

CECÍLIA BALBÃO FILIPPI LEAL

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato a) Cecília Balbão Filippi Leal e aprovada pela Comissão Julgadora

08/06/95 Prof. Fátima D. Pereira

“Floração em *Euphorbia heterophylla* L.”

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas na área de Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Fátima D. A. Pereira

Campinas - SP

1995

Aos meus pais Eduardo e Ana Maria,

ao meu marido Vitor,

ao meu filho Vitor Henrique

e aos meus irmãos Marcos, Cristina e Silvia.

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

L473f Leal, Cecilia Balbao Filippi
Floracao em *Euphorbia heterophylla* L. / Cecilia Balbao Filippi
Leal. - - Campinas, SP [s.n.], 1995.

Orientador: Maria de Fatima Domingos Aleixo Pereira.
Dissertacao (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Instituto de Biologia.

1. Euforbia. 2. Fotoperiodismo. 3. Auxina. I. Pereira,
Maria de Fatima Domingos Aleixo. II. Universidade Estadual
de Campinas. Instituto de Biologia. III. Titulo.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Maria de Fátima Domingos Aleixo Pereira, pela orientação e interesse durante todas as etapas deste trabalho.

Aos professores Dr. Ivany Ferraz Marques Válio, Dr. Ladaslav Sodek, e Dra. Marlene Aparecida Schiavinato pelas sugestões feitas por ocasião da pré-banca.

À Sra. Rita Helena Buso Jacon, do Departamento de Engenharia Mecânica da UNICAMP, pelo apoio técnico no uso do Microscópio Eletrônico de Varredura.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia Vegetal da UNICAMP que me auxiliaram na realização deste trabalho.

À amiga Julieta, pela ajuda sempre que necessário.

Aos meus pais e ao meu marido, cujo apoio e incentivo permitiram a realização deste trabalho.

ÍNDICE GERAL

	Página
I- INTRODUÇÃO.....	1
II- MATERIAL E MÉTODOS.....	15
II-1. Material vegetal.....	15
II-2. Condições de crescimento.....	15
II-3. Fotoperíodo.....	16
II-4. Determinação do número suficiente de DC para antecipar a floração	16
II-5. Aplicação de AIA.....	17
II-6. Análise do ápice.....	18
III- RESULTADOS.....	19
III-1. Caracterização do ápice do estágio vegetativo ao floral...	19
III-2. Controle fotoperiódico da floração.....	25
III-3. Efeito da aplicação de AIA.....	33

IV- DISCUSSÃO.....	45
V- RESUMO.....	58
VI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

I- INTRODUÇÃO

Euphorbia heterophylla L., da família Euphorbiaceae, é conhecida popularmente como amendoim-bravo, leiteira, flor-de-poetas ou café-do-diabo (Lorenzi,1990). Esta espécie ocorre preferencialmente em terrenos argilosos e úmidos de países de clima tropical e subtropical, sendo considerada em 6 países destas regiões como a principal planta invasora dos campos agrícolas e em 22 países como uma planta invasora de grande importância (Wilson, 1981). Entretanto, na Nigéria é considerada uma planta medicinal com ação purgativa comprovada por testes farmacológicos (Akubue *et al.*, 1983).

As plantas de *Euphorbia heterophylla* apresentam um rápido crescimento e formam uma densa cobertura vegetal, ocasionando sérias perdas em rendimento e qualidade quando em competição com espécies cultivadas (Wilson, 1981). Contudo, diferentes programas de controle não têm sido efetivos, sendo considerada uma planta invasora de difícil combate (Costa, 1982). Um dos fatores que dificultam o seu controle é que, durante a estação de crescimento, há sementes germinando continuamente (Nester *et al.*, 1979 *apud* Costa, 1982). Segundo Wilson (1981), esta espécie é resistente à maioria dos herbicidas utilizados na pré e pós emergência.

Euphorbia heterophylla é uma planta herbácea, anual e lactescente. Possui um sistema radicular bem desenvolvido. Seu caule é oco e ereto. Suas folhas são simples, com forma bastante variável, de 4-10 cm de comprimento. Apresenta inflorescência terminal congesta, de flores amarelas. O fruto é uma cápsula trilocular, com uma semente por lóculo. Quando madura, a cápsula se rompe de maneira explosiva, lançando as sementes para longe da planta-mãe (Costa, 1982; Aranha *et al.*, 1988). Cada planta produz uma grande quantidade de sementes, as quais apresentam variações na coloração da testa (Suda, 1991). Esta espécie reproduz-se exclusivamente por sementes e seu ciclo, no campo, é de aproximadamente 100 dias (Bacchi *et al.*, 1984).

O estudo da floração é de grande importância, uma vez que contribui para a perpetuação das espécies. Apesar do grande número de trabalhos já realizados neste tema, muitas dúvidas ainda existem, principalmente de como acontece a indução floral (Cleland, 1978).

No começo da década de 20, Garner e Allard demonstraram claramente que a floração e muitas outras respostas em plantas poderiam ser controladas ou aceleradas pelo comprimento do dia, dependendo da espécie. Eles introduziram o termo "fotoperíodo" para designar o comprimento do dia e "fotoperiodismo" para

designar a resposta dos organismos ao comprimento relativo do dia e da noite (Vince-Prue, 1975).

A floração é frequentemente estudada nas plantas fotoperiódicas, uma vez que, nestes casos, o processo está sob o controle absoluto do ambiente (Bernier, 1971).

Euphorbia heterophylla é classificada como uma planta de dias curtos (PDC), pois quando foi submetida ao tratamento de noites interrompidas, ela se comportou como se estivesse em dias longos ou seja, houve um atraso no aparecimento do botão floral em relação ao controle de dias curtos. Esta espécie apresenta uma resposta quantitativa ao fotoperíodo, já que a floração é acelerada em dias curtos, podendo, no entanto, florescer em qualquer comprimento do dia (Wachowicz, 1991).

Plantas fotoperiodicamente sensíveis podem ser induzidas à floração após um número suficiente de ciclos indutivos. Assim sendo, a floração ocorre mesmo que as plantas retornem para ciclos fotoperiódicos desfavoráveis. O número de ciclos indutivos necessários para desencadear o processo da floração, varia de um a muitos. Espécies induzidas por um único ciclo favorável são as mais estudadas, devido à facilidade experimental e à rapidez de resposta. Como exemplo temos

Xanthium strumarium, *Pharbitis nil*, *Chenopodium polyspermum*, *C. rubrum*, *Sinapis alba*, *Lemma paucicostata* e *L. perpusilla* 6746 (Bernier *et al.*, 1981).

Em *Perilla crispa*, 9 dias curtos são necessários para obter 100% de floração, embora 7 ciclos já promovam a floração de algumas plantas (Zeevaart, 1969).

Plantas de *Desmodium barbatum* provenientes de sementes e submetidas a 10 ciclos indutivos apresentam 100% de plantas floridas após 33 dias. No entanto, o número total de inflorescências é substancialmente maior quando as plantas recebem 20 ciclos indutivos (Siqueira, 1989).

Um dos fatores ambientais que mais interagem com o fotoperíodo na indução floral é a temperatura. São muitos os exemplos em que a resposta fotoperiódica muda com a temperatura. Plantas de *Helipterum roseum* mantidas em fotoperíodo de 12 hs florescem em temperatura constante de 20 °C, porém se esta aumentar para 25 °C, a iniciação floral é inibida, ocorrendo a permanência do meristema vegetativo (Sharman *et al.*, 1990). Suddhiyam *et al.* (1992) demonstraram que houve significantes interações de temperatura e fotoperíodo na taxa de floração de *Sesamum indicum* L. (PDC). No entanto, em *Euphorbia heterophylla*, a resposta ao comprimento do dia é independente da temperatura (Wachowicz, 1991).

As flores se originam de um domo formado por um grupo de células em divisão localizado no ápice da parte aérea da planta. Muitos estudos têm sido feitos para descobrir como estes grupos de células indiferenciadas se desenvolvem em órgãos florais (Coen & Carpenter, 1992).

Nas plantas fotoperiódicas, a percepção do fotoperíodo ocorre principalmente nas folhas. Quando expostas a um número suficiente de ciclos indutivos, elas enviam um sinal, o qual desencadeia o processo do desenvolvimento floral a partir do meristema apical do caule (McDaniel *et al.*, 1992). Segundo Lang (1984), este sinal é uma substância translocável na planta (ainda de natureza desconhecida). Plantas não fotoperiódicas já possuem tal substância independente do tratamento fotoperiódico, e ela pode ser transmitida, através de enxertia, entre plantas da mesma espécie, do mesmo gênero, da mesma família ou entre plantas taxonomicamente distantes e ainda entre plantas de diferente comportamento fotoperiódico, sendo que a única limitação é o enxerto ser bem sucedido.

Na passagem de uma planta do estágio vegetativo para o floral, há uma fase denominada evocação, na qual ocorrem eventos que levam o ápice a um estágio floral, isto é, a planta passa para a iniciação floral não havendo a possibilidade de retroceder o processo (Metzger, 1987).

Portanto, a chegada do estímulo floral no ápice resulta em alterações morfológicas para a produção de órgãos florais. O ápice passa de uma forma de crescimento repetitivo indeterminado de iniciação de folhas (característico do estágio vegetativo), para um modo sequencial de crescimento e iniciação de flores (Lyndon & Battey, 1985). Uma das mais evidentes alterações que caracterizam o início de um primórdio floral é o tamanho e a forma do domo apical. Em geral, meristemas vegetativos apresentam-se na forma de domos baixos, achatados ou levemente convexos. Um meristema por ocasião da iniciação do primórdio floral apresenta um marcante arredondamento de sua forma (Vince-Prue, 1975). No entanto, este padrão difere de espécie para espécie. Em girassol (*Helianthus annuus*) o domo apical na fase vegetativa apresenta-se completamente plano. Com o início da transição floral, o domo apresenta um leve arredondamento e posteriormente, ainda na fase de transição floral, ele volta a assumir uma forma achatada (Almeida, 1992). Já em *Stevia rebaudiana*, o meristema na fase reprodutiva é um domo com marcante arredondamento, em contraste com o meristema vegetativo que é um domo levemente arredondado (Monteiro & Gifford Jr., 1988).

A reorganização do crescimento apical resultante da indução fotoperiódica, sugere o envolvimento de fatores hormonais (Seidlová, 1985). Assim sendo, a

participação de substâncias reguladoras de crescimento no processo de desenvolvimento reprodutivo de gemas tem sido extensivamente estudada.

As giberelinas estão envolvidas na transição floral em várias espécies. Encontram-se na literatura exemplos tanto de promoção como de inibição da floração pela ação deste grupo de substâncias, sendo que o efeito mais geral é a promoção da floração em plantas de dias longos mantidas em condições não indutoras. No entanto, em *Euphorbia heterophylla* a época da floração não é afetada pelo tratamento com ácido giberélico (GA₃) (Wachowicz, 1991).

As auxinas podem modular vários fenômenos fisiológicos que ocorrem durante o desenvolvimento floral (Bouillé *et al.*, 1989). Foi verificado que aplicações destas substâncias promoveram ou inibiram a iniciação floral em diversas plantas (Bernier *et al.*, 1981), sendo que a literatura indica um maior número de espécies onde a inibição foi mais frequente. No entanto, o nível dos conhecimentos dos efeitos das auxinas na indução floral ainda é sumário (Jacobs, 1985).

A primeira informação de que as auxinas poderiam funcionar como um inibidor da floração foi sugerida por Dostál & Hosek em 1937 (*apud* Jacobs, 1985). Desde então, os efeitos do ácido indol-3-acético (AIA) na floração têm sido investigados.

O desenvolvimento reprodutivo pode estar estritamente relacionado com a modificação de vários níveis de hormônios endógenos nas gemas florais (Bouillé *et al.*, 1989). Embora não existam muitos dados sobre as mudanças nos níveis de auxinas endógenas em relação à floração, há evidências de que níveis baixos deste hormônio vegetal podem estar correlacionados com este processo em um grande número de plantas.

De acordo com Hulewicz (1963) uma redução no nível de auxina ocorre durante a indução fotoperiódica em cânhamo. Um decréscimo no conteúdo de auxina também foi encontrado durante a indução em tabaco cv. Maryland Mammoth por Nitsch e Nitsch (1965) e *Plumbago indica* por Gifford Jr. & Nitsch (1970).

Teltscherová *et al.* (1976) investigaram se mudanças nos níveis de auxinas endógenas seriam encontradas nas gemas apicais de plantas de *Chenopodium rubrum* durante a transição para o estágio floral, e concluíram que gemas apicais de plantas potencialmente produtivas contêm menos auxinas que gemas apicais de plantas que permaneceram no estágio vegetativo.

Em *Begonia cheimantha*, um rápido e significativo decréscimo (dentro de 2 a 4 dias) ocorreu no conteúdo de AIA quando as plantas foram transferidas de condições não indutivas (24°C/DL) para condições indutivas (24°C/DC) (Odén &

Heide,1989). Em *Brassica napus*, os níveis endógenos desta substância de crescimento também decresceram quando as plantas foram induzidas a florescer (Bouillé *et al.*, 1989).

Segundo Chailakhyan & Lozhnikova (1966), algumas plantas de DC, quando mantidas em DL, apresentam um nível endógeno de auxina relativamente alto.

Entretanto, quando o meristema torna-se reprodutivo, nem sempre ocorre uma redução no conteúdo de auxina. Por exemplo, em macieira (Buban & Faust, 1982) e em cinco espécies de *Amaranthus* (Tisserat & Galleta, 1988), houve promoção da floração após a aplicação desta substância. Já em *Hyoscyamus niger* (PDL), o nível de AIA não diferiu sob DL ou DC mesmo depois da indução (Gilson, 1957).

Portanto, quando o meristema torna-se reprodutivo, pode ser que ocorra um decréscimo nos níveis endógenos de auxina (Nitsch, 1966). Gifford Jr. & Nitsch (1970) sugerem, nestes casos, uma relação entre a redução no conteúdo de auxina durante a indução e a liberação das gemas axilares da dominância apical.

Os níveis de auxina são considerados importantes no controle da dominância apical (Phillips, 1969). AIA aplicado na concentração de 0.1mM no ápice de plantas de *Chenopodium rubrum* inibiu a floração e estudos da anatomia do ápice revelaram

que a aplicação de AIA inibiu a floração pelo aumento da dominância apical (Seidlová & Khatoon, 1976).

A aplicação de giberelinas em ramos intactos geralmente resulta na promoção do crescimento do caule e na inibição de gemas laterais (Bradley & Crane, 1960). Essa inibição correlativa talvez esteja em parte ligada a um possível aumento dos níveis de auxinas. Braggio (1984) observou em *Anagallis arvensis*, que os tratamentos com giberelinas geralmente aumentaram a dominância apical.

Há muito tempo se sabe que a gema apical do eixo principal controla o crescimento e desenvolvimento das gemas e ramos laterais em plantas superiores (Phillips, 1969). A auxina, produzida na gema apical, impede a atividade dos meristemas axilares, os quais podem ser liberados da dominância apical pelos tratamentos que induzem a floração, notavelmente por indução fotoperiódica (Seidlová & Khatoon, 1976).

A decapitação do ápice do ramo induz a floração de gemas axilares em numerosas plantas, como foi demonstrado em *Mangifera indica* (Reece *et al.*, 1946); *Vanilla* (Childers *et al.*, 1959); *Impatiens balsamina* (Nanda *et al.*, 1969) e *Aranda Deborah* (Goh & Seetoh, 1973). Estes últimos autores mostraram que um contínuo fornecimento de AIA inibe a floração de plantas decapitadas.

A ação das auxinas pode ser grandemente dependente de alguns fatores como quantidade aplicada e época na qual é feita a aplicação, podendo então ter influência positiva ou inibitória na floração (Bernier *et al.*, 1981).

Em algumas espécies a ação das auxinas é dependente da concentração usada, sendo promotora em baixas concentrações ou inibidora em altas doses, como é o caso de soja e de *Hyoscyamus* (Bernier *et al.*, 1981).

Entretanto, em muitos casos de inibição relatados foi constatado que a quantidade de AIA aplicada causou a produção de etileno, o qual seria o responsável pelo efeito inibidor (Jacobs, 1985), apesar do etileno poder induzir a floração (por exemplo, em Bromeliaceae). Nestes casos, a aplicação de AVG (aminoetoxivinilglicina), um inibidor da biossíntese de etileno (Yang & Hoffman, 1984), pode reverter a ação inibidora da auxina (Krekule *et al.*, 1985).

As concentrações de AIA aplicadas nos estudos de inibição da floração (0,1 a 1.0mM) são certamente preocupantes, já que tendem a ser demasiadamente altas para se ter certeza de que os efeitos inibidores são de fato fisiológicos (Jacobs, 1985).

Para atenuar este problema sobre as concentrações de AIA ou outras auxinas aplicadas nas plantas, seria necessário saber a concentração na qual as auxinas exógenas substituem exatamente as auxinas endógenas (Jacobs, 1985). No

momento, estas evidências parecem ser inexistentes. Os dados que mais aproximadamente tentam solucionar este problema vêm de vários trabalhos com clone de *Coleus blumei*, uma planta indiferente ao fotoperíodo. Pesquisas com este clone revelaram que 1% de AIA em lanolina fornece auxina aos ramos de *Coleus* numa concentração que se iguala à fornecida por fontes endógenas (Jacobs, 1979).

Os estudos a respeito do efeito deste hormônio vegetal na floração revelaram também que pode haver uma interação entre o momento da aplicação de AIA e o efeito obtido.

Uma visível dependência dos efeitos da auxina com relação à época em que esta é aplicada foi encontrada em *Chenopodium rubrum*. AIA ($3 \cdot 10^{-3}$ M) inibe a indução fotoperiódica da floração nesta planta quando aplicado durante o período indutivo no ápice do ramo. No entanto, a mesma concentração de AIA exerce um efeito estimulatório se aplicada após a indução (Khatoon *et al.*, 1973). Nesta espécie, durante a indução ocorre quebra da dominância apical. Assim sendo, além de inibir a indução fotoperiódica, a aplicação de auxina impede a quebra da dominância apical, inibindo com isso o início da diferenciação floral. Portanto, o efeito inibidor da auxina, nesta espécie, ocorre dentro do período definido como evocação (Seidlová & Khatoon, 1976).

Em plantas de *Chenopodium rubrum*, a mais proeminente mudança no ápice do ramo que ocorre depois do tratamento com AIA, realizado antes ou durante a indução, é uma inibição da atividade mitótica no meristema axilar, sendo esta atividade um passo necessário na transição do estágio vegetativo para o floral. Uma inibição similar no meristema axilar também foi observada em plantas controle de *Chenopodium rubrum* não induzidas crescidas em luz contínua. Por outro lado, quando a auxina é aplicada após a indução fotoperiódica, as primeiras mudanças no ápice do ramo já ocorreram. Observa-se então, no ápice destas plantas, uma diferenciação floral mais avançada na gema terminal e uma inibição da diferenciação na gema lateral. No ápice das plantas controle, o contraste na diferenciação floral entre a gema apical e lateral é menor (Seidlová & Khatoon, 1976).

De acordo com estas observações, os dois efeitos do AIA na floração, inibidor e estimulador, podem manifestar-se como uma resposta de crescimento aos diferentes estádios do ápice do ramo nos quais o AIA foi aplicado (Krekule & Seidlová, 1973).

Este trabalho teve por objetivo estudar o controle do processo da floração em *Euphorbia heterophylla* do ponto de vista fotoperiódico, assim como estudar o possível envolvimento de auxinas neste processo. Análises a nível de

desenvolvimento de ápice foram importantes para se conhecer mais precisamente o período de indução e iniciação floral.

II- MATERIAL E MÉTODOS

1- Material vegetal.

As sementes de *Euphorbia heterophylla* foram coletadas em diversos terrenos baldios no município de Campinas-SP. Após coletadas, foram conservadas em recipientes de vidro fechados a uma temperatura de 4°C, até serem utilizadas.

2-Condições de crescimento.

As sementes de *Euphorbia heterophylla* germinaram sobre papel de filtro umedecido, o qual foi colocado em bandejas plásticas envoltas por plásticos transparentes. Estas foram mantidas em câmara de crescimento a 25°C e luz branca fluorescente contínua (320 W.cm⁻²) e irrigadas com água destilada quando necessário.

Após 5 dias, as plântulas foram transplantadas para vasos plásticos de 0.5 l com terra, os quais foram mantidos em casa de vegetação sob condições naturais de temperatura. Este foi considerado o dia inicial de cada experimento. Foram utilizadas 10 plantas por tratamento, sendo 1 por vaso.

3-Fotoperíodo.

As plantas mantidas em fotoperíodo curto (dias curtos - DC), receberam 8 horas diárias de luz natural. Após esse período, foi utilizada uma cobertura de tecido escuro e opaco sobre a bancada onde as plantas se encontravam, a fim de vedar a entrada de luz. As plantas mantidas em fotoperíodo longo (dias longos - DL) receberam luz natural durante o dia, o qual foi prolongado com luz de baixa intensidade proveniente de lâmpadas incandescentes ($0,53 \text{ W.cm}^{-2}$), até completar 20 horas diárias de luz.

4- Determinação do número suficiente de DC para antecipar a floração.

As plantas receberam diferentes números de DC e, a seguir, foram transferidas para dias longos até o 30º dia, quando foi feita a observação da floração.

Em um outro tipo de experimento, as plantas foram mantidas em dias longos, sendo então transferidas para dias curtos e, a seguir, retornaram para dias

longos, onde permaneceram até o 30^o dia, quando foi feita a observação da floração. A permanência das plantas em cada fotoperíodo variou de acordo com o tratamento.

Nos dois tipos de experimentos foram feitos um controle de dias curtos e outro de dias longos, nos quais as plantas permaneceram, respectivamente, 30 dias consecutivos em fotoperíodo curto ou fotoperíodo longo.

5- Aplicação de AIA.

AIA foi aplicado em forma de gota sobre o ápice da planta, utilizando-se para isso uma microsseringa graduada. Para cada aplicação foram utilizados 5, 10 ou 15 µl de AIA na concentração de 10^{-3} M por ápice de planta. Para o controle foi utilizada água destilada. O início da aplicação de AIA e o número de aplicações variaram conforme o experimento.

Também foi aplicada, sobre o ápice da planta, pasta de lanolina contendo AIA na concentração de 1%. Foram feitos dois tratamentos considerados controle, sendo que em um colocou-se lanolina pura e em outro não foi colocado nada. O início da aplicação da pasta de lanolina variou conforme o experimento.

Os experimentos com AIA foram mantidos em fotoperíodo curto.

6- Análises do ápice.

Os ápices principais foram observados em microscópio estereoscópico para determinação dos estádios de desenvolvimento até o aparecimento do botão floral visível.

Para definir melhor os estádios de desenvolvimento, os ápices também foram observados, a fresco, em microscópio eletrônico de varredura operado de 3 a 5 Kv, obtendo-se assim fotografias dos diferentes estádios de desenvolvimento.

III-RESULTADOS

1- Caracterização do ápice do estágio vegetativo ao floral.

Com observações do ápice de plantas de *Euphorbia heterophylla*, feitas a partir de dissecções em estereomicroscópio desde o estágio vegetativo até o floral, foi possível caracterizar e definir cinco estádios de desenvolvimento do ápice. No estágio 0, as plantas estavam com o ápice vegetativo conforme a figura 1, onde nota-se o pró-meristema arredondado e o primórdio foliar. O estágio 1 foi caracterizado como floral (figuras 2-A e 2-B). Na figura 2-A observa-se o domo apical arredondado, que é o botão da flor pistilada, e ao seu redor observam-se vários botões de flores estaminadas. Na figura 2-B observa-se o botão da flor pistilada acima dos botões de flores estaminadas. Observa-se também que a bráctea da inflorescência não cobriu ainda estas estruturas. No estágio 2 (figuras 3-A e 3-B), observa-se que a bráctea da inflorescência cobriu os botões de flores estaminadas, permitindo que se veja apenas o botão da flor pistilada. No estágio 3 (figuras 4-A e 4-B), observa-se que a bráctea da inflorescência cobriu totalmente o botão da flor pistilada. Observa-se também, a partir deste estágio, o nectário floral. No estágio 4 (figuras 5-A e 5-B), o botão da inflorescência torna-se macroscopicamente visível. Nestas figuras observa-se que o estigma da flor pistilada ultrapassou as brácteas.

A

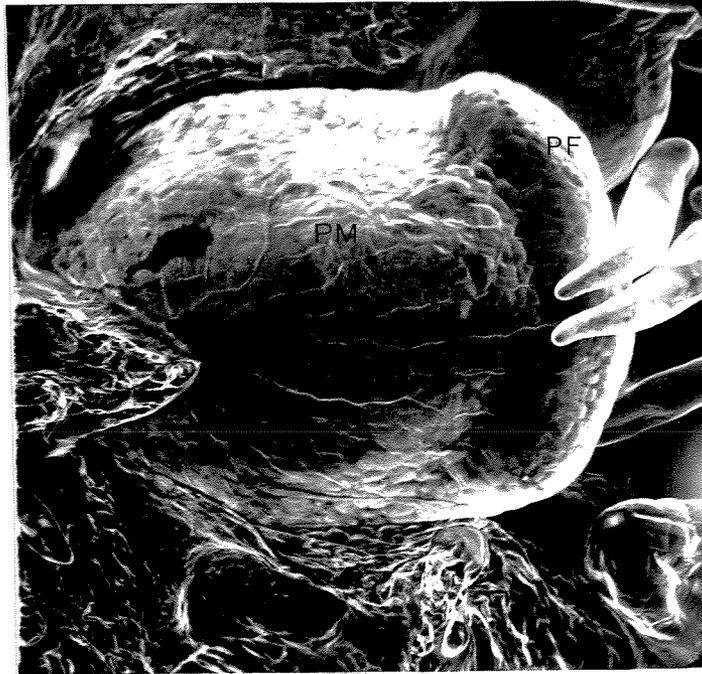


Figura 1 - Eletromicrografia, obtida em microscópio eletrônico de varredura, de ápice em estágio vegetativo de plantas de *E.heterophylla*.

A- Aumento de 525 vezes

pm- Pró-meristema

pf- Primórdio foliar

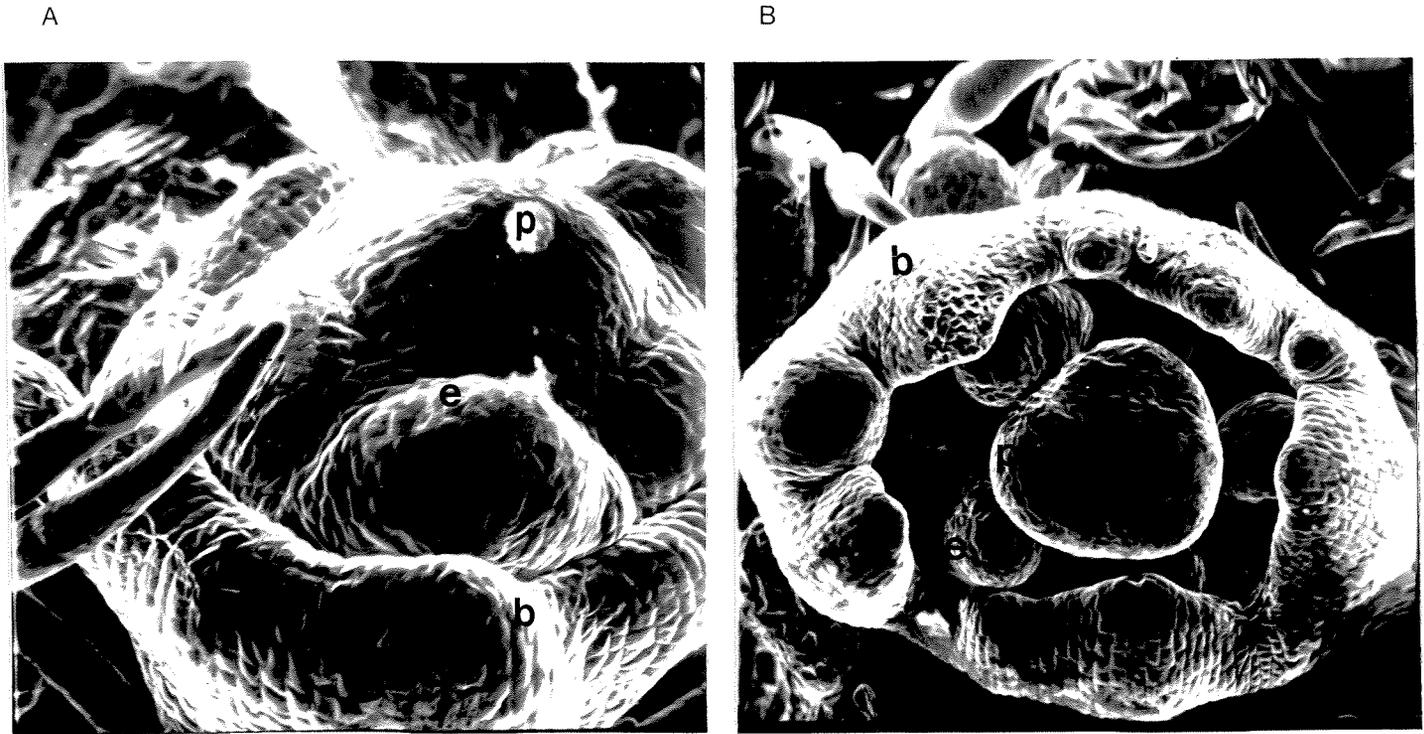


Figura 2- Eletromicrografias, obtidas em microscópio eletrônico de varredura, de ápices em estágio 1 de plantas de *E. heterophylla*..

A- aumento de 500 vezes

B- aumento de 400 vezes

p- botão da flor pistilada

e- botão da flor estaminada

b- bráctea da inflorescência

A



B



Figura 3- Eletromicrografias, obtidas em microscópio eletrônico de varredura, de ápices em estágio 2 de plantas de *E. heterophylla*.

A- aumento de 370 vezes

B- aumento de 200 vezes

p- botão da flor pistilada

b- bráctea da inflorescência

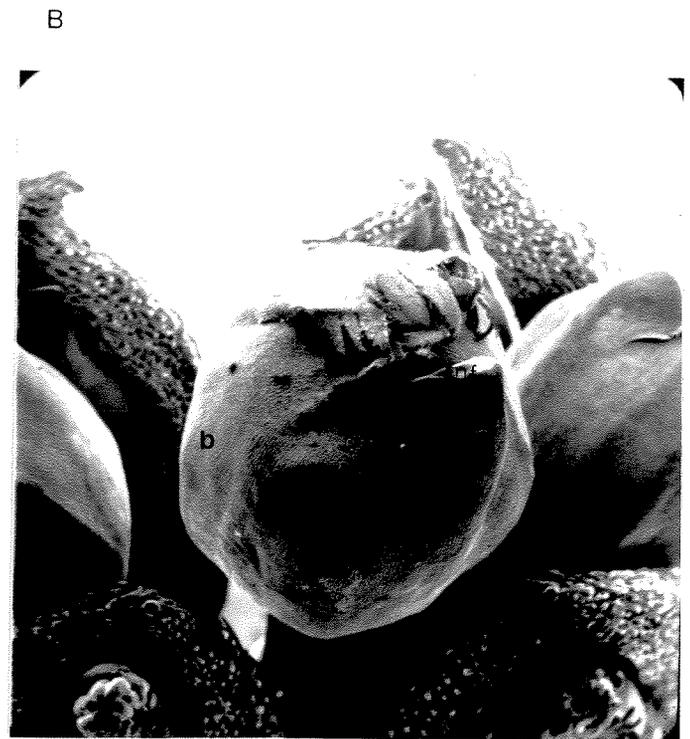


Figura 4- Eletromicrografias, obtidas em microscópio eletrônico de varredura,

de ápices em estágio 3 de plantas de *E. heterophylla*.

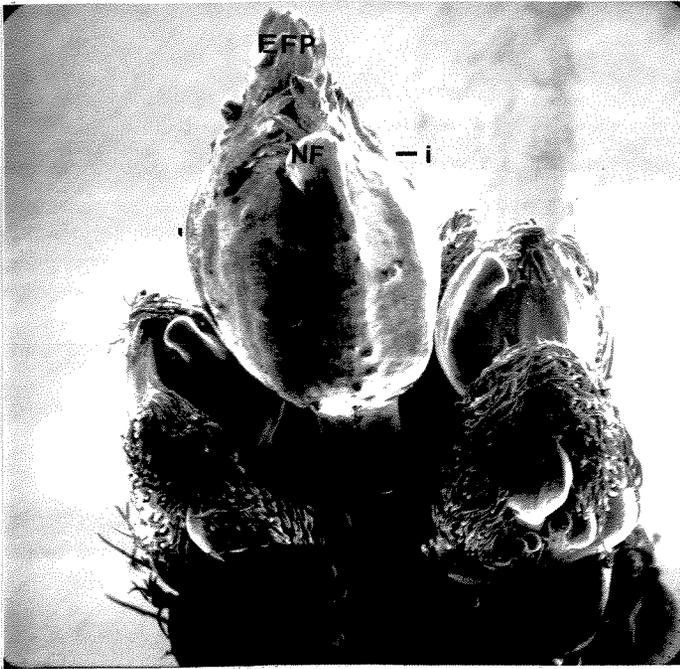
A- aumento de 98 vezes

B- aumento de 40 vezes

b- bráctea da inflorescência

nf- nectário floral

A



B



Figura 5- Eletromicrografias, obtidas em microscópio eletrônico de varredura,

de ápices em estágio 4 de plantas de *E. heterophylla*.

A- aumento de 36 vezes

B- aumento de 98 vezes

nf- nectário floral

i- botão da inflorescência

efp- estigma da flor pistilada

2-Controle fotoperiódico da floração.

Foi verificada a influência do fotoperíodo na iniciação floral de *Euphorbia heterophylla*. Para tanto, foram mantidas plantas em DC e em DL.

Conforme os dados apresentados na tabela 1, foi observado que tanto as plantas mantidas em DC quanto as plantas mantidas em DL apresentavam ápice vegetativo no 5º, 10º e 15º dias. Entretanto no 20º dia, as plantas mantidas em DC apresentavam ápice floral, enquanto que as plantas mantidas em DL ainda apresentavam ápice vegetativo. No 25º dia, as plantas mantidas em DC já apresentavam botão floral, ao passo que as plantas mantidas em DL continuavam a apresentar ápice vegetativo.

Este experimento foi repetido, e os dados apresentados na tabela 2 confirmam estes resultados.

Prolongou-se a permanência das plantas em DL até o botão floral tornar-se macroscopicamente visível. Conforme os dados apresentados na tabela 3, foi observado que as plantas mantidas em DL apresentavam ápice vegetativo no 20º, 25º e 30º dias. No 35º dia, as plantas apresentavam ápice floral, ao passo que o

Tabela 1 - Influência do fotoperíodo na iniciação floral de *Euphorbia heterophylla*.

IDADE DAS PLANTAS (dias)	DC		DL	
	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)
	5	0	0	0
10	0	0	0	0
15	0	0	0	0
20	100	0	0	0
25	0	100	0	0

Tabela 2 - Influência do fotoperíodo na iniciação floral de *Euphorbia heterophylla*.

IDADE DAS PLANTAS (dias)	DC		DL	
	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)
	10	0	0	0
15	0	0	0	0
20	100	0	0	0
24	0	100	0	0

Tabela 3 - Influência do fotoperíodo na iniciação floral de *Euphorbia heterophylla*.

IDADE DAS PLANTAS (dias)	DL	
	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)
20	0	0
25	0	0
30	0	0
35	100	0
42	70	30
44	0	100

botão floral tornou-se visível a partir do 42º dia, sendo que no 44º dia, todas as plantas já apresentavam botão floral.

Conhecendo-se o comportamento fotoperiódico da espécie, foi feita a determinação do número de dias curtos necessário à indução floral. Para tanto, as plantas receberam diferentes números de DC e a seguir, foram mantidas em DL.

Através da tabela 4, observa-se que as plantas mantidas durante os primeiros 5 ou 10 dias em fotoperíodo curto, assim como as plantas controle de DL, apresentaram, no 30º dia de idade, ápice vegetativo. Por outro lado, as plantas que permaneceram os primeiros 15 dias em fotoperíodo curto e as plantas controle de DC, apresentaram, no 30º dia de idade, botão floral.

Outro tipo de experimento foi realizado, no qual as plantas permaneciam os 5 primeiros dias em DL e só a seguir recebiam o tratamento com DC. Observa-se na tabela 5, que as plantas mantidas durante os primeiros 5 dias em fotoperíodo longo e que em seguida receberam 2 ou 5 ciclos de DC, assim como as plantas controle de DL, apresentaram, até o 30º dia de idade, ápice vegetativo. Por outro lado, as plantas mantidas os primeiros 5 dias em fotoperíodo longo e que em seguida receberam 10, 15 ou 20 ciclos de DC, bem como as plantas controle de DC,

Tabela 4 - Efeito do número de DC na iniciação floral de plantas de *Euphorbia heterophylla*. Observação realizada no 30º dia.

TRATAMENTO FOTOPERIÓDICO	DESENVOLVIMENTO DO ÁPICE	
	ÁPICE VEGETATIVO (%)	BOTÃO FLORAL (%)
30 DL	100	0
5DC + 25DL	100	0
10DC + 20DL	100	0
15DC + 15DL	0	100
30DC	0	100

apresentaram, no 30º dia de idade, botão floral. Nesta tabela, todas as plantas que não apresentaram botão floral possuíam ápice vegetativo.

A fim de se determinar o número suficiente de dias curtos para antecipar a floração, também foi realizado um outro tipo de experimento, no qual as plantas recebiam o tratamento com DC somente após terem permanecido os primeiros 10 dias em fotoperíodo longo. Na tabela 6, observa-se que as plantas controle de DC, bem como as plantas mantidas durante os primeiros 10 dias em fotoperíodo longo e que em seguida receberam 5 ou 10 ciclos de DC, apresentaram, no 30º dia de idade, botão floral.

Tabela 5 - Efeito do número de dias curtos e da época em que estes são fornecidos às plantas de *Euphorbia heterophylla*.

		BOTÃO FLORAL (%)			
		24	26	28	30
Idade (dias)	Tratamento				
	DL	0	0	0	0
	5DL + 2DC + DL	0	0	0	0
	5DL + 5DC + DL	0	0	0	0
	5DL + 10DC + DL	80	90	90	100
	5DL + 15DC + DL	100	100	100	100
	5DL + 20DC + DL	100	100	100	100
	DC	100	100	100	100

Tabela 6 - Efeito do número de dias curtos e da época em que estes são fornecidos às plantas de *Euphorbia heterophylla*.

		BOTÃO FLORAL (%)			
		24	26	28	30
Tratamento	Idade (dias)				
	DC	100	100	100	100
	10DL+5DC+DL	0	40	60	100
	10DL+10DC+DL	10	80	100	100

3- Efeito da aplicação de AIA.

Após ter sido verificado o controle fotoperiódico sobre o processo da floração em plantas de *Euphorbia heterophylla*, passou-se ao estudo do envolvimento de AIA, o qual poderia estar relacionado com o controle endógeno da floração nesta espécie.

Primeiramente, AIA foi aplicado em forma de gota, num total de 30 μ l por planta, em 3 aplicações de 10 μ l de 2 em 2 dias, a partir do 10^o dia. A análise do desenvolvimento do ápice, cujos dados são apresentados na tabela 7, mostrou não haver diferença entre o tratamento com AIA e o controle de DC.

Posteriormente, AIA foi aplicado num total de 45 μ l por planta, em 3 aplicações de 15 μ l de 2 em 2 dias, a partir do 5^o dia. Este tratamento também não mostrou efeito na iniciação floral (tabela 8).

No intuito de verificar se estes experimentos não apresentaram efeito no desenvolvimento do ápice devido ao método utilizado, foi testado um outro método de aplicação de AIA. Pasta de lanolina contendo AIA na concentração de 1% foi colocada sobre o ápice de plantas de *Euphorbia heterophylla* no 6^o dia de idade. Observou-se, no 30^o dia, que 60% das plantas que receberam este tratamento apresentaram ápice vegetativo e o restante ápice floral. O controle contendo apenas

Tabela 7 - Efeito da aplicação de 30 μ l de AIA por planta, dividido em 3 aplicações de 10 μ l de 2 em 2 dias, a partir do 10^o dia.

TRATAMENTOS	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)
	20 ^o dia	27 ^o dia
CONTROLE - DC	100	100
30 μ l de AIA	100	100

Tabela 8 - Efeito da aplicação de 45 μ l de AIA por planta, dividido em 3 aplicações de 15 μ l de 2 em 2 dias, a partir do 5^o dia.

TRATAMENTOS	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)
	20 ^o dia	26 ^o dia
CONTROLE - DC	100	100
45 μ l de AIA	100	100

lanolina pura apresentou 80% das plantas com botão floral e o restante com ápice floral. Já no controle sem a pasta de lanolina, todas as plantas apresentaram botão floral (tabela 9a).

Quando a pasta de lanolina contendo AIA foi colocada no 8º dia, observou-se, no 30º dia, que 70% das plantas apresentaram ápice floral e o restante botão floral, enquanto os dois controles apresentaram botão floral em 100% das plantas (tabela 9b).

Finalmente, quando a pasta de lanolina contendo AIA foi colocada no 10º dia, observou-se, no 30º dia, que 20% das plantas apresentaram ápice vegetativo, 30% ápice floral e 50% botão floral, ao passo que o controle contendo apenas lanolina pura apresentou 40% das plantas com ápice floral e o restante botão floral. Já no controle sem a pasta de lanolina, todas as plantas apresentaram botão floral (tabela 9c). Na figura 6, observa-se que no tratamento com pasta de lanolina contendo AIA, as plantas que não formaram botão floral tiveram um certo atraso no desenvolvimento do ápice em relação ao controle contendo apenas lanolina.

Tabela 9 - Efeito da aplicação de pasta de lanolina contendo AIA na concentração de 1%, colocada sobre o ápice de plantas de *Euphorbia heterophylla*. Observação no 30º dia de idade.

	ÁPICE VEGETATIVO (%)	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)
A - APLICAÇÃO NO 6º DIA			
controle sem lanolina	0	0	100
controle com lanolina pura	0	20	80
lanolina + AIA	60	40	0
B - APLICAÇÃO NO 8º DIA			
controle sem lanolina	0	0	100
controle com lanolina pura	0	0	100
lanolina + AIA	0	70	30
C - APLICAÇÃO NO 10º DIA			
controle sem lanolina	0	0	100
controle com lanolina pura	0	40	60
lanolina + AIA	20	30	50

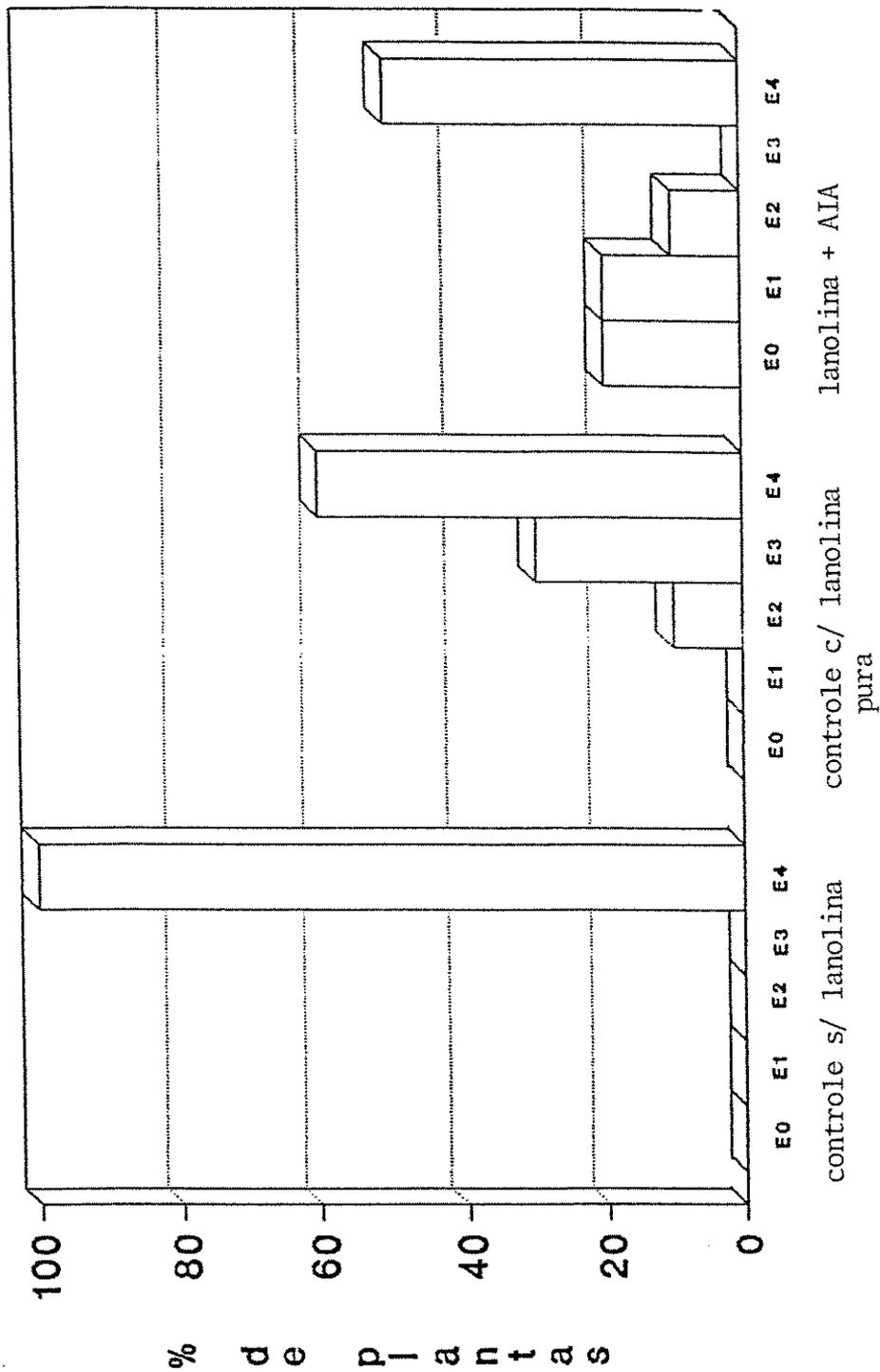


Figura 6 - Efeito da aplicação de pasta de lanolina, contendo AIA na concentração de 1%, colocada sobre o ápice de plantas de *E. heterophylla* no 10º dia de idade. Observação no 30º dia.

Diante destes resultados, tornou-se necessário um estudo mais detalhado do efeito do AIA sobre o processo da floração em *Euphorbia heterophylla*, verificando-se qual a época ideal para sua aplicação, como também a quantidade necessária para que algum efeito se manifestasse.

Assim sendo, a aplicação desta substância foi feita de várias maneiras. Numa primeira tentativa, a aplicação de AIA, em forma de gota, iniciou-se no 5º dia e foi mantida até o 15º dia de idade, sendo 10 µl de AIA por aplicação, totalizando 110 µl. Os resultados estão apresentados na tabela 10, onde observa-se, no 30º dia de idade, que 80% das plantas tratadas com AIA apresentaram ápice floral e o restante, ápice vegetativo.

Foi então verificado se o AIA teria um efeito inibidor mais expressivo no processo da floração desta espécie quando a aplicação desta substância abrangesse uma faixa de "idade" das plantas mais ampla. Além disso, um outro aspecto abordado sobre o efeito do AIA neste processo, foi a quantidade aplicada.

Para tanto, a aplicação de AIA iniciou-se no 5º dia e foi mantida até o 20º dia de idade da planta, sendo um tratamento com 5 µl de AIA por aplicação, totalizando 80 µl, e outro tratamento com 10 µl de AIA por aplicação, totalizando 160 µl. A análise de desenvolvimento do ápice (figura 7) mostra que no 30º dia de

Tabela 10 - Efeito de 11 aplicações de 10 µl de AIA do 5° até o 15° dia. Observação no 30° dia.

TRATAMENTOS	ÁPICE VEGETATIVO (%)	ÁPICE FLORAL (%)	BOTÃO FLORAL (%)
CONTROLE	0	0	100
110 µl de AIA	20	80	0

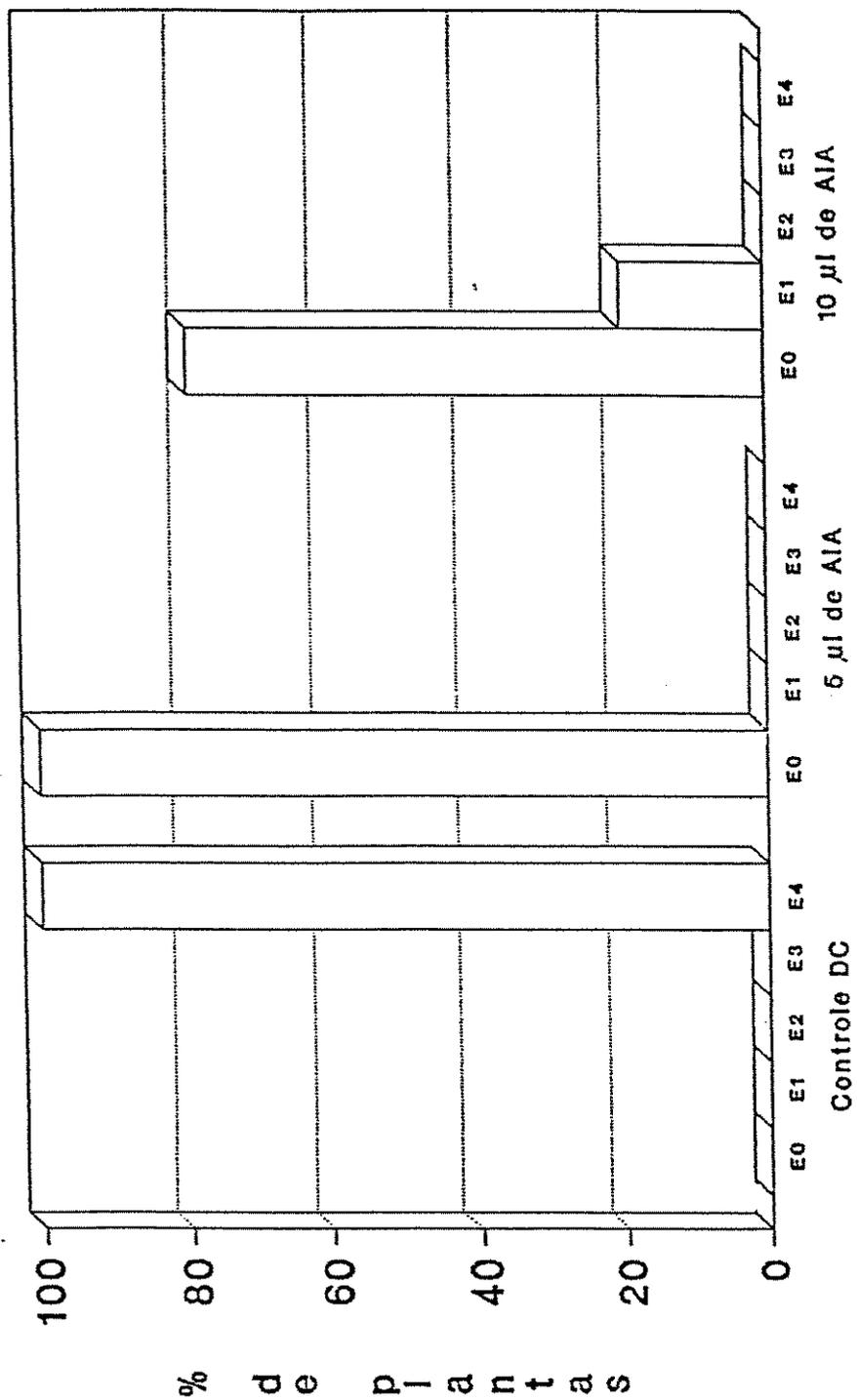


Figura 7 - Análise de ápice de plantas de *E. heterophylla* tratadas com 5 µl ou 10 µl de AIA por aplicação do 5º ao 20º dia de idade da planta. Observação no 30º dia.

idade, o controle apresenta botão floral, ao passo que as plantas tratadas com 5µl de AIA por aplicação estão no estágio 0 e as tratadas com 10µl de AIA por aplicação apresentam 80% das plantas no estágio 0 e 20% no estágio 1.

Na busca de esclarecer o efeito do AIA sobre o processo da floração em plantas de *Euphorbia heterophylla*, novas questões foram levantadas, tais como, qual seria a faixa de “idade” mais sensível ao AIA para se obter uma inibição no processo da floração? Ainda, esta inibição seria temporária ou permanente?

Para um possível esclarecimento destas dúvidas, plantas de *Euphorbia heterophylla* foram tratadas com 5 µl de AIA por aplicação variando o número e a época das aplicações em cada tratamento. Assim sendo, AIA foi aplicado segundo o seguinte esquema: do 5° ao 15° dia; do 10° ao 15° dia; do 15° ao 20° dia e do 10° ao 30° dia.

Através da tabela 11, observa-se que no 25° dia, o controle apresenta 100% das plantas com botão floral, ao passo que as plantas tratadas com AIA do 10° ao 15° dia foram apresentar este resultado no 28° dia. Em relação ao tratamento cuja aplicação de AIA foi feita do 5° ao 15° dia, 50% das plantas apresentaram botão floral no 32° dia, sendo que foi apenas no 35° dia que todas as plantas deste tratamento passaram a apresentar botão floral. Observa-se ainda que 60% das

Tabela 11 - Efeito da aplicação de AIA em plantas de *Euphorbia heterophylla*, variando o número e a época das aplicações em cada tratamento.

		BOTÃO FLORAL (%)					
		25	28	30	32	35	40
Tratamento	Idade (dias)						
	CONTROLE	100	100	100	100	100	100
	AIA do 5° ao 15° dia	0	0	0	50	100	100
	AIA do 10° ao 15° dia	0	100	100	100	100	100
	AIA do 15° ao 20° dia	0	60	60	100	100	100
	AIA do 10° ao 30° dia	0	0	0	50	80	100

plantas tratadas com AIA do 15° ao 20° dia apresentaram botão floral no 28° dia, sendo que no 32° dia, 100% das plantas deste tratamento possuíam botão floral. No tocante ao tratamento cuja aplicação de AIA foi feita do 10° ao 30° dia, 50% das plantas apresentaram botão floral no 32° dia, sendo que foi apenas no 40° dia que todas as plantas deste tratamento passaram a apresentar botão floral. Em relação ao controle, este novamente apresentava 100% das plantas com botão floral no 25° dia.

As análises de dissecção do ápice destas plantas tratadas foram feitas no 30° dia e estão apresentadas na figura 8, na qual observamos que 100% do controle e das plantas tratadas com AIA do 10° ao 15° dia apresentam botão floral. Por outro lado, as plantas tratadas com AIA do 5° ao 15° dia estão 20% no estágio 1, 30% no estágio 2 e 50% no estágio 3. Observamos também, que 40% das plantas tratadas com AIA do 15° ao 20° dia estão no estágio 3 e 60% apresentam botão floral. Em relação ao tratamento cuja aplicação de AIA foi feita do 10° ao 30° dia, 20% das plantas estão no estágio 0, 10% no estágio 1, 20% no estágio 2 e os outros 50% estão no estágio 3.

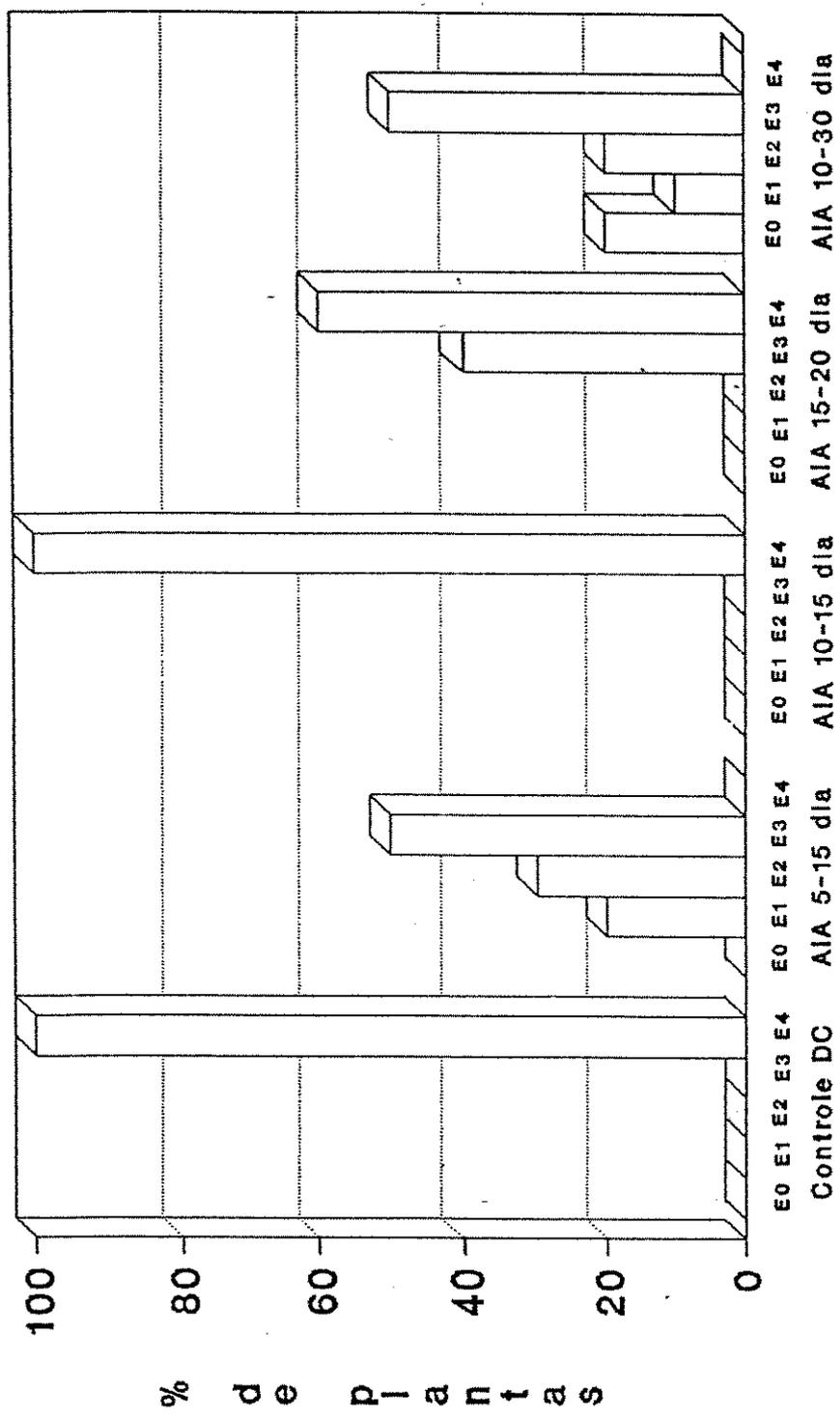


Figura 8 - Análise de ápice de plantas de *E. heterophylla* tratadas com AIA variando o número e a época das aplicações em cada tratamento.

4- DISCUSSÃO

Assim que os eventos no meristema apical do ramo tornaram-se uma parte dos estudos da floração, o desenvolvimento floral passou a ser compreendido como uma sequência de mudanças nas quais o ápice do ramo é transformado (Seidlová, 1985). Essas alterações que ocorrem no ápice podem ser tão uniformes e típicas que é possível caracterizar e definir o início do processo da floração antes da gema floral tornar-se visível macroscopicamente (Bernier *et al.*, 1981).

A chegada do estímulo floral no ápice resulta em mudanças morfológicas associadas com a iniciação do primórdio floral e seu subsequente desenvolvimento ou seja, o ápice vegetativo sofre uma reorganização e passa a produzir o órgão floral (Vince-Prue, 1975). As mudanças mais evidentes são o tamanho e a forma que o meristema do ramo apical assume com a iniciação floral. Na maioria das espécies, os meristemas vegetativos possuem domos baixos, achatados ou levemente convexos. Em geral, observando-se um material por ocasião da iniciação do primórdio floral, nota-se que há um marcante arredondamento do meristema, como, por exemplo, em *Hyptis brevipes* (Zaidan, 1987), *Stevia rebaudiana* (Monteiro & Gifford Jr., 1988) e *Arachis hipogaea* (Armando Jr., 1990).

No entanto, este aumento de altura e largura que ocorrem em muitas espécies por ocasião da iniciação floral, não é uma característica padrão. Em girassol (*Helianthus annuus*), o domo no estágio vegetativo apresenta-se completamente plano. No início da transição floral, há um leve arredondamento do domo mas, ainda na fase de transição, ele volta a assumir uma forma achatada (Almeida, 1992).

Em *Euphorbia heterophylla*, o meristema na fase reprodutiva é um domo com acentuado arredondamento, em contraste com o meristema vegetativo, que é um domo levemente arredondado. No início da transição floral, a bráctea da inflorescência se assemelha a um cálice, permitindo a visualização dos vários botões de flores estaminadas e do botão da flor pistilada. Com o desenvolvimento do ápice, estas estruturas são totalmente cobertas pela bráctea da inflorescência.

Há uma completa interação entre as condições ambientais nas quais uma planta cresce e a iniciação do desenvolvimento floral pelos meristemas (Evans, 1969). Em algumas plantas, a influência ambiental é mínima, enquanto que em outras, uma condição ambiental pode estar intimamente associada com o destino dos meristemas. Deste modo, os principais passos do processo da floração, isto é, indução, evocação, iniciação e desenvolvimento da flor, podem ser diretamente afetados por fatores ambientais (McDaniel *et al.*, 1992).

O fotoperíodo tem sido identificado como o código das condições ambientais que determina o momento da iniciação floral em um número substancial de plantas (McDaniel *et al.*, 1992).

O estudo da influência do fotoperíodo no processo da floração de *Euphorbia heterophylla*, mostrou efeitos significativos na iniciação e desenvolvimento do ápice.

Foi verificado nesta espécie, que as plantas crescidas em casa de vegetação, tanto em fotoperíodo curto como em fotoperíodo longo, apresentaram ápice vegetativo até o 15º dia. As plantas mantidas em DC apresentaram ápice floral no 20º dia, enquanto que as plantas mantidas em DL só foram apresentar ápice floral no 35º dia. Nas plantas mantidas em DC, o botão floral tornou-se visível ao redor do 25º dia, ao passo que nas plantas mantidas em DL, o botão floral tornou-se visível a partir do 42º dia. Deste modo, *Euphorbia heterophylla* apresenta uma resposta quantitativa a DC bastante expressiva, já que a floração é acelerada nesta condição.

O número de ciclos indutivos necessários para desencadear o processo floral varia de um a muitos. Nos casos mais extremos como, por exemplo, em *Xanthium* (PDC), *Pharbitis* (PDC), *Sinapis* (PDL) e *Lolium* (PDL), um simples ciclo favorável é capaz de induzir a floração (Vince-Prue, 1975).

Válio & Rocha (1977), estudando o efeito do fotoperíodo na floração de *Stevia rebaudiana*, verificaram que 2 DC eram capazes de induzir a floração.

Porém, maiores porcentagens de plantas floridas eram obtidas com mais ciclos indutivos.

A floração em *Panicum maximum* foi estudada por Felipe (1978), tendo sido observado que o capim-colonião é uma planta de DC qualitativa, sendo necessários 10 DC para promover a indução.

Em algumas plantas, o primórdio floral pode ser formado quando as plântulas ainda estão na fase cotiledonar, mas a maioria das plantas deve atingir uma certa idade ou tamanho antes que o processo da reprodução seja estabelecido.

Nas plantas fotoperiódicas, as folhas possuem papel importante pois são os órgãos que percebem o estímulo da luz. Em muitas espécies, a percepção do fotoperíodo é dependente do estágio de desenvolvimento vegetativo em que a planta se encontra. Deste modo, estas espécies para passarem do estágio vegetativo para o floral necessitam ter determinado número de folhas. Conseqüentemente, muitas plantas não respondem aos fotoperíodos indutivos até que tenham produzido várias folhas. Portanto, a presença ou ausência deste órgão parece ter relação com o processo da floração (Penel *et al.*, 1985). Lagôa & Pereira (1984) observaram que em *Phaseolus vulgaris* L. cv. Goiano Precoce, a remoção de primórdios de folhas trifolioladas retardou a iniciação floral desta espécie. Em *Stevia rebaudiana*, a indução fotoperiódica para floração só é possível a partir do 4º par de folha, sendo

que plantas com 6 pares de folhas são mais sensíveis ao estímulo fotoperiódico (Válio & Rocha, 1977).

Verificou-se em plantas de *Euphorbia heterophylla*, que 5 ou 10 ciclos de DC dados no início do tratamento não são suficientes para desencadear o processo floral. Estes resultados sugerem duas hipóteses: as plantas desta espécie precisam de mais de 10 DC para serem induzidas à floração, ou nos primeiros 10 dias elas ainda não atingiram um certo estágio de maturidade para a floração, ou seja, não têm um número suficiente de folhas para responderem ao estímulo fotoperiódico.

Foi observado em *Euphorbia heterophylla*, que 15 ciclos de dias curtos dados no início do tratamento são suficientes para induzir a floração, mesmo que as plantas sejam mantidas posteriormente em DL. Esse pós-efeito persistente do tratamento fotoperiódico é o resultado da indução fotoperiódica. É interessante notar, neste tipo de experimento, que as plantas com 20 dias apresentam ápice floral embora estejam em DL.

Foi observado também em *Euphorbia heterophylla*, que quando as plantas recebiam os DC com 5 dias de idade, eram necessários pelo menos 10 DC para que apresentassem botão floral no 30º dia. No entanto, quando as plantas recebiam os DC com 10 dias de idade, apenas 5 DC já eram suficientes para que apresentassem botão floral no 30º dia.

Estes resultados indicam que a indução floral ocorre entre o 10° e o 15° dia de idade nas plantas de *Euphorbia heterophylla* mantidas em DC.

Após ter sido verificado o controle fotoperiódico do processo da floração em plantas de *Euphorbia heterophylla*, passou-se ao estudo do envolvimento do AIA neste processo, em vista da mudança do padrão de crescimento verificado nesta espécie com a iniciação floral. Há um grande número de informações na literatura que relacionam esta substância com as mudanças que ocorrem no ápice vegetativo para o floral em várias espécies.

Desde a primeira informação de Dostál & Hosek em 1937 (*apud* Jacobs, 1985) sobre a ação inibidora da auxina na floração de *Circaea intermedia*, este hormônio vegetal tem sido reconhecido como parte dos mecanismos que controlam a floração.

Aplicações de auxinas podem promover ou inibir a iniciação floral em diversas plantas, embora as inibições sejam mais frequentes (Bernier, 1988). Houve promoção quando a auxina foi aplicada em macieira (Buban & Faust, 1982) e cinco espécies de *Amaranthus* (Tisserat & Galleta, 1988). Contudo, o AIA não parece ser o promotor da floração de *Brassica napus* (Boillé *et al.*, 1989) e *Begonia cheimantha* (Odén & Heide, 1989), já que os níveis endógenos desta substância de crescimento decresceram quando as duas espécies foram induzidas a florescer.

Níveis altos de auxina no ápice vegetativo de algumas espécies podem inibir a floração, sendo necessário, nestas espécies, uma diminuição dos níveis endógenos deste hormônio vegetal ou por ação de peroxidases ou por quebra da dominância apical, para que este ápice se diferencie em floral (Hoad *et al.*, 1987).

Seidlová e Khatoon (1976) mostraram que no ápice do ramo de *Chenopodium*, o primeiro evento da diferenciação floral que se segue a indução fotoperiódica representa uma liberação da dominância apical, e que o AIA aplicado na gema apical durante a indução inibe a floração pela neutralização desta redução da dominância apical, inibindo assim o início da diferenciação floral. Deste modo, a ação inibidora da auxina pode ser interpretada como o restabelecimento de um alto nível de dominância apical, ou seja, a situação no ápice do ramo anterior a indução (Prívratský *et al.*, 1976). Todos estes dados sugerem que as auxinas endógenas produzidas na gema apical devem desempenhar um importante papel no controle da floração, pela participação no mecanismo que regula a expressão do potencial da floração depois de realizada a indução fotoperiódica nas folhas.

Ogawa (1962 *apud* Jacobs, 1985) mediu os níveis endógenos de AIA em extratos de cotilédones de diferentes idades de *Pharbitis* (PDC), os quais revelaram um alto nível de auxina em cotilédones de plantas com 1 ou 2 dias, diminuindo de modo que tende a desaparecer no 5º dia. Entretanto, o número de primórdios florais

mostrou uma variação inversa, ou seja, não foi observada nenhuma resposta em plantas com 2 dias, a qual foi aumentando para o máximo número de gemas florais no 5º dia. Pavlová & Krekule (1984) também demonstraram em *Chenopodium rubrum*, a relação entre a diminuição do nível de AIA no ápice e a alta capacidade da planta de florescer.

Em relação ao sítio de ação da auxina, acreditava-se que este hormônio vegetal afetasse as reações fotoperiódicas primárias, agindo nas folhas e atuasse interrompendo a síntese ou o transporte do estímulo floral (Salisbury, 1955). Entretanto, segundo Krekule & Prívratký (1974) o efeito da auxina é restrito ao ápice do ramo.

Os resultados dos experimentos iniciais realizados por Krekule & Prívratký (1974) com *Chenopodium rubrum*, mostram que as auxinas foram igualmente efetivas se aplicadas nos cotilédones ou no ápice dos ramos. Esses autores, através de uma bonita série de experimentos usando auxina marcada, observaram um intenso movimento desta substância dos cotilédones para os ápices e vice-versa. Eles então decidiram aumentar a distância entre o cotilédone e o ápice com 2 aplicações de ácido giberélico (1mg/l) antes da indução. É importante notar que o tratamento com ácido giberélico não alterou a resposta fotoperiódica da espécie estudada. Os resultados indicaram um claro efeito inibidor da auxina quando aplicada no ápice e

somente uma leve inibição quando aplicada nos cotilédones. Assim sendo, quando aplicado nos cotilédones o AIA é menos eficiente somente se o seu transporte para o ápice for inibido pelo alongamento do internó, devido a aplicação de ácido giberélico. Estes dados revelam que a auxina aplicada no cotilédone de *Chenopodium rubrum*, na verdade inibiu a floração devido ao seu deslocamento para o ápice do ramo. Portanto, o meristema apical é o sítio para a ação inibidora da auxina (Prívratský *et al.*, 1976).

Foi observado em plantas de *Euphorbia heterophylla*, que 3 aplicações de 10 µl de AIA (10^{-3} M) de 2 em 2 dias a partir do 10º dia, ou 3 aplicações de 15 µl de AIA (10^{-3} M) de 2 em 2 dias a partir do 5º dia, não foram suficientes para que alguma resposta fosse verificada nesta espécie. Diante destes resultados, é possível supor que o AIA seja metabolizado rapidamente, não tendo então efeito na iniciação floral.

Quando se colocou pasta de lanolina contendo AIA na concentração de 1% sobre o ápice de plantas de *Euphorbia heterophylla* no 6º, 8º ou 10º dia de idade, foi verificado que os tratamentos com AIA mostraram um efeito expressivo no desenvolvimento do ápice.

Passando-se a um estudo mais detalhado do efeito do AIA na floração de *Euphorbia heterophylla*, foram obtidas algumas informações de época de

tratamento e quantidade aplicada, as quais tornaram bastante evidente a hipótese de que o AIA realmente parece estar envolvido na passagem do ápice vegetativo para o floral nesta espécie.

Para o aspecto tempo de aplicação, foi observado através de vários experimentos, que o AIA provocou um maior atraso no processo da floração quando aplicado durante um período mais prolongado.

Quando o tratamento foi realizado com 10 μ l de AIA por aplicação do 5° ao 15° dia, observou-se no 30° dia, que as plantas tratadas apresentaram um atraso no desenvolvimento do ápice em relação ao controle ou seja, enquanto 100% das plantas controle já apresentavam o botão floral visível, 80% das plantas tratadas apresentavam apenas ápice floral e as demais apresentavam ápice vegetativo.

Em relação à quantidade aplicada, foi verificado em plantas tratadas com 5 μ l ou 10 μ l por aplicação do 5° ao 20° dia, que os dois tratamentos foram efetivos na inibição da iniciação floral. Deste modo, passou-se a usar nos experimentos 5 μ l de AIA por aplicação.

Em *Pharbitis*, a adição de 5 mg/l de AIA reduziu muito o número de primórdios florais por planta (Ogawa, 1962 *apud* Jacobs, 1985)

Outras evidências a respeito da dependência do momento da aplicação de AIA com seus efeitos na floração foram obtidas através de mais experimentos nos quais

plantas de *Euphorbia heterophylla* foram mantidas em dias curtos e tratadas com AIA em diferentes estádios de desenvolvimento.

Assim sendo, observou-se que as plantas tratadas com AIA do 5° ao 15° dia ou do 10° ao 30° dia, apresentaram uma inibição mais intensa do que as plantas tratadas com AIA do 10° ao 15° dia ou do 15° ao 20° dia. Todos estes tratamentos tiveram um atraso no aparecimento do botão floral em relação ao controle.

Como foi visto, a indução floral ocorre entre o 10° e o 15° dia de idade nas plantas de *Euphorbia heterophylla* mantidas em DC. Entretanto, as plantas tratadas com AIA neste período tiveram um atraso de apenas 3 dias no aparecimento do botão floral, em relação ao controle.

O tratamento realizado do 10° ao 30° dia foi o que apresentou uma inibição mais duradoura, já que foi apenas no 40° dia que 100% das plantas deste tratamento apresentaram botão floral. Assim sendo, o efeito inibidor do AIA no processo da floração de *Euphorbia heterophylla* é temporário, provavelmente devido ao metabolismo do AIA.

De todos os tratamentos realizados com AIA, o mais efetivo na inibição do processo da floração de *Euphorbia heterophylla*, foi o tratamento cuja aplicação foi feita do 5° ao 20° dia, onde 100% das plantas apresentavam ápice vegetativo no 30° dia, enquanto que o controle já apresentava botão floral em todas as plantas.

Diante destes resultados, é possível supor que a diminuição do nível endógeno de AIA nesta planta promova o início da floração. Assim sendo, a aplicação exógena de AIA no ápice atrasa este processo pois, provavelmente, repõe o nível endógeno deste hormônio vegetal. Deste modo, parece ser importante a manutenção de AIA no ápice de plantas de *Euphorbia heterophylla*, para que o efeito inibidor de auxinas seja mais duradouro.

Krekule *et al.* (1985) observaram em plantas de *Chenopodium murale* (PDL), que o período de mais alta sensibilidade para o AIA inibir a floração ocorre durante a indução por iluminação contínua. Também foi observado em *C. rubrum* (PDC) uma visível dependência dos efeitos da auxina com relação à época em que esta é aplicada. Nesta espécie, AIA ($3 \cdot 10^{-3}$ M) inibiu a indução fotoperiódica da floração quando aplicado durante o período indutivo no ápice do ramo (Khatoon *et al.*, 1973).

Segundo Seidlová & Khatoon (1976), o efeito da aplicação de auxina na diferenciação floral pode ser explicado em termos de uma manutenção da dominância apical. O primeiro evento da diferenciação floral após a indução fotoperiódica representa, em contraste, uma liberação da dominância apical (Seidlová & Khatoon, 1976). Os autores explicam este fato através da hipótese de que a aplicação de auxina antes e durante a indução fotoperiódica, repõe o nível

endógeno deste hormônio vegetal que provavelmente está diminuindo, neutralizando assim a redução da dominância apical no ápice e portanto, inibindo o início da diferenciação floral.

V- RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar o controle do processo da floração de *Euphorbia heterophylla* do ponto de vista fotoperiódico, assim como estudar o possível envolvimento de auxinas neste processo.

Através de observações de ápices de plantas de *Euphorbia heterophylla* de diferentes idades, em microscópio estereoscópico, foi possível caracterizar e definir o início do processo da floração antes da gema floral tornar-se visível macroscopicamente.

O estudo da influência do fotoperíodo no processo da floração de *Euphorbia heterophylla* mostrou que esta espécie apresenta uma resposta quantitativa a DC bastante expressiva, já que a floração é acelerada nesta condição.

Foi verificado que nos primeiros 10 dias de idade, as plantas de *Euphorbia heterophylla* ainda não estão aptas para responderem ao estímulo fotoperiódico.

Apenas 5 ciclos de dias curtos dados a partir do 10º dia de idade da planta, são suficientes para induzir a floração nesta espécie. Portanto, a indução floral ocorre entre o 10º e o 15º dia de idade nas plantas de *Euphorbia heterophylla* mantidas em DC.

Em relação ao envolvimento do AIA neste processo, verificou-se que aplicações desta substância mostraram um efeito inibidor expressivo no desenvolvimento do ápice. Deste modo, o AIA realmente parece estar envolvido na passagem do ápice vegetativo para o floral nesta espécie.

Foi observado que o período de aplicação do AIA é mais importante do que a quantidade de AIA aplicada.

Verificou-se que o AIA provocou um maior atraso no processo da floração desta espécie quando aplicado durante um período mais prolongado. Deste modo, parece ser importante a manutenção do AIA no ápice desta planta para que o efeito inibidor deste hormônio vegetal seja mais duradouro.

VI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKUBUE, P. I. ; MITTAL, G. C. & AGUWA, C. N. , 1983. Preliminary pharmacological study of some Nigerian medicinal plants. I. J. Ethnopharmacol., 8: 53-63.
- ALMEIDA, J. A. S. , 1992. Controle da iniciação floral em *Helianthus annuus* L. (girassol). Tese de mestrado. Unicamp.
- ARANHA, C. ; LEITÃO FILHO, H. F. & YAHN, C. A. , 1988. Sistemática de plantas invasoras. Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, p: 43-49.
- ARMANDO Jr., J. , 1990. Controle da floração em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Tese de mestrado. Unicamp.
- BACCHI, O. ; LEITÃO FILHO, H. F. & ARANHA, C. , 1984. Plantas invasoras de culturas. Vol. 3. Campinas: Ed. Unicamp. p: 598-906.
- BERNIER, G. 1971. Structural and metabolic changes in the shoot apex in transition to flowering. Can. J. Bot., 49: 803-819.
- BERNIER, G. ; KINET, J. M. & SACHS, R. M. , 1981. The Physiology of Flowering, Vol. 2. CRC Press. Florida. 188p.

- BERNIER, G. , 1988. The control of floral evocation and morphogenesis. Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol., 39: 175-219.
- BOUILLÉ, P. ; SOTTA, B. ; MIGINIAC, E. & MERRIEN, A. , 1989. Hormones and inflorescence development in oilseed rape. Plant Physiol. Biochem., 27 (3): 443-450.
- BRADELY, V. & CRANE, J.C. , 1960. Gibberellin induced inhibition of bud development in some species of *Prunus*. Science, 131: 825-826.
- BRAGGIO, W. M. , 1984. Fatores que afetam a dominância apical em *Anagallis arvensis* L. Tese de mestrado. Unicamp.
- BUBAN, T. & FAUST, M. , 1982. Flower bud induction in apple tress: internal control and differentiation. Hort. Rev., 4: 174-203.
- CHAILAKHYAN, M. K. & LOZHNIKOVA, V. N. , 1966. Effect of interruption of darkness by light on plant gibberellins. Soviet Plant Physiol. , 13: 734:741.
- CHILDERS, N. F. ; CIBES, H. R. & HERNANDES-MEDINA, E. , 1959. *Vanilla*-the orchid of commerce - In: Withner, C. L. (ed.): The Orchids, a Scientific Survey. The Ronald Press, New York.
- CLELAND, C. F. , 1978. The flowering enigma. Bio. Science, 28: 265-269.
- COEN, E. & CARPENTER, R. , 1992. The power behind the flower: what makes a plant flower? New Sci., 134 (1818): 24-7.

- COSTA, O. M. M. , 1982. Morfologia e desenvolvimento de *Euphorbia heterophylla* L. Agronomia sulriograndense, 18: 59-66.
- EVANS, L. T. (Ed.), 1969. The Induction of Flowering. MacMillan, Melbourne.
- FELIPPE, G. M. , 1978. Effects of photoperiod, GA3 and CCC on flowering of *Panicum maximum*. Hoehnea, 7: 11-16.
- GIFFORD Jr., E. M. & NITSCH, C. , 1970. Cytohistological and hormonal studies of floral initiation in *Plumbago indica*. IN Bernier, G. (Ed.). Cellular and molecular aspects of floral induction. P: 304-315.
- GILSON, M. , 1957. Evolution quantitative de l'acide indol-acétique chez *Hyosciamus niger*, en rapport avec la sexualisation et la floraison. Bull. Acad. roy. Belg., (Sci 5) 43: 778-798.
- GOH, C. J. & SEETOH, H. C. , 1973. Apical control of flowering in an orchid hybrid, *Aranda Deborah*. Ann. Bot., 37: 113-119.
- HOAD, G. V. ; LENTON, J. R. ; JACKSON, M. B. & ATKIN, R. K. , 1987. Hormones Action in Plant Development - A Critical Appraisal. Butterworth & Co (publishers) ltda. London. 315 p.
- HULEWICZ, D. , 1963. The influence of growth regulators on development of hemp. Acta. Agrobot., 13: 81-116.

- JACOBS, W. P. , 1979. Plant Hormones and Plant Development. - Cambridge University Press, New York - London.
- JACOBS, W. P. , 1985. The role of auxin in inductive phenomena. Biol. Plant. (PRAHA), 27(4-5): 303-309.
- KHATOON, S. ; SEIDLOVÁ, F. & KREKULE, J. , 1973. Time dependence of auxin and ethrel effects on flowering in *Chenopodium rubrum* L. Biol. Plant., 15: 261-263.
- KREKULE, J. & SEIDLOVÁ, F. , 1973. Treatments that enhance flowering in the pos-inductive period of a short-day, *Chenopodium rubrum*. Ann. Bot., 37: 615-623.
- KREKULE, J. & PRÍVRATSKÝ, J. 1974. The shoot apex as the site of an inhibitory effect of applied auxin on photoperiodic induction of flowering in the short-day plant *Chenopodium rubrum* L. Z. Pflanzenphysiol, 71: 345:348.
- KREKULE, J. ; PAVLOVÁ, L. ; SOUCKOVÁ, D. & MACHACKOVÁ, I. , 1985. Auxin in flowering of short-day and long-day *Chenopodium* species. Biol. Plant. (PRAHA), 27(4-5): 310-317.
- LAGÔA, A. M. M. A. & PEREIRA, M. F. D. A. , 1984. Efeito correlativo de órgãos na iniciação floral em *Phaseolus vulgaris* cv. goiano precoce. An. IV. Congr. SBSP. 1-6.

- LANG, A. , 1984. Die Photoperiodische Regulation von Forderung und Hemmung der Blütenbildung. Ber. Dtach. Bot. Ges., 97: 293-314.
- LORENZI, H. (coord.), 1990. Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional. 3 ed. - Nova Odessa, S.P. Ed. Plantarum. p: 127-128.
- LYNDON, R. F. & BATTEY, N. H. , 1985. The growth of the shoot apical meristem during flower initiation. Biol. Plant., 27: 339-349.
- McDANIEL, C. N. ; SINGER, S. R. & SMITH, S. M. E. , 1992. Development states associated with the floral transition. Dev. Biol., 153(1): 59-69.
- METZGER, I. D. , 1987. Hormones and reproductive development. In: Plant hormones and their role in plant growth and development. Martinus Nijhoff Publishers. p: 431-462.
- MONTEIRO, R. W. & GIFFORD Jr., E. , 1988. Morphological aspects of the shoot apex of *Stevia rebeudiana* Bertoni (Asteraceae) during transition to flowering. Revta. Brasil. Bot., 11: 1-10.
- NANDA, K. K. ; KRISHNAMWORTHY, H. N. & LATA, K. , 1969. Effect of decapitation, phosphon-D and cycocel on the flowering of *Impatiens balsamina* exposed to varying numbers of short days. Plant Cell Physiol., 10: 357-362.

- NITSCH, J. P. & NITSCH, C. , 1965. The induction of flowering in *Nicotiana*. III-Variations in the level of endogenous growth substances. Am. J. Bot., 52: 591-598.
- NITSCH, J. P. , 1966. Phytohormones et genèse des bourgeons végétatifs et floraux. In: Les phytohormones et l'organogenèse. Institut de Botanique, Service de physiologie végétale, Liège. p: 265-299.
- ODÉN, P. C. & HEIDE, O. M. , 1989. Quantitation of gibberellins and indoleacetic acid in *Begonia* leaves: Relationship with environment, regeneration and flowering. Physiol. Plant., 76: 500-506.
- PAVLOVÁ, L. & KREKULE, J. , 1984. Fluctuation of free AIA under inductive and non-inductive photoperiods in *Chenopodium rubrum*. Plant Growth Regulation, 2: 91-98.
- PENEL, C. ; GASPAR, T. H. & GREPPIN, H. , 1985. Rapid inteorgan communications in higher pants with special reference to flowering. Biol. Plant., 27: 334-338.
- PHILLIPS, I. D. J. , 1969. Apical dominance. In: Wilkins, M. B. (ed.), Physiology of plant growth and development, McGraw Hill, London.

- PRÍVRATSKÝ, J. ; TYKVA, R. & KREKULE, J. , 1976. The possible role of auxin in reversing photoperiodic induction of flowering in a short-day plant *Chenopodium rubrum* L. Z. Pflanzenphysiol Bd., 78: 377-386.
- REECE, P. C. , FURR, J. R. & COOKER, W. C. , 1946. The inhibiting effect of the terminal bud on flower formation in the axillary buds of the Haden Mango (*Mangifera indica* L.). Am. J. Bot., 33: 209-210.
- SALISBURY, F. B. , 1955. The dual role of auxin in flowering. Plant Physiol., 30: 327-334.
- SEIDLOVÁ, F. & KHATOON, S. , 1976. Effects of indol-3yl-acetic acid on floral induction and apical differentiation in *Chenopodium rubrum* L. Ann. Bot., 40: 37-42.
- SEIDLOVÁ, F. , 1985. Growth regulators in changing apical growth at transition to flowering. Biol. Plant. (PRAHA), 27(4-5): 350-359.
- SHARMAN, K. V. ; SEDGLEY, M. & ASPINALL, D. , 1990. Disruption by temperature of floral evocation and cell-cycling in the shoot apical meristem of *Helipterum roseum* (Asteraceae). Austr. J. Plant Physiol., 17: 629-640.
- SIQUEIRA, L. O. M. , 1989. Crescimento, propagação e floração de *Desmodium barbatum* (L.) Benth. Tese de mestrado. Unicamp.

- SUDA, C. N. K. , 1991. Sementes de *Euphorbia heterophylla* L. (Amendoim-Bravo): Ocorrência de polimorfismo e controle da germinação. Tese de mestrado. Unicamp.
- SUDDIHIYAM, P. ; STEER, B. T. & TURNER, D. W. , 1992. The flowering of sesame (*Sesamum indicum* L.) in response to temperature and photoperiod. Aust. J. Agric. Res., 43: 1101-1116.
- TELTSCHEROVÁ, L. ; PAVLOVÁ, L. & PLESKOTOVÁ, D. , 1976. Changes in the content of endogenous auxins in apical buds of *Chenopodium rubrum* L. Induced with respect to the endogenous rhythm in capacity to flower. Biol. Plant.(PRAHA), 19(3): 205-211.
- TISSERAT, B. & GALLETA, T. D. , 1988. *In vitro* flowering in *Amaranthus*. Hort. Sci., 23:210-212.
- VÁLIO, I. F. M. & ROCHA, R. F. , 1977. Effects of photoperiod and growth regulator on growth and flowering of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Jap. J. Crop. Sci., 46(2): 243-248.
- VINCE-PRUE, D. , 1975. Photoperiodism in Plants. McGraw Hill Book Company, London, 444pp.
- WACHOWICZ, C. M. , 1991. Desenvolvimento foliar e crescimento em *Euphorbia heterophylla* L. Tese de mestrado. Unicamp.

- WILSON, A. K. , 1981. *Euphorbia heterophylla*: a review of distribution, importance and control. Trop. Pest Manag., 27: 32-38.
- YANG, F. S. & HOFFMAN, N. E. , 1984. Ethylene biosynthesis and its regulations in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol., 35: 155-189.
- ZAIDAN, L. B. P. , 1987. Efeitos do fotoperíodo no crescimento, floração e conteúdo de carboidratos em *Hyptis brevipes* Poit. (Labiatae). Tese de doutorado. Unicamp.
- ZEEVAART, A. D. , 1969. *Perilla*. In: Evans, L. T. (ed.). The Induction of Flowering- Some cases histories. New York, Cornell University Press. p: 116-155.