras., 17:1323-9, 1982.
- MAGALHÃES, A.C.N. Análise quantitativa do crescimento. In: FERRI, M.G., (cord.) Fisiologia Vegetal. São Paulo, E.P.U. e EDUSP, 1979. v.1, p. 331-50.
- MAIA, V. Técnica histológica. São Paulo, Atheneu, 1979. 2ed. 246p.
- MARTIN, F.W. Winged bean Psophocarpus tetragonolobus fact sheet. Mayaguez, Puerto Rico, Mayaguez. Institute of Tropical Agriculture, 1977. 1p.
- MARTIN, F.W. & DELPIN, H. Vegetables for the hot, humid tropics. Part 1. The winged bean, Psophocarpus tetragonolobus. Louisiana, New Orleans. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1978. p. 1-22.

- MASEFIELD, G.B. Psophocarpus tetragonolobus, a crop with a future? Fied Crop Abstr., 26:157-60, 1973.
- MC CLURE, P.R.; ISRAEL, D.W. & VOLK, R.J. Evaluation of the relative ureide content of xylem sap as an indicator of N₂ fixation in soybeans. Plant Physiol., 66:720-5. 1980
- METIVIER, J. & VIANA, A.M. The effect of long and short day length upon the growth of whole plants and the level of soluble proteins, sugars, and stevioside in leaves of Stevia rebaudiana Bert. J.Exp.Bot., 30:1211-1222, 1979.
- MURTY, G.S.R. & BANERJEE, V.N. Effects of light breaks on tuber initiation and growth of the potato. JIPA, 4:7-10, 1977.
- NABEESA, E.; UMADEVI, T.; UNNIKRISHNAN, S. & HARICUMAR, K. Pattern of water imbibition by winged bean (Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC). Seed Sci. Technol., 16:705-14, 1988.
- NANGJU, D. & BAUDOIN, J.P. Performance of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus[L.] DC.) in Nigeria. J.Hortic.Sci., 54:129, 1979.
- N.A.S. The winged bean. A high-protein crop for the tropics. Washington, D.C., National Academic Press, 1975. 44p.

- NODA, H.; PAIVA, W.O. & BUENO, C.R. Hortaliças da Amazônia. Ciência Hoje, 3:32-7, 1984.
- PEARSE, E.A.G. Histochemistry: theoretical and applied. London, J & A Churchill, Ltd., 1961. 998p.
- PEREIRA, A.R. & MACHADO, E.C. Análise quantitativa do crescimento de comunidades vegetais. B.Téc. Inst. Agron., Campinas, 114:1-33, 1987.
- POLICARD, A.; BESSIS, A. & LOCQUIM, M. Traité de microscopie- Instruments et techniques. Paris, Masson et Cie., 1957. 608p.
- POULTER, N.H. Some characteristics of the roots of the winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). J. Sci. Food Agric., 33:107-14, 1982.
- PRAKASH, D.; MISRA, P.N. & MISRA, P.S. Aminoacid profile of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC.): A rich source of vegetable protein. Qual. Plant Plant Foods Hum Nutr., 37:261-4, 1987
- RACHIE, K.O. & ROBERTS, L.M. Legumes of the lowland tropics. Advances in Agron., 26:88-9, 1984.

- RAMACHANDRA, G. & MONTEIRO, P.V. Studies on winged bean (Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC.) seed proteins. Mysore J. Agric. Sci., 20:179-85, 1986.
- RANDI, A.M.; VIDAL, B.C. & CORTELAZZO, A.L. Cytochemical aspects of germinating spores and rhizoids of Cyathea delgadii. Submetido-Plant cell Physiol., 1989.
- RESNICK, R. & HALLIDAY, D. Física. Parte I. Rio de Janeiro, Ao livro técnico e EDUSP, 1965. 704p.
- ROLSTON, M.P. Water impermeable seed dormancy. Bot. Rev., 44:365-96, 1978.
- RUEEGG, J. Effects of temperature and water stress on the growth and yield of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). J. Hortic. Sci., 56:331-8, 1981.
- RUSSEL, W.K. & STUBER, C.W. Effects of photoperiod and temperatures on the duration of vegetative growth in maize. Crop Sci., 23:847-50, 1983.
- SALISBURY, F.B. Responses to photoperiod. In: LANGE, O.L.; WOBEL, P.S.; OSMOND, C.B. & ZIEGLER, eds. Physiological Plant Ecology I. Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Berlin, Springer-Verlag, 1981. v.12-A, cap.5, p.135-67.

- SALISBURY, F.B. & ROSS, C.W. Plant Physiology. Ed.2. Belmont, Wadsworth Publishing Company, 1978. 422p.
- SCHOONHOVEN, A.V.; PEREZ, H.A.M. & PENÄ, R.J.E. Influencia de la defollacion artificial en la production de raices de yuca y su correlacion com el dano causado por Erimayis ello (L.). Mem. do 2º Cong. de la Soc.Entomol.Colombiana, p.145-63, 1974.
- SCHWABE, W.W. Effects of natural and artificial light in Artic latitudes on long and short-day plants as revealed by growth analysis. Ann.Bot. 20:587-622, 1956.
- SMARTT, J. Some observations on the origin and evolution of the winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). Euphytica, 29:121-3, 1980.
- SNEDECOR, G.M. & COCHRAN, W.G. Statistical Methods. 6.ed. Iowa State Univ. Press, 1967. 593p.
- SOLANKI, S.S. & JOSHI,R.P. Methods of increasing seed germination of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). Prog.Hortic., 15:210-2, 1983.
- SUMMERFIELD, R.J. & ROBERTS, E.H. Psophocarpus tetragonolobus. In: HALEVY, A.H., ed. Handbook of Flowering. Boca Raton, CRC Press, 1985. v.1, p. 149-52.

- SUTCLIFFE, J. Plants and temperature. London, Edward Arnold, 1977. 57p.
- TADERA, K.; TANIGUCHI, T.; TERAMOTO, M.; ARIMA, M.; YAGI, F.; KOBAYASHI, A.; NAGAHAMA, T & ISHIHATA, K. Protein and starch in tubers of winged bean, Psophocarpus tetragonolobus, and yam bean, Pachyrrhizus erosus. Mem.Fac.Agric.Kagoshima Univ. 20:73-82, 1984.
- TAN, N.H. & WONG, K.C. Thermal stability of trypsin inhibitor activity in winged bean (Psophocarpus tetragonolobus). J. Agric.Food Chem., 30:1140-3, 1982.
- THOMAS, J.F. & RAPER, C.D., Jr. Photoperiod regulation of floral initiation for soybean plants at different ages. Crop Science, 24:611-5, 1984.
- TRIJBELS, F. & VOGELS, G.D. Degradation of allantoin by Pseudomonas acidovorans. Biochem.Biophys. Acta, 113:292-301, 1966.
- VIDAL, B.C. Dichroism in bundles stained with xylydine ponceau 2R. Ann.Histochim., 15:289-96, 1970.
- Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. Cell.Mol.Biol., 22:45-64, 1977.

- Métodos em biologia celular. In: ----- & MELLO, M.L. S. ed. Biologia Celular. Rio de Janeiro, Atheneu, 1987. cap.2, p.5-39.
- & PIMENTEL, E.R. Caracterização bioquímica, topoquímica e estrutural dos corpos protéicos do feijão macuco ou jacatupé (Pachyrrhizus tuberosus (Lam.) Spreng). Revta. brasil. Bot., 8:223-30, 1985.
- VINCE-PRUE, D. Photoperiodism in plants, London, McGraw-Hill, 1975. 444p.
- WAREING, P.F. & LONGMAN, K.A. Effect of gravity on flowering and shoot growth in Japanese larch (Larix leptolepis, Murray). Nature, 182:380-1, 1958.
- & NASR, T.A. Effects of gravity on growth, apical dominance, and flowering in fruit trees. Nature, 182:379-80, 1958.
- & ----- Gravimorphism in trees. 1. Effects of gravity on growth and apical dominance in fruit trees. Ann. Bot., 25:321-39, 1961.
- WEST, C.; BRIGGS, G.E. & KIDD, F. Methods and significant relations in the quantitative analysis of plant growth. New Phytol., 19:200-7, 1920.

- WILKINS, M.B. Advanced Plant Physiology. Ed.2. London, Pitman, 1988.
- WONG, K.C. & SCHWABE, W.W. Effects of daylength and day/night temperature on the growth, flowering and tuber formation of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC.). In: Proc. of the conference on legumes in the tropics, Univ. Pertanian, Malaysia, Serlang, 1979. p.73-85.
- YANAGY, S.O. Properties of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) protein in comparison with soybean (Glycine max) and common bean (Phaseolus vulgaris) protein. Agric. Biol. Chem., 47:2273-80, 1983.
- YANAGY, S.O.; YOSHIDA, N. & SAIO, K. Generality and diversity of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) protein in eight various lines. Agric. Biol. Chem., 47:2267-71, 1983.
- YEMM, E.M. & COCKING, E.C. Estimation of aminoacids by ninhydrin. Analyst 80:209-13, 1955.
- ZAIDAN, L.B.P.; DIETRICH, S.M.C. & FELIPPE, G.M. Effect of photoperiod on flowering and stevioside content in plants of Stevia rebaudiana Bertoni. Jpn. J. Crop. Sci., 49:569-74, 1980.

7. APÊNDICE

Tabela 1- Duração máxima de insolação diária durante o ano na região de Campinas (SP)- latitude 22°54' S.

Meses do ano											
Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
13,4	12,8	12,2	11,6	11,1	10,8	10,9	11,3	12,0	12,6	13,2	13,5

Tabela 2 - Valores médios de temperatura mensal em Campinas (SP)- latitude 22°54' S - do ano de 1983 a 1986 (dados fornecidos pela Seção de Climatologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas).

Ano	Temperatura média (°C)											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
1983	22,9	23,4	21,7	21,2	19,9	17,5	18,6	18,6	18,2	20,7	22,4	22,4
1984	24,3	25,5	23,4	21,0	20,5	18,7	19,0	17,9	19,1	22,7	22,8	22,3
1985	22,4	23,8	23,1	21,8	18,4	16,0	16,4	19,7	20,2	22,6	23,2	23,5
1986	23,9	23,2	22,9	22,1	19,9	17,8	17,0	18,9	19,9	21,5	23,2	22,1

Tabela 3 - Valores médios de temperatura mínima mensal em Campinas (SP)- latitude 22°54'S - do ano de 1983 a 1986 (dados fornecidos pela Seção de Climatologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas).

Temperatura média (°C)												
Ano	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
1983	19,5	19,3	18,0	17,5	16,3	13,7	13,3	12,7	14,5	16,5	17,3	18,8
1984	19,3	20,0	18,7	16,9	15,8	13,0	13,8	13,3	13,7	17,3	18,1	18,1
1985	18,7	19,6	19,0	17,5	13,6	10,4	10,8	13,6	15,3	16,4	18,0	18,4
1986	19,4	19,7	19,1	17,8	15,8	12,3	12,3	14,6	14,9	16,1	18,3	19,0

Tabela 4 - Valores médios de temperatura máxima mensal em Campinas (SP)- latitude 22°54' S - do ano de 1983 a 1986 (dados fornecidos pela Seção de Climatologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas).

Temperatura média (°C)												
Ano	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
1983	27,8	29,4	27,7	27,0	25,2	22,8	25,4	26,3	23,3	26,5	28,5	27,8
1984	30,8	32,6	29,9	26,9	27,2	26,2	26,5	24,8	25,8	29,7	29,2	27,8
1985	28,1	30,0	28,9	27,8	25,4	23,2	23,9	27,5	26,8	30,6	30,1	30,1
1986	30,3	29,1	29,1	28,4	26,0	24,9	23,7	25,1	26,7	28,6	29,6	27,7