



VILNA PALAZETTI DE ALMEIDA 1/64

Tuberização em *Sinningea allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae), uma espécie do cerrado

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato(a) Vilma Palazetti de Almeida 12/04/94 e aprovada pela Comissão Julgadora. [Signature]

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, como pré-requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Orientador: Profa. Dra. Rosely Rocha Sharif [Signature]

CAMPINAS

1994

AL64t  
21992/BC

Aos meus pais Santi e Giacomina,  
com muito carinho

OFEREÇO

Aos meus filhos Dante e Daniel

DEDICO

## AGRACECIMENTOS

A Profa. Dra Rosely Rocha Sharif, do Departamento de Fisiologia Vegetal (UNICAMP) pela orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. Gil Martins Felipe, pela orientação, incentivo e dedicação nas etapas finais de dissertação da tese.

A Dra Rita de Cássia Figueiredo Ribeiro, do Instituto de Botânica de São Paulo pelas sugestões valiosas desde o início deste trabalho e pela criteriosa revisão na fase de pré-banca.

A Dra Maria Angela Machado de Carvalho, pelas sugestões apresentadas na fase de pré-banca.

A Profa. Dra Simone L. Kirszenzaft Sheppard pela orientação dada nos experimentos em cultura "in vitro".

A funcionária Dulce Regina G. Joaquim, do Departamento de Fisiologia Vegetal pelo auxílio técnico nos experimentos em cultura "in vitro".

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas de estudo.

Ao Instituto de Botânica de São Paulo pela permissão concedida para a coleta de sementes de *Sinningea allagophylla* dentro da Reserva em Moji-Guaçu (SP).

Aos Professores e funcionários do Departamento de Fisiologia Vegetal (IB) da UNICAMP, pelo convívio e auxílio prestados.

Aos colegas de curso pela amizade e sugestões durante o decorrer do trabalho.

Agradecimento especial aos membros de minha família, pelo sacrifício, paciência e compreensão.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho

## INDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E METODOS	
2.1. Material botânico.....	15
2.2. Estádios fenológicos em plantas do cerrado.....	15
2.3. Crescimento de plântulas com até 42 dias de idade em condições controladas.....	16
2.3.1. Solução nutritiva.....	18
2.3.2. Terra de cerrado.....	18
2.3.3. Nitrogênio e fósforo.....	19
2.3.4. Substâncias reguladoras de crescimento incluindo inibidor de síntese de giberelinas.....	19
2.3.5. Fotoperíodo.....	20
2.4. Crescimento em casa de vegetação, de plantas a partir dos 3 meses de idade.....	20
2.4.1. Crescimento em terra de cerrado.....	22
2.4.2. Estádios fenológicos.....	22
2.4.3. Fotoperíodo.....	22
2.4.4. Substâncias reguladoras de crescimento incluindo inidores de síntese de substâncias de crescimento	23
2.5. Propagação vegetativa	
2.5.1. Estacas.....	23

2.5.1.1. Aplicação de substâncias reguladoras de crescimento.....	24
2.5.1.2. Fotoperíodo.....	24
2.5.2. Cultura "in vitro".....	26
2.5.2.1. Obtenção de plantas estéreis e explantes.....	26
2.5.2.2. Inoculação e manutenção das culturas.....	27
2.5.2.3. Meio de cultura contendo diferentes concentrações combinadas de substâncias reguladoras de crescimento.....	28
2.5.2.4. Efeito de CCC e do fotoperíodo.....	28
2.6. Extrações e dosagens	
2.6.1. Carboidratos solúveis e amido.....	29
2.6.2. Compostos fenólicos.....	30
2.7. Análise estatística.....	30

### 3. RESULTADOS

3.1. Observações preliminares	
3.1.1. Aspectos fenológicos em plantas no cerrado.....	31
3.1.2. Órgão subterrâneo espessado.....	34
3.2. Crescimento de plântulas em condições controladas	
3.2.1. Efeito de nutrientes minerais.....	35
3.2.2. Efeito do toperíodo.....	41
3.2.3. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento..	57
3.3. Crescimento de plantas em casa de vegetação.....	70
3.3.1. Aspectos fenológicos.....	81
3.3.2. Efeito do fotoperíodo.....	86

3.3.3. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento..	92
3.4. Propagação vegetativa	
3.4.1. Propagação a partir de estacas de folhas.....	110
3.4.2. Propagação vegetativa por cultura de tecidos .....	120
4. DISCUSSÃO.....	132
5. RESUMO.....	148
6. LITERATURA CITADA.....	150

## ÍNDICE DE FIGURAS

	página
FIG. 1 - Plântula de <i>Sinningea allagophylla</i> , com 20 dias.....	17
FIG. 2 - Estacas utilizadas para os estudos de propagação vegetativa de plantas de <i>Sinningea allagophylla</i> .....	25
FIG. 3 - Fenograma de <i>S. allagophylla</i> crescendo no cerrado. Observações efetuadas de agosto de 1991 a setembro de 1992.....	32
FIG. 4 - Dados pluviométricos (A) e de temperatura (B) de maio de 1991 a agosto de 1992 na Reserva Biológica de Moji-Guaçu.....	33
FIG. 5 - Diâmetro do hipocótilo de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia com diferentes concentrações de solução nutritiva .....	38
FIG. 6 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia com diferentes concentrações de solução nutritiva .....	39
FIG. 7 - Diâmetro do hipocótilo de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia lavada (a) e terra de cerrado (c), com solução nutritiva 40%.....	42
FIG. 8 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia lavada (a) e terra de cerrado (c) com solução nutritiva 40%.....	43
FIG. 9 - Altura da plântula (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% completa, sem nitrogênio ou sem fósforo.....	41
FIG.10 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia com solução nutritiva 40% completa, sem nitrogênio ou sem fósforo .....	45



FIG.11 - Altura da plântula (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de <i>S.allagophylla</i> sob fotoperíodos de 8h ou 18h, crescidas em areia com solução nutritiva 40%.....	48
FIG.12 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> sob fotoperíodo de 8h ou 18h crescidas em areia com solução nutritiva 40% .....	52
FIG.13 - Altura da plântula (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> mantidas sob fotoperíodo de 18h, ou 8h de luz acrescido de 10h de luz de baixa intensidade luminosa, crescidas em areia com solução nutritiva 40% .....	53
FIG.14 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> mantidas sob fotoperíodo de 18h, ou 8h de luz acrescida de 10h de luz de baixa intensidade luminosa, crescidas em areia com solução nutritiva 40% .....	54
FIG.15 - Altura da plântula (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de GA <sub>3</sub> semanalmente...	58
FIG.16 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de GA <sub>3</sub> semanalmente.....	59
FIG.17 - Desenho em câmara clara, de plântulas com 14, 21 28 e 35 dias de idade tratadas com GA <sub>3</sub> e do controle.....	62
FIG.18 - Altura (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de 2, 3 e 4 aplicações de GA <sub>3</sub> .....	63
FIG.19 - Altura (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de CCC semanalmente.....	65

FIG.20 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de CCC semanalmente.....	66
FIG.21 - Altura (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia com solução nutritiva 40% acrescida de BA semanalmente.....	69
FIG.22 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de BA semanalmente.....	71
FIG.23 - Desenho em câmara clara de plântulas com 28 e 35 dias de idade, tratadas com BA e do controle.....	72
FIG.24 - Altura (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de 1 ou 2 aplicações de AIA.....	75
FIG.25 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de 1 ou 2 aplicações de AIA .....	76
FIG.26 - Altura da parte aérea (A) e diâmetro do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em vasos com terra adubada ou com terra de cerrado .....	79
FIG.27 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de <i>S. allagophylla</i> crescidas e vasos com terra adubada e com terra de cerrado .....	80
FIG.28 - Fenograma de <i>S. allagophylla</i> crescendo em casa de vegetação. Observações efetuadas de dezembro de 1990 a setembro de 1992.....	83
FIG.29 - Altura da parte aérea de <i>S. allagophylla</i> durante 21 meses.....	84
FIG.30 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado de <i>S. allagophylla</i> durante 21 meses.	85

FIG.31 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de <i>S. allagophylla</i> durante 21 meses.....	87
FIG.32 - Altura da parte aérea de plantas de <i>S. allagophylla</i> mantidas sob fotoperíodo de 8, 18h ou natural.....	89
FIG.33 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado de plantas de <i>S. allagophylla</i> mantidas sob fotoperíodo de 8, 18h ou natural.....	90
FIG.34 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de <i>S. allagophylla</i> mantidas sob fotoperíodo de 8, 18h ou natural .....	91
FIG.35 - Altura da parte aérea, de plantas mantidas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com GA <sub>3</sub> ou CCC.....	96
FIG.36 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com GA <sub>3</sub> ou CCC.....	98
FIG.37 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com GA <sub>3</sub> ou CCC.....	99
FIG.38 - Altura da parte aérea de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com GA <sub>3</sub> , CCC ou Paclobutrazol.....	102
FIG.39 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com GA <sub>3</sub> , CCC ou Paclobutrazol.....	103
FIG.40 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com GA <sub>3</sub> , CCC ou Paclobutrazol.....	104
FIG.41 - Altura da parte aérea de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com BA.....	106
FIG.42 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com BA.....	107

FIG.43 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com BA.....	108
FIG.44 - Altura da parte aérea de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com CEPA $\omega$ AgNO <sub>3</sub> .....	
FIG.45 - Diâmetro (A) e volume (B) de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com CEPA $\omega$ AgNO <sub>3</sub> .....	112
FIG.46 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de <i>S. allagophylla</i> tratadas com CEPA $\omega$ AgNO <sub>3</sub> .....	115
FIG.47 - Estacas tipo "D" de <i>S. allagophylla</i> sob a ação de fotoperíodo de 18h, mostrando dois padrões de desenvolvimento: tuberização (esquerda) e crescimento de gemas (direita) .....	123
FIG.48 - Tuberização "in vitro" em meio MS contendo BA 0,1 $\mu$ g/ml após 90 dias de inoculação de explantes-2 de <i>S. allagophylla</i> .....	127
FIG.49 - Efeito do fotoperíodo e do meio de cultura no desenvolvimento de explantes-2 de <i>S. allagophylla</i> em cultura em "in vitro".....	131

## INDICE DE TABELAS

	página
TAB. 1 - Análise da terra de cerrado, coletada na Reserva Biológica de Moji-Guaçu (SP).....	19
TAB. 2 - Dimensões do órgão subterrâneo espessado de <i>S. allagophylla</i> em diferentes estádios fenológicos, em plantas coletadas no cerrado.....	36
TAB. 3 - Carboidratos solúveis e amido no órgão subterrâneo espessado de plantas de <i>S. allagophylla</i> coletadas no cerrado, em diferentes estádios fenológicos.....	37
TAB. 4 - Efeito de diferentes concentrações da solução nutritiva de Hoagland sobre o número de pares de folhas em plântulas de <i>S. allagophylla</i> ....	40
TAB. 5 - Efeito da ausência de nitrogênio e fósforo da solução nutritiva de Hoagland 40% sobre o número de pares de folhas em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	46
TAB. 6 - Efeito da ausência de nitrogênio e fósforo da solução nutritiva de Hoagland 40% sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo de plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	47
TAB. 7 - Efeito dos fotoperíodos de 8h e 18h sobre o número de pares de folhas em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	50
Tab. 8 - Efeito dos fotoperíodos de 8h e 18h sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	51
TAB. 9 - Efeito do fotoperíodo de 18h sobre o número de pares de folhas em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	55
Tab. 10 - Efeito do fotoperíodo de 18h sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas <i>S. allagophylla</i> .....	56

TAB. 11 - Efeito do GA <sub>3</sub> em plântulas sobre o número de pares de folhas em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	60
TAB. 12 - Efeito do GA <sub>3</sub> sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	61
TAB. 13 - Efeito de números diferentes de aplicações de GA <sub>3</sub> sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de <i>S. allagophylla</i> ...	64
TAB. 14 - Efeito da aplicação de CCC sobre o número de pares de folhas em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	67
TAB. 15 - Efeito da aplicação de CCC sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	68
TAB. 16 - Efeito da aplicação de BA sobre o número de pares de folhas em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	73
TAB. 17 - Efeito da aplicação de BA sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	74
TAB. 18 - Efeito da aplicação de AIA sobre o número de pares de folhas em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	77
TAB. 19 - Efeito da aplicação de AIA sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de <i>S. allagophylla</i> .....	78
TAB. 20 - Razão Órgão subterrâneo espessado/planta toda (%), em plantas de <i>S. allagophylla</i> crescidas em terra adubada e de cerrado.....	82
TAB. 21 - Razão órgão subterrâneo espessado/planta toda (%) de <i>S. allagophylla</i> crescida em casa de vegetação.....	88
TAB. 22 - Razão órgão subterrâneo espessado/planta toda (%) de <i>S. allagophylla</i> crescida em casa de vegetação sob fotoperíodo de 8, 18h e natural (FN).....	93

TAB. 23	- Efeito dos fotoperíodos de 8, 18h e natural (FN) sobre o número de pares de folhas em plantas de <i>S. allagophylla</i> .....	94
TAB. 24	- Carboidratos solúveis e amido do órgão subterrâneo espessado em plantas de <i>S. allagophylla</i> com 6 meses de idade, sob fotoperíodo de 18h, 8h e natural (FN).....	95
TAB. 25	- Efeito da aplicação de GA <sub>3</sub> e CCC sobre o número de pares de folhas total, em plantas de <i>S. allagophylla</i> com 4 meses de idade.....	97
TAB. 26	- Razão Órgão subterrâneo espessado/planta toda (%), em plantas de <i>S. allagophylla</i> com 3 e 4 meses de idade, tratadas com GA <sub>3</sub> e CCC ..	101
TAB. 27	- Carboidratos solúveis e amido do órgão subterrâneo espessado de plantas de <i>S. allagophylla</i> com 5 meses de idade tratadas com GA <sub>3</sub> e CCC e Paclobutrazol.....	105
TAB. 28	- Razão Órgão subterrâneo espessado/planta toda (%), de <i>S. allagophylla</i> com 4 meses de idade tratadas com BA.....	109
TAB. 29	- Razão órgão subterrâneo espessado/planta toda (%), de <i>S. allagophylla</i> com 4 meses de idade, tratadas com CEPA e solução de nitrato de prata (AgNO <sub>3</sub> ).....	114
TAB. 30	- Efeito da aplicação de CEPA e AgNO <sub>3</sub> sobre o número de pares de folhas em plantas de <i>S. allagophylla</i> com 3 meses de idade.....	115
TAB. 31	- Propagação vegetativa em diferentes tipos de estacas de <i>S. allagophylla</i> após 30 dias em vermiculita.....	116
TAB. 32	- Propagação vegetativa em estacas do tipo "D" de <i>S. allagophylla</i> provenientes de plantas com 5 ("jovens") e 8 ("velhas") meses de idade na propagação vegetativa .....	118
TAB. 33	- Efeito da aplicação de substâncias reguladoras de crescimento na propagação vegetativa de estacas tipo "D" de <i>S. allagophylla</i> .....	119

TAB. 34 - Efeito da aplicação de AIB na propagação vegetativa de estacas tipo "D" de <i>S. allagophylla</i> .....	121
TAB. 35 - Efeito do fotoperíodo na propagação vegetativa de estacas tipo "D" de <i>S. allagophylla</i> .....	122
TAB. 36 - Efeito de diferentes combinações de ANA e BA sobre explantes-1 de <i>S. allagophylla</i> , após 90 dias em cultura "in vitro" com meio MS.....	124
TAB. 37 - Efeitos de diferentes concentrações de ANA, BA e GA <sub>3</sub> sobre explantes-2 de <i>S. allagophylla</i> , após 60 dias em cultura "in vitro" em meio MS.....	126
TAB. 38 - Efeito do CCC sobre explantes-2 de <i>S. allagophylla</i> , após 60 dias em cultura "in vitro" com meio MS.....	129
TAB. 39 - Efeito do fotoperíodo de 8 e 18h e do meio de cultura no desenvolvimento de explantes-2 de <i>S. allagophylla</i> , após 4 meses.....	130



## 1. INTRODUÇÃO.

Em numerosas espécies vegetais, órgãos de natureza bem determinada, como raiz, caule ou folha, possuem a capacidade de num dado momento do ciclo vegetativo retardar seu crescimento em alongamento e acumular substâncias de reserva, geralmente glicídicas, ocorrendo uma hipertrofia radial do órgão. Dependendo da origem do órgão de reserva, este pode receber designações diversas como tubérculo, cormo, pseudobulbo e rizoma quando originados do caule; quando formados a partir da folha ou raiz são denominados de bulbo e raiz tuberosa respectivamente. Esses órgãos encontram-se geralmente localizados subterraneamente (HARTMANN & KESTER, 1968)

Plantas que possuem órgãos de reserva são, invariavelmente, herbáceas perenes, nas quais a parte aérea morre ao final do período anual de crescimento. Após um período de dormência variável estes órgãos rebrotam a partir do desenvolvimento de suas gemas, estas utilizam as reservas acumuladas anteriormente assegurando assim, um novo período de desenvolvimento. Os dois principais ciclos climáticos que geram estes processos são o ciclo quente e frio das regiões temperadas e o ciclo úmido e seco, das regiões tropicais e subtropicais (HARTMANN & KESTER, 1968). Outra função destes órgãos especializados, é a propagação vegetativa que se processa através de estruturas que se destacam naturalmente, como nos bulbos e cormos, sendo este processo denominado separação. No caso das plantas em que estes órgãos precisam ser cortados em secções como é feito em rizomas, tubérculos ou raízes tuberosas, o processo é denominado divisão (HARTMANN & KESTER, 1968).

Alguns destes órgãos, tais como os encontrados em batata, beterraba, mandioca, inhame, são de importância econômica e constituem bons exemplos de plantas que possuem um mecanismo altamente eficiente de armazenamento de energia sob forma de carboidratos. Segundo MERCIER (1985), em tubérculos de batata, raízes de mandioca e inhame, o amido é o principal polissacarídeo de reserva insolúvel em água, podendo ser armazenado nas células vegetais em grande quantidade, em plastídios especiais

denominados amiloplastos. Inulina, um polímero de frutose, é outro carboidrato de reserva encontrado em algumas espécies que apresentam estes órgãos especializados. Armazenado em grandes quantidades no vacúolo, na forma solúvel em estado coloidal, podendo ser osmoticamente ativo através de mecanismos de polimerização e despolimerização (DIETRICH & FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1986).

A utilização do amido como alimento pelo homem e suas numerosas aplicações industriais, bem como o uso da inulina como fonte de frutose têm desencadeado uma série de pesquisas tanto sobre processos que favorecem o desenvolvimento desses órgãos, como sobre a natureza e metabolismo das substâncias de reserva. Um levantamento dos carboidratos de reserva presentes em órgãos subterrâneos de espécies nativas brasileiras de mata e cerrado, permitiu detectar espécies como *Vernonia herbacea* e *Viguiera discolor* (Compositae) como potencialmente econômicas para exploração e para estudos fisiológicos e metabólicos (FIGUEIREDO-RIBEIRO, et al., 1986). Vinte e seis espécies nativas e exóticas do gênero *Dioscorea* L. (carás) também foram descritas quanto a suas características fenológicas, nomes populares, habitats, importância na medicina popular e distribuição geográfica (CHU & FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1991), sendo este o primeiro passo para qualquer estudo posterior destas espécies.

Apesar da constatação da existência de altos níveis de açúcares nos órgãos de reserva, estes não induzem o processo de formação desses órgãos especializados, apesar de serem necessários como fonte de energia para o crescimento dos tubérculos (VINCE-PRUE, 1975).

Tuberização é o termo aplicado, indiscriminadamente, para a formação de diferentes tipos de órgãos de reserva. Em *Solanum tuberosum*, pode-se reconhecer três etapas de desenvolvimento no processo de tuberização (EWING, 1987):

- a. indução da tuberização, onde não há sinais visíveis do tubérculo, cuja velocidade depende das condições ambientais;
- b. iniciação da tuberização, que se caracteriza primariamente pela parada do alongamento do estolço. Em estudos anatômicos observa-se que na zona subapical do estolço ocorre um

entumescimento acrópeto nos entrenós devido a um intenso crescimento radial, que é consequência de um alargamento celular seguido de divisões celulares;

c. crescimento dos tubérculos com acúmulo concomitante de substâncias de reserva, que ocorre muito cedo na ontogênese do tubérculo, e é acompanhado pelo desenvolvimento de altos níveis de patatinas, uma glicoproteína única do tubérculo (PAIVA et al. 1983).

Na formação do bulbo de cebola, apesar do órgão ter origem diferente, o processo é semelhante ao da batata. Primeiramente cessa o crescimento do meristema apical e da raiz, havendo um entumescimento lateral das folhas jovens (HEATH & HOLASWORTH, 1948 in LEOPOLD & KRIEDEMANN, 1975).

A síntese de patatina está intimamente correlacionada com a tuberização em batata e conseqüentemente, tem sido usada como um marcador bioquímico da tuberização (PARK et al., 1985). Também chamada de tuberina (KOSIER & DESBOROUGH, 1981), representa um grupo de glicoproteínas heterogêneas (P.M. 40.000) que compreendem 40-45% da proteína solúvel do tubérculo (PARK et al., 1983). A patatina normalmente está presente somente no tubérculo, mas pode ser acumulada nos pecíolos de estacas; esta acumulação pode ocorrer sem o entumescimento do estolço, porém é acompanhada do acúmulo de grandes quantidades de amido (PARK et al., 1985). A quantificação da patatina nos pecíolos de estacas com folhas tem sido usada como um método para determinar o potencial de tuberização em diferentes variedades de batata (WHEELER et al., 1988).

Devido ao interesse econômico das várias espécies que apresentam órgãos subterrâneos espessados, o fenômeno da tuberização vem sendo largamente estudado quanto aos fatores ambientais e endógenos, que controlam a iniciação e o desenvolvimento desses órgãos.

O órgão de reserva forma-se de preferência subterraneamente, provavelmente o principal fator que influencia este fato seja a ausência de luz, podendo a resistência física das partículas do solo também estar envolvida (EWING, 1987). Sob condições adversas, tubérculos de *Solanum tuberosum* formam-se

na parte aérea a partir de gemas axilares sendo, nestes casos, menores e clorofilados. Um sistema de estudo que permite descobrir quais as condições que induzem a tuberização são estacas de folhas originadas de plantas expostas a diferentes condições ambientais (EWING, 1985).

A maioria das plantas que formam órgãos de reserva, reagem similarmente às condições ambientais como fotoperíodo, temperatura e suprimento de nitrogênio. Em geral, fotoperíodos curtos e baixos níveis de nitrogênio promovem a iniciação e o desenvolvimento e altas temperaturas inibem a formação desses órgãos (MELIS & VAN STADEN, 1984). Em várias espécies a formação de órgãos de reserva depende ou é acelerada pela exposição da planta a um fotoperíodo particular. São exemplos de plantas que tuberizam em fotoperíodos curtos: *Solanum tuberosum*, *Begonia* sp, *Dahlia* sp, *Helianthus tuberosus*, *Phaseolus multiflorus*, *Gladiolus* sp e *Oxalis* sp (VINCE-PRUE, 1975). *Begonia tuberhybrida* forma tubérculos aéreos e subterrâneos em fotoperíodo curto de 10 a 12 horas (LEWIS, 1953). *Begonia evansiana* também produz tubérculos subterrâneos e aéreos, porém somente os aéreos estão sob controle fotoperiódico (ESASHI, 1960 in VINCE-PRUE, 1975). Em *Solanum tuberosum*, o fotoperíodo longo atrasa a tuberização promovendo maior crescimento das porções aéreas e dos estolões, que são mais numerosos e ramificados (EWING, 1987). Entretanto, existem espécies do gênero *Allium* que tuberizam em fotoperíodos longos, como cebola, cebolinha e alho (VINCE-PRUE, 1975). Experimentos de fotoperíodo e enxertia intraespecífica em *Solanum tuberosum* sugeriram a hipótese de que a indução da tuberização seria devida a um estímulo produzido pela folha (GREGORY, 1956). Assim, quando a folha de uma planta doadora exposta a fotoperíodo curto era enxertada em uma planta receptora exposta a fotoperíodo longo, a tuberização ocorria, mesmo sob esta condição não indutiva (GREGORY, 1956; CHAPMAN, 1958; KUMAR & WAREING, 1974). O estímulo da tuberização ocorre mesmo em enxertias interespecíficas. NITSCH (1965) demonstrou que plantas de *Helianthus tuberosus* (alcachofra de Jerusalém) tuberizavam, mesmo em condições não indutivas, quando enxertadas com folhas de *Helianthus annuum* (girassol), que haviam sido expostas a fotoperíodo curto, e não

tuberizavam quando haviam sido expostas a fotoperíodo longo. Plantas de tabaco, cuja floração é controlada pelo fotoperíodo, fora usadas por CHAILAKHYAN (1985) e MARTIN et al. (1982) para comprovar o efeito do fotoperíodo na tuberização de enxertos de *Solanum tuberosum*. Assim se uma planta de tabaco que requeria fotoperíodo curto para florescer tinha suas folhas expostas a fotoperíodo curto, ela induziria a tuberização em enxertos de *Solanum tuberosum*. Outra variedade de tabaco que requeria fotoperíodos longos para florescer, induziria a tuberização em enxertos com *Solanum tuberosum* se suas folhas fossem expostas a fotoperíodos longos.

Segundo VINCE-PRUE (1975), o controle fotoperiódico na formação de órgãos de reserva engloba todos os aspectos do fotoperiodismo. A folha é o sítio receptivo; um ou mais estímulos produzidos pelas folhas são translocados para as regiões de resposta; o comprimento da noite determina a resposta e o fitocromo é o pigmento fotorreceptor. A fotorreversibilidade vermelho-vermelho extremo também foi comprovada em *Solanum tuberosum*, desde que a interrupção do período de escuro com 5 minutos de luz vermelha reduziu a tuberização enquanto que a vermelho-extremo reverteu o efeito da luz vermelha (BATUTIS & EWING, 1982).

O fato de que a formação de órgãos de reserva poder ser induzida pela exposição de partes da folha aos ciclos indutivos (HAMNER & LONG, 1939), pode ser considerado como uma evidência da produção pelas folhas de estímulos transmissíveis que promovem a tuberização, em sítios receptores específicos. Porém, há também evidências da produção de estímulos transmissíveis inibidores, produzidos nas folhas quando expostas a fotoperíodos não indutivos. ESASHI (1961) estudando a formação de tubérculos aéreos de *Begonia evansiana*, observou que a indução da tuberização decrescia quando a relação entre a área foliar exposta a fotoperíodo curto ou exposta a fotoperíodo longo também decrescia. A translocação do estímulo da tuberização para a região de resposta pode ser comprovada em experimentos de anelamento do caule. Mesmo em condições indutivas, o anelamento do caule inibe a tuberização de *Solanum tuberosum* (EWING, 1987).

A temperatura é outro fator do ambiente que tem influência na tuberização de plantas. Esta influência pode ser exercida isolada ou conjuntamente com o fotoperíodo. Em *Solanum tuberosum*, a temperatura ótima para a tuberização é por volta de 17°C e temperaturas superiores a 30°C são inibidoras (ALVEY, 1965). *Helianthus tuberosus* é outra espécie que também necessita de temperaturas baixas para tuberizar (MARSDEN-RAY, 1958). As temperaturas elevadas são favoráveis à tuberização de algumas espécies, que em geral, formam seus órgãos tuberosos sob dias longos como cebola (HEATH & HOLDSWORTH, 1948), alho (NITSCH, 1966) e cebolinha (JENKING, 1954). A produtividade de *Solanum tuberosum* no campo é reduzida sob altas temperaturas (LEVY, 1986). Em climas quentes, uso de "cobertura vegetal" (mulches) para resfriar o solo permite o aumento na produção de batata (MIDMORE, 1984). REYNOLDS & EWING (1989), estudando o efeito de altas temperaturas do solo e do ar na tuberização, concluíram que se o solo fosse aquecido (27-35°C) não haveria o desenvolvimento de tubérculos, mesmo se o ar fosse mantido a baixas temperaturas (17-27°C). Mesmo em espécies tropicais, como *Pachyrrhizus tuberosus*, que tuberizam em fotoperíodos curtos (abaixo de 16h), regimes alternados de altas temperaturas e fotoperíodo (30°C/25°C sob 13h luz/11h escuro) inibem a formação de raízes tuberosas (ALVARENGA & VALIO, 1989).

O efeito do fotoperíodo e da temperatura na indução depende da irradiância sob a qual a planta está crescendo. Respostas inibitórias em *Solanum tuberosum* a fotoperíodos longos e altas temperaturas são exacerbadas em baixos níveis de irradiância (MENZEL, 1985).

Um outro fator ambiental que afeta a indução da tuberização, é a quantidade de nitrogênio disponível para a planta. Se por um lado altos níveis de nitrogênio presentes no solo reduzem a tuberização (SIMPSON, 1962), baixas temperaturas podem inibir a absorção do nitrogênio, promovendo a tuberização (BURT, 1964). Em solução hidropônica, mesmo sob fotoperíodo curto, a tuberização em *Solanum tuberosum* pode ser evitada pelo suprimento contínuo de nitrato de amônia e a tuberização ocorre se o suprimento de nitrogênio for interrompido (KRAUSS &

MARSCHNER, 1971 in SATTELMACHER & MARSCHNER, 1978c).

Embora possam existir outros fatores,, as informações até agora apresentadas sugerem que a tuberização está sob controle hormonal. Existe uma série de trabalhos que visa detectar as mudanças nos níveis de fitormônios endógenos correlacionadas com mudanças no grau de indução da tuberização. Uma das primeiras mudanças notada, é o decréscimo na atividade giberelínica (KUMAR & WAREING, 1974).

Em folhas de *Solanum andigena* há um declínio da atividade giberelínica após exposição a apenas dois fotoperíodos curtos (RAILTON & WAREING, 1973). Baixa irradiância, que tende a inibir a tuberização, aumentou a atividade giberelínica em folhas de *Solanum tuberosum*, mesmo expostas a fotoperíodos curtos. Sob fotoperíodos longos, os níveis destas substâncias se mantiveram altos, independentemente dos níveis de irradiância (WOOLLEY & WAREING, 1972). Existem evidências de que altas temperaturas do ar estimulam a produção de giberelinas em gemas caulinares de *Solanum tuberosum* (PONT-LEZICA, 1970; MENZEL, 1983b). A sensibilidade das gemas à temperaturas altas é maior do que a das folhas, pois quando as gemas são retiradas, o efeito inibidor de temperaturas altas é diminuído (MENZEL, 1981). Além de inibir a tuberização em *Solanum tuberosum*, fotoperíodos longos, temperaturas altas e baixa irradiância produzem efeitos sobre a morfologia do caule, os quais coincidem com os efeitos conhecidos das giberelinas (MENZEL, 1985). A aplicação exógena de giberelinas (GAs) parece mimetizar o efeito das condições não indutivas. A aplicação de GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub>, GA<sub>5</sub>, GA<sub>7</sub> e GA<sub>9</sub> inibe a tuberização em estacas de folhas de *Solanum tuberosum* (TIZIO, 1971). Quando patatina, indicador bioquímico da tuberização em *Solanum tuberosum*, foi investigado em estacas tratadas com GA<sub>3</sub>, observou-se baixos níveis desta glicoproteína (HANNAPEL et al., 1985).

O local de maior biossíntese de GA é na raiz (WILKINS, 1985). TIZIO (1964) denominou "fator da raiz" à substância sintetizada no sistema radicular que inibia a tuberização de explantes de batata cultivados "in vitro". A promoção da tuberização foi obtida após a remoção de raízes ou através da inibição de seu crescimento com altos níveis de ácido

naftaleno acético (1µg/ml). Tratamento com cloreto de 2-cloroetila trimetilamônia (CCC), que bloqueia a síntese de GAs, é outra forma de examinar o efeito deste fitormônio. O CCC estimula a formação de tubérculos em estacas de *Solanum tuberosum* cultivadas "in vitro" sem afetar o crescimento normal das raízes, sendo que este efeito pode ser revertido pela aplicação exógena de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) (TIZIO, 1969). GUINZU et al, (1988), tratando estacas de *Solanum tuberosum* com CCC, observaram ausência de GAs endógenas livres nas raízes, concluindo que o "fator da raiz" que inibia a tuberização durante o crescimento da raiz compreendia substâncias com atividade giberelínica. Os mesmos autores concluíram que CCC não reduzia o volume radicular, mas inibia a síntese de GAs e estimulava a formação de formas conjugadas e portanto inativas. Neste caso, CCC não estava atuando especificamente como um inibidor de síntese, mas também alterando o metabolismo, como observado em pepino (SNIR & VESSLER, 1975). Em cenoura, GA<sub>3</sub> reduziu a concentração de açúcares armazenados na raiz tuberosa (Mc KEE et al., 1984). Nesta espécie a sacarose é necessária para a diferenciação de células do floema em tecidos de calos (WHETMORE & RIER, 1963); sugere-se que o controle da partição de assimilados pode ocorrer via regulação da translocação de açúcares para o câmbio (Mc KEE & MORRIS, 1986). O GA<sub>3</sub> reduz significativamente a razão de área floema/xilema em raízes tuberosas de vários cultivares de cenoura (Mc KEE & MORRIS, 1986), efeito principalmente obtido pela redução da quantidade de floema secundário produzido pelo câmbio da raiz tuberosa. Os autores sugerem que como o crescimento da raiz tuberosa é devido principalmente à expansão das células do floema secundário e das células do xilema, o efeito do GA reduzindo este tecido, tornaria o tecido de reserva incapaz de armazenar os assimilados translocados. Alternativamente, o aumento significativo na atividade do caule atuando como um dreno, reduziria a quantidade de assimilados translocados para a raiz. Plantas de *Solanum tuberosum* tratadas com GA<sub>3</sub> apresentam maior peso seco do estolço e da parte aérea, em relação ao controle, havendo um atraso na tuberização (LOWEL & BOTH, 1967). Ao contrário, explantes de *Solanum tuberosum*, fortemente



induzidos, parecem canalizar seus assimilados para a produção de tubérculos, havendo pouco ou nenhum crescimento do caule ou raízes, ainda que o explante inclua a gema apical do caule (EWING, 1987).

A alteração no metabolismo de carboidratos causada por GAs também tem sido sugerida por alguns autores. Assim, diminuição do acúmulo de amido e aumento nos níveis de açúcares solúveis foi obtida pela aplicação de GA<sub>3</sub> no ápice caulinar de *Solanum tuberosum* (BOOTH & LOVELL, 1972). VALIO & PEREIRA (1984), estudando o efeito inibidor de GA sobre a tuberização aérea de *Solanum tuberosum* concluíram que GA<sub>3</sub> causou a redução do conteúdo de amido nas gemas induzidas, sem alteração da atividade de alfa-amilase. Alternativamente, GA<sub>3</sub> pode afetar enzimas envolvidas na síntese de amido. A atividade de fosforilase aumenta com a deposição de amido em estolões de *Solanum tuberosum* cultivados "in vitro" (OBATA-SASAMOTO & SUZUKI, 1979a). Durante a iniciação da tuberização na ponta do estolão de *Solanum tuberosum*, há um decréscimo nos níveis endógenos de GAs e um aumento na atividade de fosforilase; porém, amido sintetase só é encontrada nos estádios posteriores do processo de tuberização (OBATA-SASAMOTO & SUZUKI, 1979b). Reduções na atividade de ADPG-pirofosforilase e da taxa ADPG-pirofosforilase/amido fosforilase têm sido relacionada com a aplicação de GA<sub>3</sub> no tubérculo de *Solanum tuberosum*. (MARES et al., 1981).

Outro grupo de hormônios que mostrou mudanças em seu nível sob condições indutoras foi o das citocininas. Em *Solanum tuberosum*, por exemplo, o conteúdo de zeatina ribosídeo, encontrada nas folhas foi 29% mais elevado em extratos de tecidos induzidos (MAUK & LANGILLE, 1978). O nível máximo de citocininas nos estolões ocorreu entre 4 e 6 dias após exposição às condições indutivas, havendo depois disso, um declínio atribuído ao transporte da ponta do estolão (FORSLINE & LANGILLE, 1975). OBATA-SASAMOTO & SUZUKI (1979b) e KODA (1982) também demonstraram o efeito promotor das citocininas na tuberização em *Solanum tuberosum*, uma vez que seus níveis endógenos aumentaram nas raízes e nos estolões após sua transferência para fotoperíodos curtos. A presença de citocininas também promoveu a tuberização

em plantas de *Solanum tuberosum* cultivadas "in vitro" (MAUK & LANGILLE, 1978). A associação entre tuberização e aumento da atividade citocinínica em caules foi observada quando o suprimento de nitrogênio era alterado. Em *Solanum tuberosum*, a ausência de nitrogênio provoca decréscimo na atividade citocinínica no caule o que, segundo SATTELMACHER & MARSCHNER (1978a) está relacionado ao decréscimo da translocação de citocininas da raiz. Os mesmos autores (SATTELMACHER & MARCHNER, 1978b) também mostraram que a ausência temporária de nitrogênio também promovia a tuberização, aumentando temporariamente a atividade citocinínica na raiz. A inibição da tuberização por suprimento contínuo de nitrogênio está associada a um decréscimo na atividade citocinínica da raiz, como resultado de um aumento da translocação deste regulador para a parte aérea (SATTELMACHER & MARSCHNER, 1978b). Os autores sugerem que um aumento da atividade citocinínica da parte aérea após tuberização está relacionado com o efeito descrito por NOESBERGER & HUMPHRIES (1965), onde ocorreria um aumento na atividade fotossintética da folha ("fonte") para compensar um aumento do requerimento de assimilados do tubérculo em crescimento ("dreno").

A interrupção de nitrogênio aumenta o conteúdo de ácido abscísico (ABA) em *Solanum tuberosum* (KRAUSS, 1978) e em girassol (GOLDBACH et al., 1975). O aumento do conteúdo de ABA, após a interrupção do suprimento de nitrogênio em condições indutivas de tuberização, concorda com a hipótese de OKAZAWA & CHAPMAN (1962), na qual a tuberização em *Solanum tuberosum* somente ocorre se a taxa de promotores/inibidores na planta for alta; neste contexto ABA é considerado como um promotor deste processo. KRAUSS & MARSCHNER (1982) trabalhando com plantas de *Solanum tuberosum* cultivadas em solução hidropônica com interrupção do suprimento de nitrogênio e em condições de fotoperíodo e temperatura (12h e 20°C) favoráveis a tuberização, observaram que a razão ABA/GA no caule era relativamente alta. Esta relação diminuía quando o suprimento de nitrogênio era contínuo e havia aumento de temperatura ou ampliação do fotoperíodo. Em *Solanum tuberosum* quando o suprimento de nitrogênio é interrompido, a exportação de ABA das raízes é

aumentada (KRAUSS, 1978) e há parada do crescimento da parte aérea, associada aos baixos níveis de GAs (KRAUSS & MARSCHNER, 1982). A hipótese de que a tuberização é controlada em parte pela razão ABA/GA é reforçada pelos trabalhos utilizando CCC ou por aplicações de ABA no caule (EL-ANTABLY et al, 1967).

WAREING & JENNINGS (1980), trabalhando com estacas de plantas de *Solanum tuberosum* induzidas por fotoperíodos curtos, demonstraram que a presença das folhas era primordial para a tuberização; estas poderiam ser substituídas pela aplicação de ABA na ponta do pecíolo cortado. A tuberização, entretanto não ocorria em estacas de plantas não induzidas, mesmo se ABA fosse aplicado. Segundo VREUGDENHIL & STRUIK (1989) este dado indica que ABA é essencial para a iniciação da tuberização, porém outro fator presente no caule e/ou nas gemas axilares das plantas induzidas também é necessário. Entretanto mutantes "Wilty" de *Solanum tuberosum* que possuem baixos níveis de ABA, produzem tubérculos, o que coloca em questão a exigência de ABA para a iniciação da tuberização em condições naturais (QUARRIE, 1982).

Segundo EWING (1987), a aplicação exógena, de uma série de substâncias de crescimento em plantas intactas de *Solanum tuberosum* incluindo auxinas, ABA, citocininas, ácido 2-cloroetilfosfônico (etefon), foi inefetiva na indução da tuberização, podendo apenas aumentar o número de tubérculos formados sob condições indutivas.

As hidroxi-cinamoil-putrecinas (HCAs), que são formas conjugadas de ácidos hidroxicinâmico (como ácido caféico, ácido ferúlico e ácido p-cumárico) e aminas (como putrescina, espermidina e espermina), podem também estar envolvidas no processo de tuberização em plantas (MARTIN-TANGUY, 1985). EWING (1985) usando um sistema de tuberização "in vitro" combinado com inibidores da fenilalanina amonialiase (PAL), que bloqueiam a acumulação de HCAs, indicou que os níveis de HCAs não influenciam a tuberização das culturas de *Solanum tuberosum*.

O etileno também foi indicado como promotor da iniciação de tubérculos em *Solanum tuberosum* (GARCIA-TORRES & GOMEZ-CAMPO, 1973), porém sua aplicação promove a formação de tubérculos, sem haver deposição de amido nos mesmos (CATCHPOLE &

HILLMAN, 1969). O etileno porém, não reverte o efeito inibidor da tuberização causado por altas temperaturas diurnas (32°C durante o dia/18°C durante a noite), como acontece com aplicações exógenas de benziladenina, (BA) (MENZEL, 1985). Por outro lado, outros pesquisadores (MINGO-CASTEL et al., 1976) observaram que etileno inibia a tuberização de *Solanum tuberosum*. Segundo VREUGDENHIL & STRUIK (1989), esta contradição resulta de uma dupla ação do etileno, que inibe o alongamento do estolço, permitindo a iniciação da tuberização, porém inibe etapas posteriores do processo de tuberização. Assim sendo, é esperado que "in vivo" a produção de etileno seja elevada por um curto período e depois decresça; neste caso, a produção de etileno resultaria de um atrito do estolço com as partículas do solo. Após o alongamento do estolço ter cessado, o estresse mecânico decresceria, como também a produção de etileno, capacitando a formação de tubérculos por outros fatores reguladores (VREUGDENHIL & STRUIK, 1989). Os mesmos autores ainda sugerem que a iniciação da tuberização não é regulada apenas por um fator promotor, como as citocininas, porém dependeria da interação entre vários hormônios. Assim, quando ocorre um aumento da razão etileno/giberelinas, citocininas promoveriam a tuberização.

A interação e ação destes estímulos ainda não estão claras, especialmente no que se refere a genes específicos, cuja expressão pode ser influenciada por estes fatores. Mudanças no modelo da expressão gênica nos estádios iniciais da tuberização, foram observadas através da análise de proteínas extraídas da ponta do estolço e de tubérculos de *Solanum tuberosum* (TAYLOR et al., 1991; HANNAPEL, 1991). TAYLOR et al., (1992) isolaram dois genes, TUBS19 e TUBL7, que aumentavam significativamente a expressão gênica durante os estádios iniciais da tuberização em *Solanum tuberosum*. Os autores sugerem a importância de se isolar e analisar os promotores desses genes e determinar seu modelo de expressão.

*Sinningea allagophylla* (Martius) Wiehler, nome válido de *Rechsteineria spicata* (Gesneriaceae), a espécie estudada neste trabalho, é uma planta herbácea de caule erecto simples, piloso, que se origina de um tubérculo grande, subterrâneo. Suas flores são pequenas, com corola tubulosa côr-de-abóbora reunidas em cachos terminais de 25 a 30cm de comprimento (FERRI, 1969). Esta espécie tem distribuição pelo Brasil (Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul), Paraguai, Argentina e Uruguai (CHAUTEMS, 1993), ocorre na Reserva Biológica de Moji-Guaçu (SP), na Reserva Biológica do Ibicuí-Mirim (RS) (SILVEIRA, 1991), regiões tropicais periodicamente secas no inverno. Portanto, *S. allagophylla*, vive em ambientes que sofrem mudanças cíclicas das condições climáticas, onde se percebe um período com condições favoráveis ao crescimento, seguido por períodos em que o desenvolvimento é lento ou até inteiramente suspenso. O sucesso de *S. allagophylla* está em possuir um órgão subterrâneo espessado, no qual suas gemas ficam protegidas no solo, durante as fases desfavoráveis ao crescimento.

Os cerrados estão sob ação de um clima tropical típico: quente, úmido e chuvoso no verão e com invernos secos e tépidos (REIS, 1971). A estação seca estende-se por 4 a 6 meses (RIZZINI & HERINGER, 1961), sendo a média de precipitação nos meses mais secos de 10 a 30mm (EITEN, 1971). Segundo RAWITSCHER & RACHID (1946), muitas espécies procuram temporariamente abrigo no solo, protegendo-se da seca, das temperaturas elevadas na superfície do solo e do fogo, que ocorre com frequência nestas áreas.

*Sinningea allagophylla* foi material de estudos em taxonomia (SILVEIRA, 1991; CHAUTEMS, 1993) e analisada quanto à natureza e teores dos carboidratos presentes no órgão de reserva (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 1986).

Apesar do reconhecimento de que a formação do órgão subterrâneo espessado em espécies do cerrado é um processo de extrema importância para o estabelecimento da planta (RIZZINI & HERINGER, 1961; SELF, 1989) pouco se sabe sobre os fatores ambientais envolvidos no processo de tuberização em espécies do cerrado, assim o estudo da tuberização de *S. allagophylla* seria

de grande valia, aumentando o conhecimento nesta área.

O presente trabalho teve por objetivo estudar a ação de fatores ambientais como fotoperíodo e nutrição mineral no processo de tuberização. O envolvimento de substâncias reguladoras de crescimento, também foi investigado, procurando discriminar aqueles que pudessem estar envolvidos no mecanismo do processo de tuberização. Para tal, diferentes ensaios foram realizados em plântulas, plantas adultas, estacas de folhas e explantes cultivados "in vitro", tentando estabelecer um material biológico mais interessante para esse estudo. Determinação das fases fenológicas da espécie se fez necessária, para estabelecer a melhor época de coleta destes diferentes materiais.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. MATERIAL BOTANICO

Sementes de *Sinningea allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae) foram coletadas de 20 plantas marcadas em área de campo cerrado na Reserva Biológica de Moji-Guaçu (SP-22°15-16.S e 47°8-12.W, 585-635m de altitude) nos meses de novembro, dezembro e janeiro de 1990, 1991 e 1992. Material herborizado foi depositado no Herbário do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetal da UNICAMP (SP) (UEC 056722; det. Allan Chautems/92). As sementes foram armazenadas em frascos escuros em temperatura ambiente, mantendo viabilidade de 60% por um ano, diminuindo rapidamente a partir desse período.

Apesar de *S. allagophylla* ter sido descrita como apresentando tubérculo (HANSTEIN, 1848; FERRI, 1969; SILVEIRA, 1991) os autores não descrevem o critério que foi utilizado para a denominação deste órgão, portanto optou-se neste trabalho por "órgão subterrâneo espessado" ao se referir ao órgão em questão.

### 2.2. ESTÁDIOS FENOLÓGICOS EM PLANTAS NO CERRADO

Os estádios fenológicos da espécie foram acompanhados nas 20 plantas marcadas no campo para coleta de sementes. As observações foram feitas ao longo de 12 meses desde o início da brotação (setembro de 1991) até a conclusão do ciclo anual de desenvolvimento (setembro de 1992). Foram feitas medidas mensais da altura da parte aérea (do solo ao ápice caulinar), do número de ramos por planta, número de folhas, frutos e flores. As medidas foram feitas em 10 a 13 plantas e calculada a média aritmética.

De outro grupo de plantas marcadas foram coletados 3 órgãos subterrâneos espessados por estágio fenológico a saber: no início da brotação (18/09/91), durante a floração (20/11/91), na

senescência total das folhas (25/03/92) e final da dormência antes da brotação seguinte (12/08/92). Determinaram-se o peso de matéria fresca e seca e o volume de cada órgão subterrâneo espessado. De cada um destes foram retirados 5g de material fresco, que foi liofilizado e moído, sendo guardado em local seco e à temperatura ambiente para posterior dosagem de carboidratos.

### 2.3. CRESCIMENTO DE PLANTULAS COM ATÉ 42 DIAS DE IDADE, EM CONDIÇÕES CONTROLADAS

Os ensaios com plântulas, de até 42 dias de idade contados a partir da germinação, foram efetuados em câmara de crescimento, da Forma Scientific, Inc.(USA)-modelo 24, com temperatura e fotoperíodo controlados. As sementes germinaram em placas de Petri, sobre papel de filtro umedecido com água destilada, à temperatura constante de 25°C e sob luz contínua. Após 7 dias as sementes germinadas foram transferidas para recipiente plástico (forma de gelo), contendo por repartição 15ml de areia fina e lavada, umedecida com 6ml de solução nutritiva de Hoagland diluída (40ml de solução de Hoagland e 60ml de água destilada é aqui denominada Hoagland40%), pH5,5 (HOAGLAND & ARNON, 1938). Foram transferidas 6 sementes germinadas por repartição. Os recipientes foram envoltos com plástico transparente, formando uma câmara úmida e mantidos em câmara de crescimento com temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 14h, com intensidade luminosa de  $35,94 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , fornecida por 2 lâmpadas fluorescentes "luz do dia" (Sylvania).

De acordo com o ensaio, foi feita medida do diâmetro do hipocótilo na sua porção mediana. A altura da plântula foi definida neste trabalho como o comprimento entre o ponto de inserção das folhas cotiledonares e o nó do último par de folhas ainda não aberto, mais próximo do ápice caulinar, que possuía no máximo o comprimento de 0,5mm FIG.1). Para estas medidas foi necessário o auxílio de um estereomicroscópio (Mod. Wild M3) e



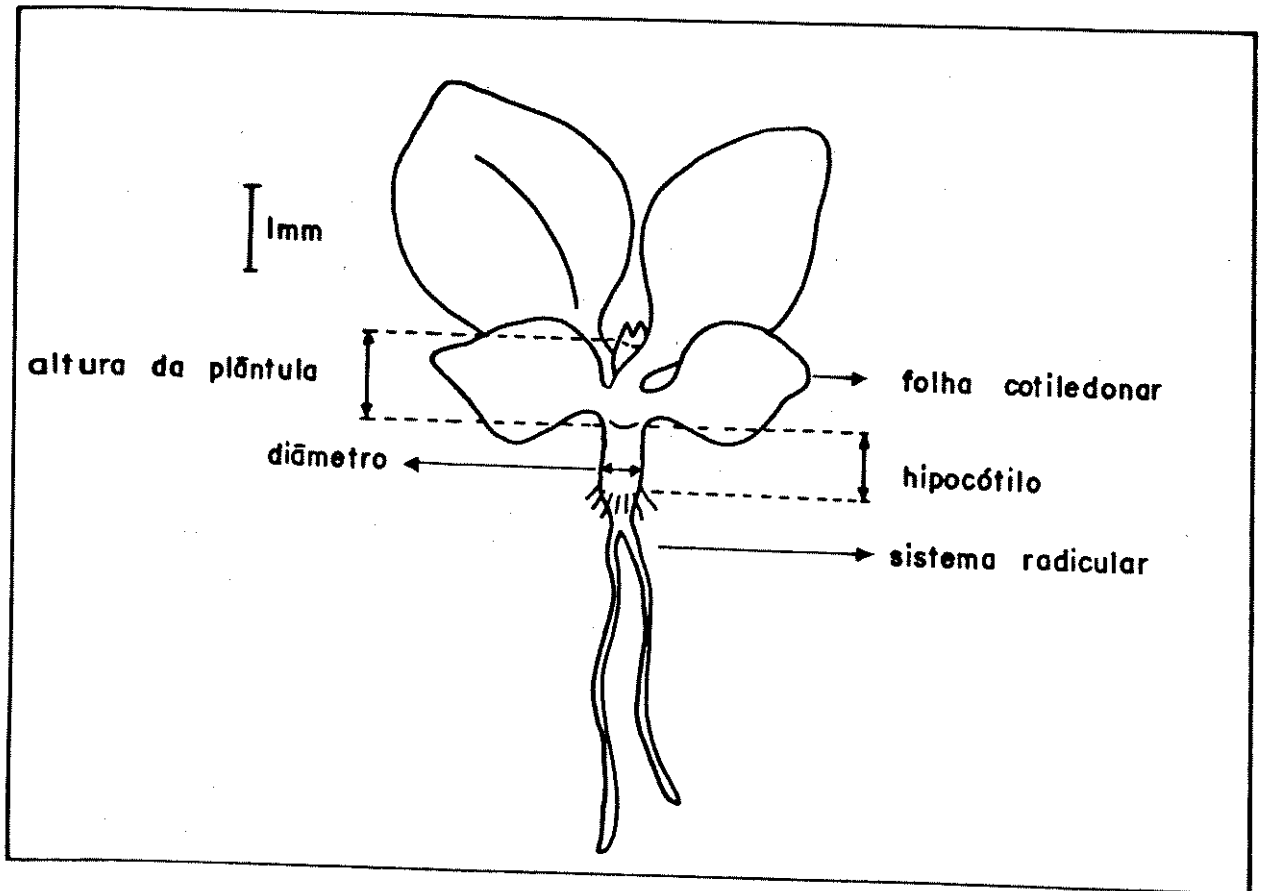


FIG.1 - Plântula de *Sinningea allagophylla*, com 20 dias.

de régua micrométrica. Cada medida corresponde à média de 5 repetições, sendo que cada repetição, foi a média de 5 plântulas de um compartimento do recipiente plástico. Foi também observado o número de pares de folhas (contando-se também as cotiledonares) e a presença de gemas axilares em desenvolvimento.

A região do hipocótilo foi corada a fresco com solução de lugol (iodo 5% - iodeto de potássio 10%), que cora os grãos de amido em preto (JOHANSEN, 1940). A presença de grãos de amido foi observada em microscópio óptico Olympus.

Medidas do peso da matéria fresca e seca de 5 plântulas juntas foram efetuadas em balança analítica Sartorius (precisão de 0,01mg). As plântulas foram secas em estufa a 80°C por 72h; a partir deste tempo já não ocorria perda de peso.

As medidas e observações foram efetuadas aos 14, 21, 28, 35 e 42 dias após o início da germinação.

### 2.3.1. Solução nutritiva

Foi estudado o efeito das concentrações da solução nutritiva de Hoagland 40, 70 e 100% no desenvolvimento das plântulas crescidas em substrato arenoso, tendo água destilada como controle.

### 2.3.2. Terra de cerrado

A terra de cerrado utilizadas nos experimentos foi coletada na Reserva Biológica de Moji-Guaçu (SP) e análise química da mesma foi fornecida pelo Instituto Agrônomo de Campinas (TAB.1). A terra foi umedecida com água destilada ou solução nutritiva de Hoagland 40%.

TABELA 1 - Análise da terra de cerrado, coletada na Reserva Biológica de Moji-Guaçu. A amostra foi retirada do meio metro superficial do solo de profundidade. .

		mEq/100ml TFSA*					S*	T*	V*
P	M.O.	pH-CaCl <sub>2</sub>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	H <sup>+</sup> +Al <sup>+++</sup>			
g.cm <sup>-3</sup>	%								%
1	1,1	3,9	0,05	0,1	0,1	3,8	0,3	4,1	07

TFSA\* = Terra fina seca ao ar

S\* = soma das bases (Ca<sup>++</sup> + Mg<sup>++</sup> + K<sup>+</sup>)

T\* = capacidade de troca catiônica [S + (H<sup>+</sup> + Al<sup>+++</sup>)]

V\* = (S/T)x100

### 2.3.3. Nitrogênio e fósforo

Os efeitos de nitrogênio e fósforo foram analisados através da retirada total de nitrato ou fósforo da solução nutritiva de Hoagland 40%, que umedecia o substrato arenoso.

### 2.3.4. Substâncias reguladoras de crescimento incluindo inibidor de síntese de giberelinas

Estes compostos foram dissolvidos diretamente na solução de Hoagland 40%, ajustando-se posteriormente o pH para 5,5. Com esta solução era umedecido o substrato arenoso. O início e a periodicidade das aplicações dependeram das substâncias estudadas, o que foi previamente determinado em testes com diferentes concentrações das mesmas.

Acido giberélico (GA<sub>3</sub>) 10<sup>-5</sup>M (3,5µg/ml) foi aplicado semanalmente desde o início da embebição ; 6-benzil adenina (BA) 10<sup>-5</sup>M (2,25µg/ml) foi aplicado semanalmente a partir do décimo quarto dia de germinação ; cloreto de 2-cloroetila trimetilamonia

(CCC)  $3,16 \times 10^{-3} M$  ( $500 \mu g/ml$ ) foi aplicado semanalmente a partir do sétimo dia do início da germinação. Ácido indol acético (AIA)  $10^{-5} M$  ( $1,75 \mu g/ml$ ) foi aplicado no 14º dia ou no 14º e 21º dias de germinação.

### 2.3.5. Fotoperíodo

O efeito de três tratamentos fotoperiódicos foram estudados: de 8h (8h de luz fornecida por 2 lâmpadas fluorescentes com intensidade luminosa de  $35,94 \mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ ) e 18h (18h de luz fornecida por 2 lâmpadas fluorescentes com intensidade luminosa de  $35,94 \mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ ) foram estudados sob temperatura constante de  $25^{\circ}C$ , em câmara Forma Scientific. As plântulas tratadas cresceram em substrato arenoso umedecido com solução nutritiva de Hoagland 40%.

Em outro tratamento o fotoperíodo de 18h, sendo 10h de baixa intensidade, foi obtido com 8h de luz fornecida por duas lâmpadas fluorescentes com intensidade luminosa de  $35,94 \mu mol.m^{-2}.s^{-1}$  mais 10h de luz de baixa intensidade fornecida por uma lâmpada incandescente de 6 watts, acoplada a um relógio de controle de 24h.

## 2.4. CRESCIMENTO DE PLANTAS A PARTIR DOS 3 MESES DE IDADE, EM CASA DE VEGETAÇÃO

Nos ensaios efetuados em casa de vegetação, as sementes foram colocadas diretamente em vasos de 500ml, contendo uma mistura de terra <sup>ROXO</sup> adubada esterilizada e areia (2:1), sendo mantidas sob nebulização. Em experimentos preliminares detectou-se a necessidade do uso de terra adubada esterilizada em vista de que após alguns meses em terra não esterilizada o órgão subterrâneo espessado apresentava sinais de necrose e deformação. A esterilização do solo foi feita através de fumigação com cloreto de metila. As plântulas emergiram por volta de 10 a 15

dias após sementeira e somente após 2 meses os vasos foram transferidos para bancadas na casa de vegetação, sob sombrite (corte de 50% da intensidade luminosa), por uma semana, para ambientação. Manteve-se uma planta por vaso, após o desbaste. Após uma semana retirou-se o sombrite e o 3 par de folhas foi marcado com cola plástica, para facilitar a contagem dos pares de folhas a serem formados posteriormente. A partir dos 3 meses de idade as plantas apresentando 5 a 6 pares de folhas em roseta foram submetidas a diferentes tratamentos.

Para cada tratamento efetuado foram utilizadas 10 plantas. O diâmetro do órgão subterrâneo espessado foi obtido seccionando-o na porção longitudinal mediana e medindo-se o diâmetro com régua milimétrica. O volume deste órgão foi obtido através do deslocamento de um volume de água conhecido em uma proveta graduada, após imersão do órgão. O peso da matéria fresca foi determinado logo após a separação da parte aérea do órgão subterrâneo espessado.

O peso da matéria seca da parte aérea foi determinado após secagem em estufa à temperatura de 80°C e pesagem em balança Martius (precisão de 0,001g). Para determinar o peso da matéria seca do órgão subterrâneo espessado sem as raízes, as condições de secagem e pesagem foram as mesmas utilizando-se, no entanto, metade do órgão subterrâneo espessado e extrapolando-se o valor para o peso total deste órgão. A razão peso do órgão subterrâneo espessado/peso da planta toda foi obtida da seguinte maneira:

$$R = \frac{\text{peso da matéria seca do órgão subterrâneo espessado}}{\text{peso da matéria seca da planta toda}} \times 100$$

A altura da parte aérea foi obtida com auxílio de régua milimetrada e foi considerada como sendo a distância entre a superfície do solo do vaso até o nó do último par de folhas próximo ao ápice. O ápice foi considerado como sendo a gema apical e todas as folhas que ainda não ultrapassavam o comprimento de 1cm.

O número total de pares de folhas foi contado e a presença de gemas axilares em desenvolvimento foi observada. A metade de cada um dos órgãos subterrâneos espessados (num total de 10 por tratamento), foram liofilizadas, moídas e guardadas em local seco a temperatura ambiente para posterior extração e dosagem de carboidratos.

#### 2.4.1. Crescimento em terra de cerrado

Comparou-se o crescimento ao longo de onze meses, em terra coletada no cerrado da Reserva Biológica de Moji-Guaçu e em mistura de terra adubada:areia (2:1) esterilizada.

#### 2.4.2. Estádios fenológicos

A observação dos estádios fenológicos, em plantas crescidas em casa de vegetação, foi feita em plantas mantidas em fotoperíodo natural, por cerca de 2 anos desde novembro de 1990 (quando as sementes foram postas para germinar) até setembro de 1992.

#### 2.4.3. Fotoperíodo

Vasos contendo plantas com dois meses de idade permaneceram sob fotoperíodo natural ou foram submetidos aos seguintes tratamentos: o primeiro foi de 18h de luz, obtido através da complementação da luz natural com lâmpadas incandescentes; o segundo foi de 8h de luz natural que foi obtido cobrindo-se a bancada com os vasos com pano grosso de cor preta; o terceiro foi de 18h de luz, sendo 8h de luz natural mais 10h de luz de baixa intensidade, fornecida por lâmpadas de 6watts.

#### 2.4.4. Substâncias reguladoras de crescimento incluindo inibidores de síntese de substâncias de crescimento

A aplicação de substâncias foi feita semanalmente, de forma diferenciada.

a) Dez microlitros de GA<sub>3</sub> nas concentrações de 100, 50 e 10 µg/ml (0,288x10<sup>-3</sup>M, 0,144x10<sup>-3</sup>M e 0,288x10<sup>-4</sup>M respectivamente) foram aplicados sobre a gema apical com auxílio de micropipeta.

b) Foram aplicadas diretamente na terra dos vasos, as seguintes soluções: 20ml de CCC nas concentrações de 500 e 1000 µg/ml (3,16x10<sup>-3</sup>M e 6,33x10<sup>-3</sup>M respectivamente); 20ml de paclobutrazol (clorofenil-dietil-triazol-pentano) (0,021M); 100ml de solução de CEPA (ácido 2-cloroetilfosfônico) nas concentrações de 200 e 400 µg/ml; 100ml de solução de nitrato de prata 100 µg/ml. O controle foi regado com o mesmo volume de água destilada.

c) Dez microlitros de BA 50 µg/ml e 100 µg/ml (0,22x10<sup>-3</sup>M e 0,44x10<sup>-3</sup>M respectivamente) foram aplicados com microagulha no órgão subterrâneo espessado. No controle aplicou-se água destilada com microagulha no mesmo local. As medidas foram obtidas após 4 semanas.

### 2.5. PROPAGAÇÃO VEGETATIVA

#### 2.5.1. Estacas

As estacas foram coletadas de plantas com 5 a 8 meses de idade, mantidas em casa de vegetação. As estacas, tratadas ou não com substâncias reguladoras de crescimento ou inibidores, foram plantadas em bandejas com vermiculita umedecida com água. As bandejas foram mantidas em bancadas de casa de vegetação sob sombrite (corte de 50% da intensidade luminosa) ou em câmara de crescimento, com luz contínua e temperatura constante de 25°C.

Após 30 dias, foi contado o número de estacas que apresentavam calo, raízes e órgão subterrâneo espessado. Cada tratamento foi feito com 20 a 50 estacas. Os tipos de estacas utilizadas estão representados na FIG.2. Foram também comparadas quanto a capacidade de propagação, estacas de folhas jovens (5 meses de idade; totalmente expandidas) e estacas de folhas velhas (8 meses de idade; antes de iniciar a senescência).

#### 2.5.1.1. Aplicação de substâncias reguladoras de crescimento

Foram aplicados, no pecíolo de folhas com gema axilar (estaca do tipo "D"), AIB (ácido indol 3-butírico) 0,5% (50mg/g) e 1% (100mg/g) tendo talco como excipiente. Foram pincelados no limbo foliar, das estacas do tipo "D" e "E", 200ul de solução de BA a 100µg/ml ( $0,44 \times 10^{-3}M$ ) contendo o tensoativo Tween 20. Foram pincelados no limbo foliar, de estacas do tipo "D", 200ul de solução de GA<sub>3</sub>  $10^{-3}M$  (346µg/ml).

Em outro experimento acrescentou-se às soluções de GA<sub>3</sub> e BA, o antioxidante cisteína na concentração de 25 g/ml, para as estacas do tipo "D".

#### 2.5.1.2. Fotoperíodo

Estacas do tipo "D" foram obtidas de plantas que cresceram em casa de vegetação sob fotoperíodo de 8h, 18h e 8h de luz natural acrescido de 10h de luz de baixa intensidade, conforme descrito no item 2.4.3.. Cada par de folhas era separado, sendo uma das folhas mantida no mesmo fotoperíodo em que até então era mantido o par, enquanto que a outra passava para outro tratamento fotoperiódico.



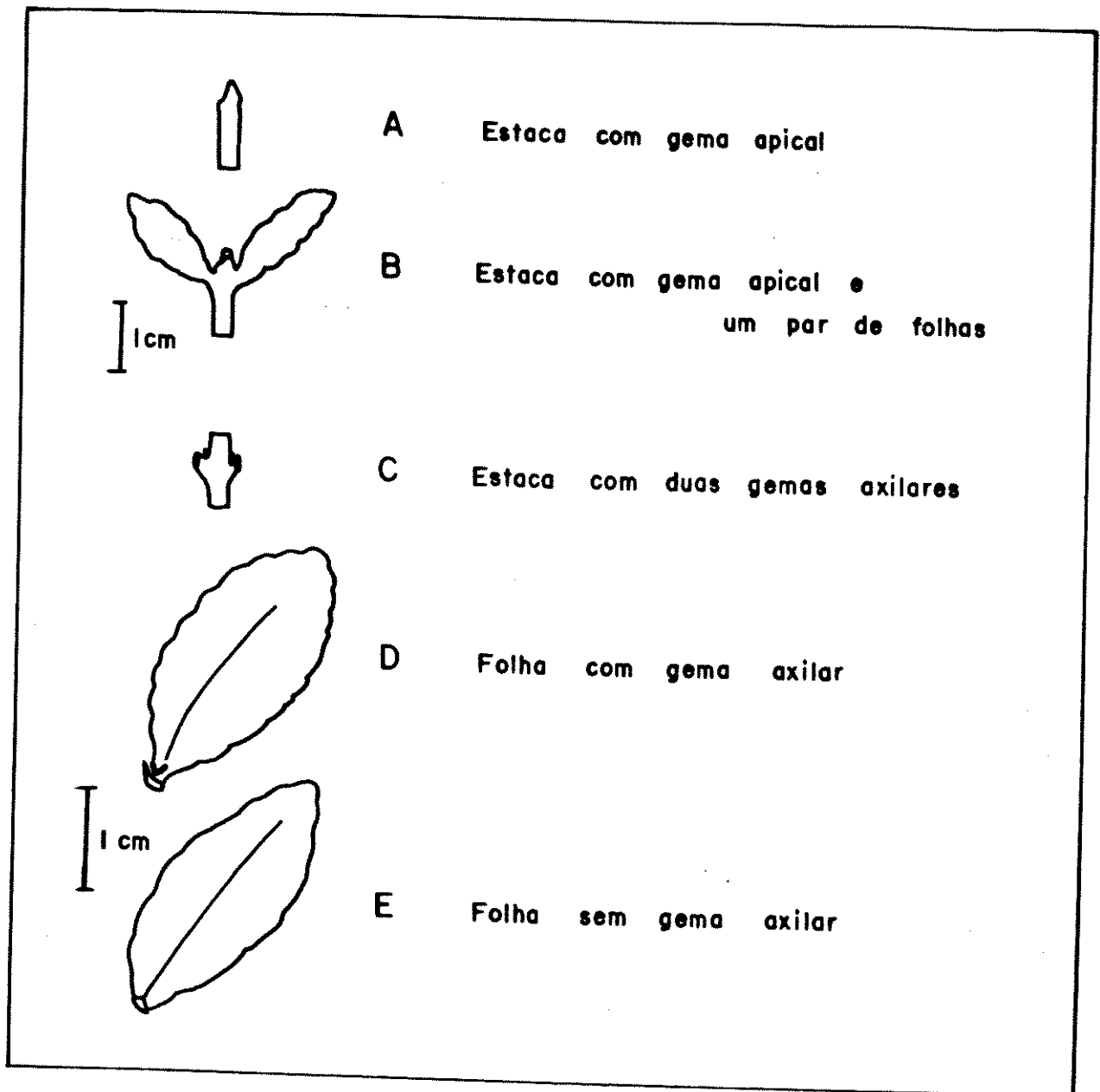


FIG.2 - Estacas utilizadas para os estudos de propagação vegetativa de plantas de *Sinningia allagophylla*.

## 2.5.2. Cultura "in vitro"

Visando facilitar o estudo dos fatores exógenos que controlam o processo de tuberização nesta espécie, desenvolveu-se uma metodologia para a micropropagação "in vitro". Uma das vantagens do uso desta técnica, em relação à da propagação vegetativa a partir de estacas de folhas, foi a obtenção de material biológico durante o ano todo, uma vez que durante o período de dormência esta espécie apresenta perda total da parte aérea.

### 2.5.2.1. Obtenção de plantas estéreis e explantes

Para a produção de plantas estéreis utilizaram-se como explantes, segmentos nodais contendo uma única gema axilar, obtidos de plantas adultas cultivadas em casa de vegetação.

A partir de ensaios preliminares adaptou-se a metodologia descrita por DODDS & ROBERTS (1982), que é descrita pormenorizadamente a seguir:

Apices caulinares de plantas adultas foram removidos para promover o desenvolvimento das gemas axilares. Após 5 dias, cortaram-se as partes aéreas das plantas, que foram lavadas com detergente e água corrente. As gemas axilares da parte mediana do caule foram seccionadas com auxílio de bisturi. As gemas axilares do par de folhas mais jovem e do par de folhas mais velho (basal), foram desprezadas.

Imediatamente após a excisão, os explantes eram mergulhados em solução antioxidante contendo cisteína, ácido ascórbico e ácido cítrico (2, 15 e 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$  respectivamente), contendo uma gota de Tween 20, onde permaneceram sob agitação por 3h à temperatura ambiente.

A partir desta etapa, todo material foi manipulado em câmara de fluxo laminar, em condições estéreis usando-se vidraria e meios de cultura autoclavados.

A solução de antioxidante foi decantada e os explantes colocados em saquinho de rayon 100% "tipo chá" (8 x 8cm), o qual foi mergulhado por 20 segundos em etanol 70% e, em seguida em solução de hipoclorito de sódio 1% onde permaneceu sob agitação constante por 5 minutos. A seguir o saquinho foi lavado exaustivamente em água destilada esterilizada. Após esta etapa o saquinho foi aberto com auxílio de tesoura, sendo os explantes transferidos para o meio de cultura primário de MURASHIGE & SKOOG (1962) (MS), na concentração de 50%. Após 6 dias, os explantes já mostravam sinais de crescimento, como a expansão das folhas, estando assim prontos para transferência para meio de cultura a ser estudado. Este foi considerado o primeiro tipo de explante (explante 1).

Após 2 meses, as plantas cultivadas "in vitro" passaram a ser utilizadas como fonte de novos explantes. Estes consistiam basicamente de um entrenó com uma folha, os quais foram inoculados em diferentes composições do meio de cultura, sendo considerados o segundo tipo de explante (explante 2). Os ápices destas "plantas estéreis" foram repicados em meio básico para, após dois meses, serem fonte de novos explantes.

#### 2.5.2.2. Inoculação e manutenção das culturas

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio de fundo chato, com 8cm de altura x 2,5cm de diâmetro, fechados com tampas de papel alumínio e fita crepe. Em cada tubo, contendo 10ml de meio secundário previamente esterilizado, foi inoculado um único explante. Foram inoculados de 10 a 15 tubos por tratamento.

Os tubos contendo os explantes foram mantidos em câmara de crescimento Forma Scientific Inc. (USA)-modelo 24 com intensidade luminosa de  $35,94 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , fornecida por duas lâmpadas fluorescentes "luz do dia" (Sylvania). O fotoperíodo foi de 14h e temperatura constante de 25°C.

### 2.5.2.3. Meio de cultura contendo diferentes concentrações combinadas de substâncias reguladoras de crescimento

Foram feitos quatro experimentos testando-se diferentes combinações de reguladores de crescimento no meio de cultura. Nos dois primeiros experimentos usou-se explantes do "tipo 1" e nos dois outros, explantes do "tipo 2". Em todos os experimentos as culturas foram mantidas sob luz contínua e temperatura constante de 25°C. Descrição de cada experimento é dada a seguir:

Experimento 1 - os explantes foram inoculados em meio "MS". Foram suplementadas diversas concentrações de BA (0,01 e 0,1µg/ml) e ANA (ácido naftaleno acético)(0,1 e 0,5µg/ml) ao meio, num esquema fatorial 3x3, totalizando 9 tratamentos.

Experimento 2 - os explantes foram inoculados em meio "MS" acrescido de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> (0,1 e 1,0µg/ml) e uma concentração de BA (0,01µg/ml), combinada com ANA (0,1µg/ml), totalizando 10 tratamentos. Não foram feitas as combinações de GA<sub>3</sub> com ANA 0,1µg/ml e BA 0,01µg/ml.

Experimento 3 - os explantes foram inoculados em meio "MS" acrescido de diferentes concentrações de BA (0,01 e 0,1µg/ml) e ANA (0,01 e 0,1µg/ml), num esquema fatorial de 3x3, totalizando 12 tratamentos.

Experimento 4 - os explantes foram inoculados em meio "B5", de GAMBORG et al.(1968), acrescido de AIA (ácido indolil-3 acético)-(0,1µg/ml) e BA (0,1µg/ml), num esquema fatorial 2x2, totalizando 4 tratamentos.

### 2.5.2.4. Efeito de CCC e fotoperíodo

Neste experimento foi utilizado explante-2. O meio de cultura foi "MS" acrescido de CCC perfazendo uma concentração de 1000µg/ml. As culturas foram mantidas em câmara de crescimento com fotoperíodo de 18h ou 8h e temperatura constante de 26°C.

## 2.6. EXTRAÇÕES E DOSAGENS

### 2.6.1. Carboidratos solúveis e amido

Estes compostos foram extraídos pelo método de McCREADY et al. (1950) modificado, sendo utilizadas 3 amostras de 100mg de material liofilizado e moído.

Após liofilização 100 mg de material vegetal foram homogenizados com 10ml de etanol 80%, a 70°C por 5 minutos. Após centrifugação a 25.700g, por 10 minutos, o sobrenadante foi decantado, sendo o procedimento repetido por mais duas vezes. O resíduo foi reservado e os sobrenadantes foram juntados e o volume reduzido para 1ml em evaporador rotatório, sob vácuo. Após evaporação, acrescentou-se água até completar o volume de 10ml. Antes de efetuar a quantificação dos açúcares solúveis do extrato aquoso, este foi clarificado com subacetato de chumbo a 1% em água e posterior centrifugação, conforme YELENOVSKY & GUY (1977).

O resíduo, que havia sido reservado foi homogeneizado a frio com 5ml de ácido perclórico 30% durante 5 minutos. Depois foi centrifugado a 449g. O sobrenadante foi decantado, sendo o resíduo novamente extraído com ácido perclórico. O resíduo da reextração foi descartado e os sobrenadantes foram juntados correspondendo ao extrato de carboidratos insolúveis (amido).

As determinações quantitativas dos carboidratos foram feitas através de método colorimétrico de antrona (YEMM & WILLIS, 1954), sendo cada amostra analisada em triplicata. Para a determinação da curva padrão foi utilizada glicose nas quantidades de 10 g a 60 g. O método consistiu em adicionar 1ml da amostra em 2ml do reagente de antrona, agitando e aquecendo os tubos em banho-maria a 100°C por 5 minutos, para que se completasse a reação. Após o aquecimento e resfriamento em banho de gelo, os tubos foram agitados, feita a leitura da absorbância, calculando-se as

quantidades em função da curva padrão. As leituras da absorbância foram feitas a 620 nm e com elas foi calculada a equação da reta representativa dos pontos obtidos.

O conteúdo de amido foi determinado pelo mesmo método de açúcares totais. O valor obtido em equivalentes de glicose foi multiplicado pelo fator de correção 0,9, conforme McCREADY et al. (1950), para estimativa da quantidade do amido.

### 2.6.2. Compostos fenólicos

Em vista do órgão subterrâneo espessado apresentar intensa oxidação do tecido de reserva quando seccionado e possuir dois padrões de coloração, foi feita a extração de compostos fenólicos neste órgão.

Quinhentos miligramas de pó liofilizado de órgão subterrâneo espessado brancos ou amarelos foram extraídos por lh, com 3 reextrações, com 50ml de etanol 50% em ebulição sob refluxo (HARBONE, 1973). Os extratos foram reunidos e concentrados quase até a secura em evaporador rotatório (60°C). Foram então ressuspensos em etanol 50%, perfazendo um volume final de 25ml. A dosagem dos compostos fenólicos foi feita através do reagente Folin-Denis, usando-se ácido cafeico como padrão (SWAIN & HILLIS, 1959).

### 2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Quando valores médios foram comparados ao longo do tempo, calcularam-se o erro padrão e o limite de confiança das amostras, sendo que as respostas estatísticas foram representadas por barras verticais nas figuras ou expressas nas tabelas.

Experimentos com 2 tratamentos foram comparados pelo teste-T (Student), a nível de significância de 5%.

Nos experimentos com mais de 2 tratamentos, foi feita análise de variância simples, pelo teste F e, se este foi significativo, calculou-se a diferença mínima significativa (DMS) a 5% pelo teste de TUKEY, modificado por SNEDECOR (1962).

### 3.RESULTADOS

#### 3.1. OBSERVAÇÕES PRELIMINARES

##### 3.1.1. Aspectos fenológicos em plantas no cerrado

O fenograma de *S. allagophyla* (FIG.3) foi obtido a partir de observações mensais no campo cerrado da Reserva Biológica de Moji-Guaçu. Os dados apresentados no texto correspondem à média das medidas efetuadas em plantas marcadas.

Em agosto de 1991, não houve qualquer sinal de brotação das plantas. Na segunda quinzena de setembro de 1991, mesmo antes das chuvas e após um período de estiagem de inverno (FIG.4), as plantas apresentavam brotos longos com comprimento médio de 18,6cm (amplitude 6 a 53cm) sem espaçamento entre os entrenós. Apenas 23% das plantas apresentavam mais de um broto (2 a 7 brotos), enquanto 35% já mostravam no ápice caulinar sinais de iniciação da inflorescência.

Na segunda quinzena de novembro, a altura foi de 37,0cm (amplitude 10 a 85cm); 100% das plantas já possuíam inflorescências, sendo que 67% possuíam em média 30 flores (amplitude 20 a 56 flores) no escapo floral, que media 25,5cm (amplitude 13 a 30cm). Em 42% das plantas existiam frutos verdes na base do escapo. Nesta fase, as plantas apresentavam 19 folhas (amplitude 12 a 30 folhas) em disposição oposta ou verticilada. Havia sinais de predação no escapo floral em 8% das plantas.

Em dezembro, as plantas pouco aumentaram em altura, que foi de 40,5cm (amplitude 11,5 a 85cm). Havia em média 21 frutos por planta (amplitude 10 a 30 frutos), alguns já secos e com início da dispersão das sementes pelo (vento). Em apenas 25% das plantas ainda haviam flores. Havia sinais de predação em 58% das plantas.

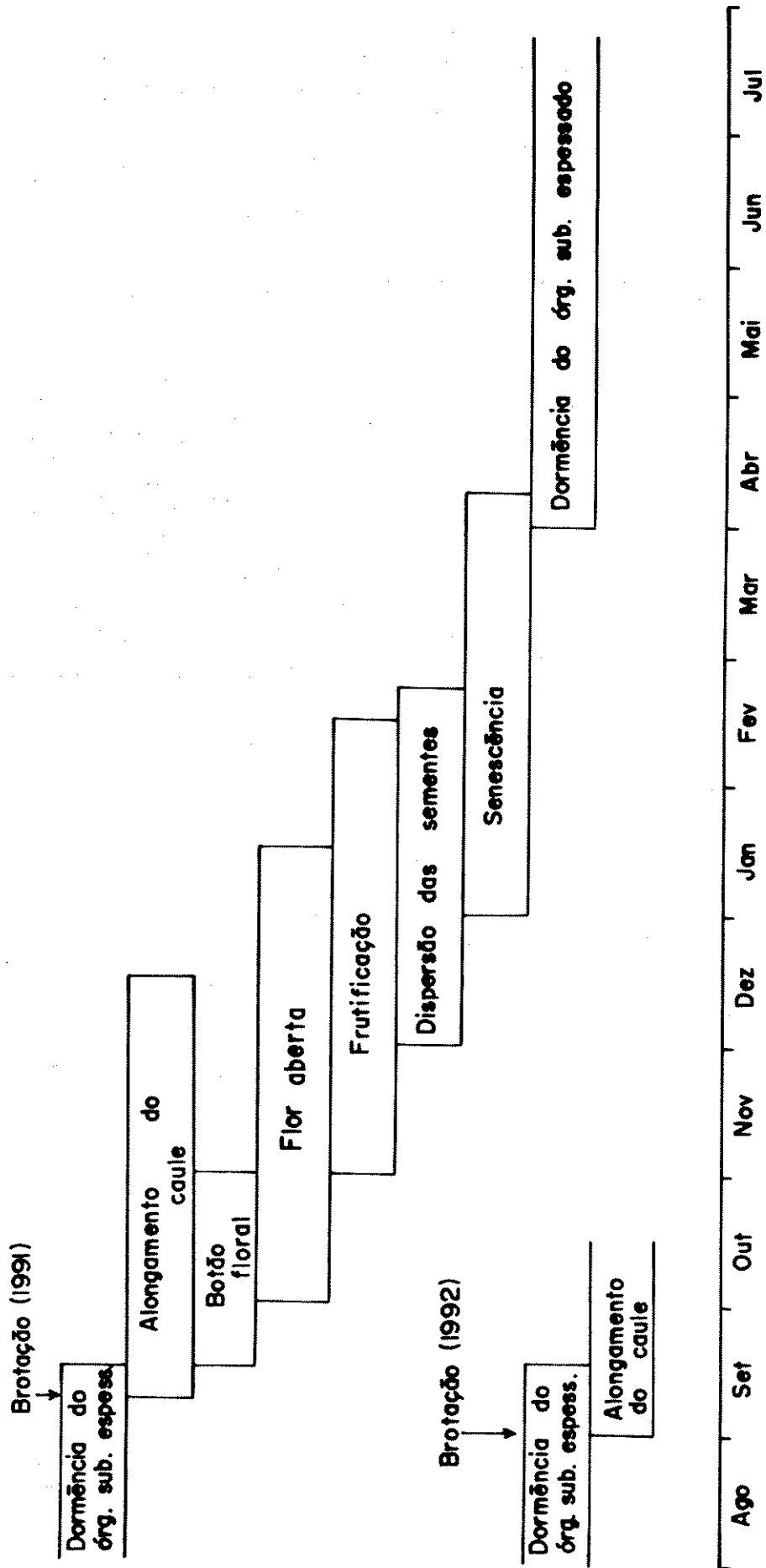


FIG.3 - Fenograma de *S. allagophylla* crescendo no cerrado. Observações efetuadas de agosto de 1991 a setembro de 1992.



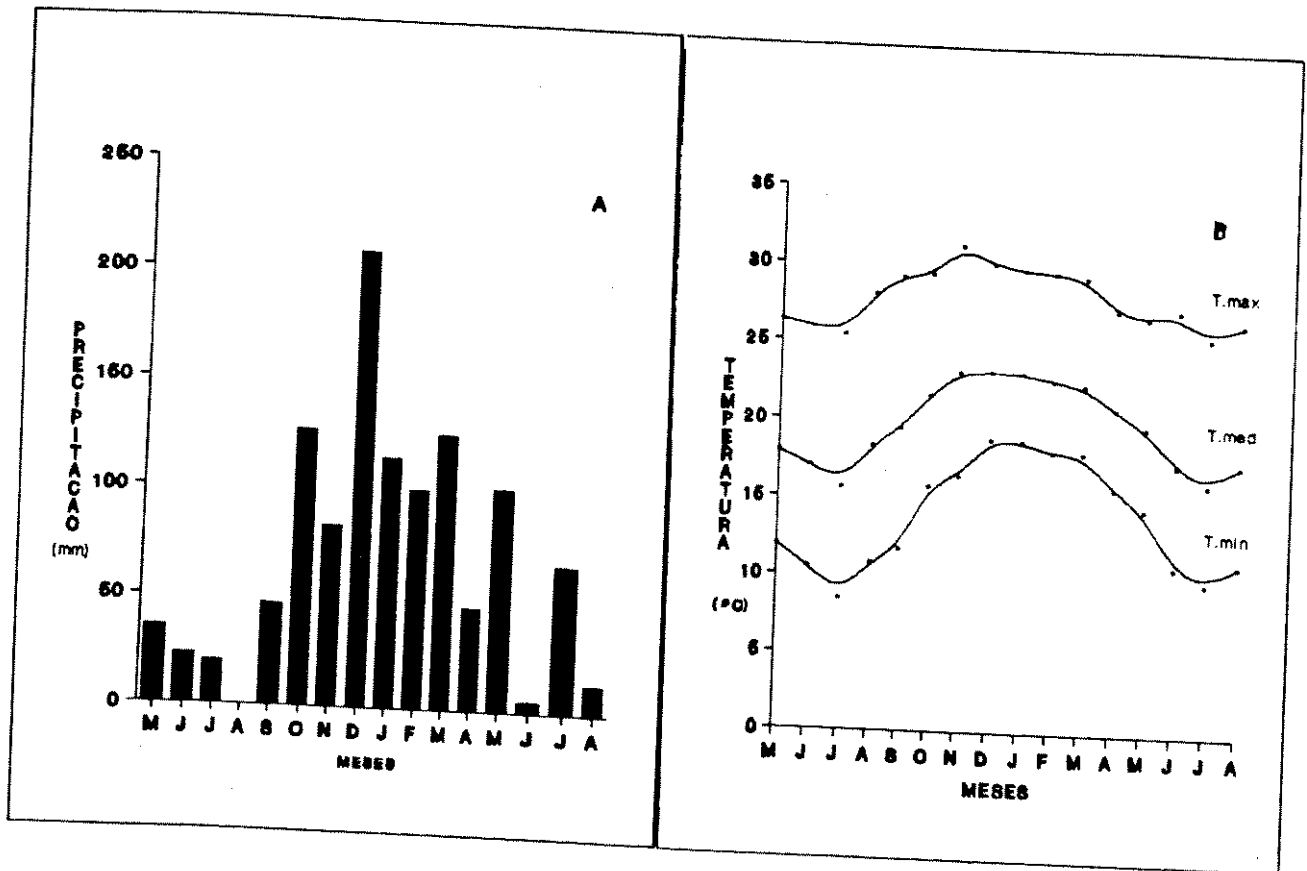


FIG.4 - Dados pluviometricos (A) e de temperatura (B) de maio de 1991 a agosto de 1992 na Reserva Biológica de Moji-Guaçu.

Em janeiro de 1992 houve início do amarelecimento das folhas, terminou a floração, e os escapos estavam com os frutos secos. Nesta época, 75% das plantas apresentavam folhas predadas.

Em fevereiro, 17% das plantas apresentavam brotação das gemas axilares; isto acontecia nas que haviam sofrido predação no início das observações. Estes brotos não se desenvolveram e nem formaram flores e frutos.

Em março, apenas 25% das plantas não senesceram totalmente e não houve qualquer sinal de brotação. A dispersão das sementes já terminara e não ocorreu deiscência dos frutos secos sem sementes, ou das folhas secas.

O período de dormência do órgão subterrâneo espessado foi de abril a agosto de 1992. Na primeira quinzena de setembro de 1992, 50% das plantas brotaram.

### 3.1.2. Órgão subterrâneo espessado

O tamanho do órgão subterrâneo espessado foi observado em três plantas por estágio fenológico. Os órgãos subterrâneos espessados foram desenterrados a uma profundidade de 10cm. Eles apresentavam um sistema radicular pouco desenvolvido em comprimento, porém com muitas raízes curtas. Na parte superior do órgão subterrâneo espessado havia uma região côncava onde estavam alojadas inúmeras gemas caulinares. Num corte longitudinal mediano do órgão subterrâneo espessado, observou-se a existência de um tecido de reserva de cor branca e outros com cor amarela; ambos após serem cortados escureciam, devido à oxidação de fenóis (18,5mg de equivalente de ácido cafeico/g p.s. nos órgãos subterrâneos espessados brancos e 19,7mg de equivalente de ácido cafeico/g p.s. nos amarelos, em plantas com 11 meses de idade crescidas em casa de vegetação). Ensaio preliminares, sobre a natureza química do pigmento amarelo, indicaram ser um pigmento polar possivelmente, um flavonóide.

A idade dos órgãos subterrâneos espessados coletados em campo cerrado era desconhecida. Excetuando-se os órgãos subterrâneos espessados coletados no estágio de brotação, que foram maiores em tamanho, não foram observadas grandes variações no volume, diâmetro, peso da matéria seca e conteúdo relativo de água, nos diversos estádios fenológicos (TAB.2).

A extração e dosagem de carboidratos em órgãos subterrâneos espessados, de plantas coletadas no cerrado indicou que o conteúdo relativo de amido e carboidrato solúvel pouco se alterou nos diferentes estádios fenológicos (TAB.3). No final da senescência houve uma queda significativa nos níveis de amido e o conteúdo relativo de carboidratos solúveis foi alto (TAB.3).

### 3.2. CRESCIMENTO DE PLANTULAS EM CONDIÇÕES CONTROLADAS

#### 3.2.1. Efeito de nutrientes minerais

No primeiro experimento as plântulas foram crescidas em areia e o efeito de três concentrações de solução nutritiva foi testado: 40%, 70% e 100%.

O diâmetro do hipocótilo, que aos poucos se torna o órgão subterrâneo espessado, foi equivalente nas três concentrações testadas (FIG.5). O peso da matéria fresca e seca da plântula foi maior na solução de 70% (FIG.6A,B). A solução a 100% provocou a necrose da ponta da radícula. Apesar da solução de 70% ter apresentado os melhores resultados em termos de peso, observou-se uma heterogeneidade na altura das plântulas. O número de pares de folhas nas três concentrações de solução nutritiva foi equivalente (TAB.4). A solução nutritiva de Hoagland 40% foi escolhida para os experimentos a seguir feitos com plântulas em câmara de crescimento.

No segundo experimento as plântulas eram crescidas em mistura de areia e terra de cerrado. Aos 21 dias de idade, um aumento no diâmetro do hipocótilo foi observado tanto em

TABELA 2 - Dimensões do órgão subterrâneo espessado de *S. allagophylla* em diferentes estádios fenológicos, em plantas coletadas no cerrado.

ESTADIO FENOLÓGICO	PARAMETROS
	VOLUME (ml)
BROTAÇÃO	325 ± 36
FLORAÇÃO	188 ± 52
SENESCÊNCIA	166 ± 22
DORMÊNCIA	177 ± 17
	DIÂMETRO (cm)
BROTAÇÃO	10,0 ± 1,7
FLORAÇÃO	8,0 ± 2,1
SENESCÊNCIA	7,5 ± 1,4
DORMÊNCIA	8,0 ± 0,6
	PESO DA MATÉRIA SECA (g)
BROTAÇÃO	83,1 ± 10,3
FLORAÇÃO	26,9 ± 4,4
SENESCÊNCIA	30,7 ± 4,0
DORMÊNCIA	31,1 ± 4,8
	CONTEÚDO RELATIVO DE ÁGUA (%)
BROTAÇÃO	79,8 ± 2,5
FLORAÇÃO	85,2 ± 1,0
SENESCÊNCIA	83,0 ± 2,3
DORMÊNCIA	83,8 ± 3,2

Valores seguidos do limite de confiança, ao nível de significância de 5%.

TABELA 3 - Carboidratos solúveis e amido no órgão subterrâneo espessado de plantas de *S. allagophylla* coletadas no cerrado, em diferentes estádios fenológicos

ESTADIO FENOLÓGICO	CONTEÚDO DE CARBOIDRATO TOTAL (mg/órgão subterrâneo espessado)	
	SOLÚVEL	AMIDO
BROTAÇÃO	6,914	37,166
FLORAÇÃO	1,892	17,720
SENESCÊNCIA	2,595	10,460
DORMÊNCIA	1,900	15,399

	CONTEÚDO RELATIVO DE CARBOIDRATO (mg/g peso de matéria seca)	
	SOLÚVEL	AMIDO
BROTAÇÃO	83,202 ab	447,253 a
FLORAÇÃO	70,300 bc	477,064 a
SENESCÊNCIA	84,470 a	321,296 b
DORMÊNCIA	61,371 c	476,830 a

Letras comparam as médias entre os estádios fenológicos  
Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente  
entre si (teste Tukey 5%)

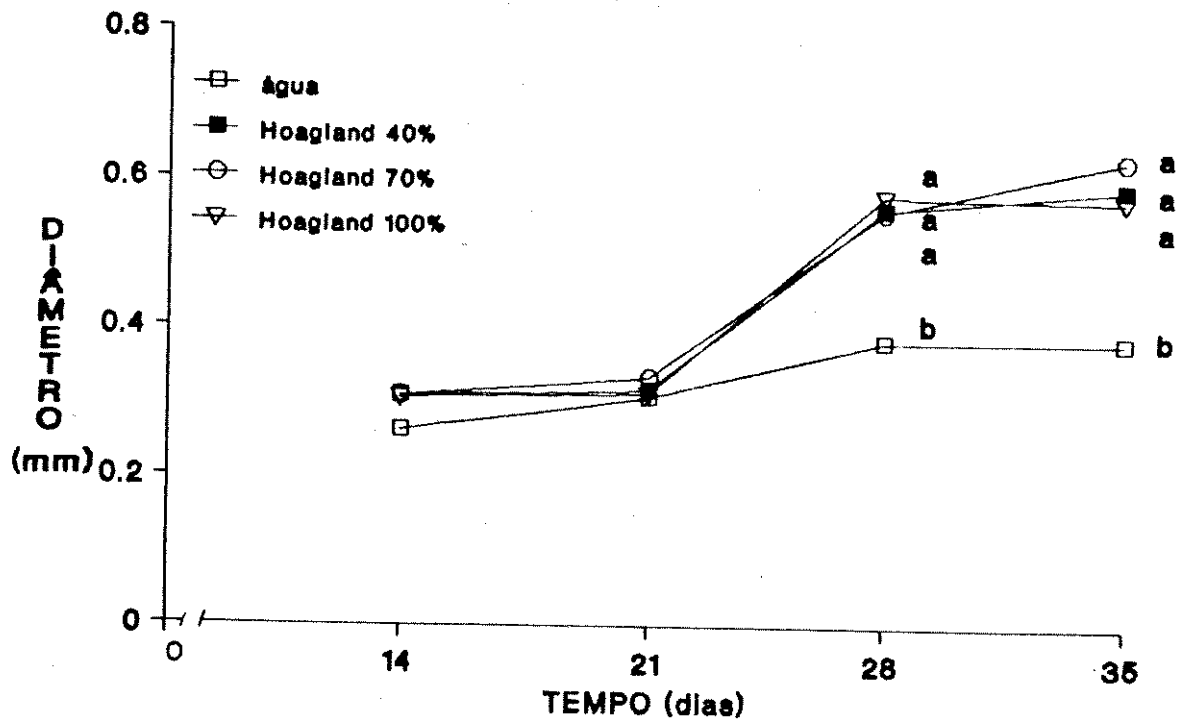


FIG.5 - Diâmetro do hipocótilo de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia com diferentes concentrações de solução nutritiva.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

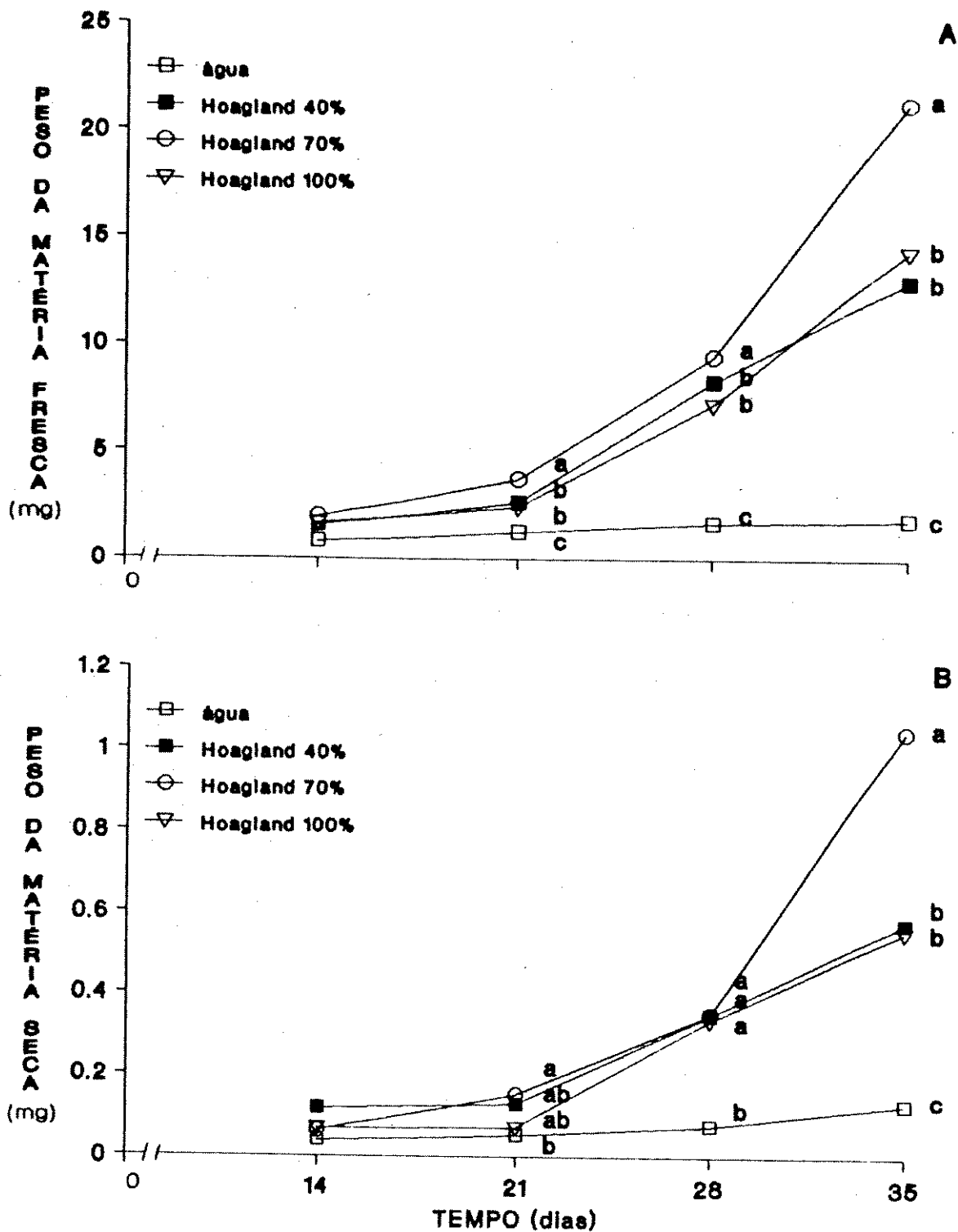


FIG.6 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia com diferentes concentrações de solução nutritiva. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

TABELA 4 - Efeito de diferentes concentrações da solução nutritiva de Hoagland sobre o número de pares de folhas em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	AGUA	SOLUÇÃO NUTRITIVA		
		40%	70%	100%
14	2,08 a	3,00 b	2,96 b	2,72 b
21	2,96 a	3,72 ab	3,36 ab	3,16 b
28	3,00 a	4,56 b	4,36 b	4,28 b
35	3,52 a	5,08 b	5,04 b	5,16 b

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).



plântulas crescendo em areia como em plântulas crescendo em terra de cerrado com adição de solução nutritiva (FIG.7). Mesmo nas plântulas crescendo em substrato arenoso umedecido com água destilada foi observado o espessamento do hipocótilo.

O peso da matéria fresca e seca da plântula foi significativamente maior em substrato umedecido com solução nutritiva (FIG.8A,B). O peso da matéria fresca e seca da plântula em terra de cerrado foi similar aos obtidos em areia, quando os substratos eram umedecidos com água destilada (FIG.8A,B).

As plântulas foram crescidas em substrato arenoso umedecido com solução nutritiva com e sem nitrogênio e fósforo. Apesar da altura ter variado nos diferentes tratamentos no 21º dia, ao final de quarenta e dois dias, a altura das plântulas foram iguais tanto naquelas crescendo em areia umedecida com solução com nitrogênio e fósforo, como naquelas crescendo sem nitrogênio e sem fósforo (FIG.9A). O diâmetro do hipocótilo foi maior em plântulas crescendo em areia com solução nutritiva sem nitrogênio no 42º dia de idade (FIG.9B).

Não houve diferença significativa no peso da matéria fresca das plântulas nos diferentes tratamentos (FIG.10A), porém em areia com solução sem nitrogênio as plântulas apresentaram um peso de matéria seca maior (FIG.10B).

O número de pares de folhas foi semelhante nos diferentes tratamentos (TAB.5).

A presença de grãos de amido na região do hipocótilo foi observada tanto nas plântulas com solução Hoagland completa, como nas plantas sem nitrogênio ou fósforo (TAB.6), sendo que nestes dois últimos tratamentos a coloração indicadora da presença de amido foi mais intensa ao longo de todo experimento.

### 3.2.2. Efeito do fotoperíodo

Plântulas crescendo sob fotoperíodo de 8h têm o crescimento em altura promovido após o 21º dia de idade em relação ao fotoperíodo de 18h (FIG.11A). Como não houve aumento

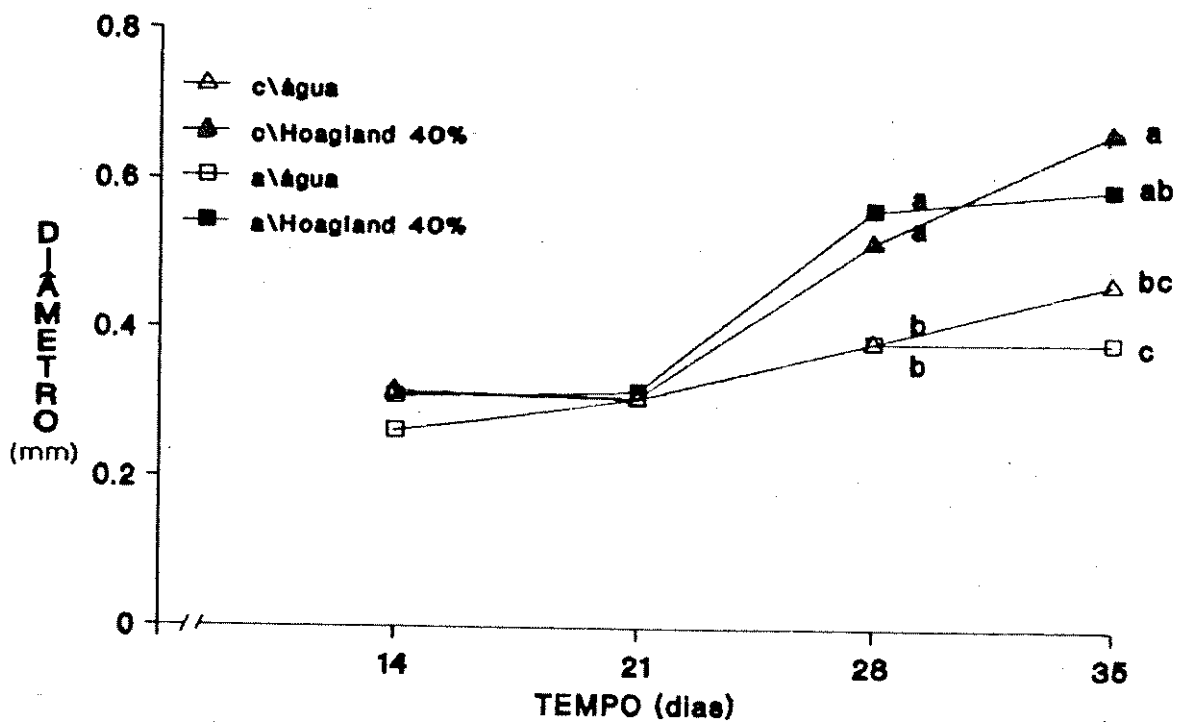


FIG.7 - Diâmetro do hipocótilo de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia lavada (a) e terra de cerrado (c), com solução nutritiva 40%.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

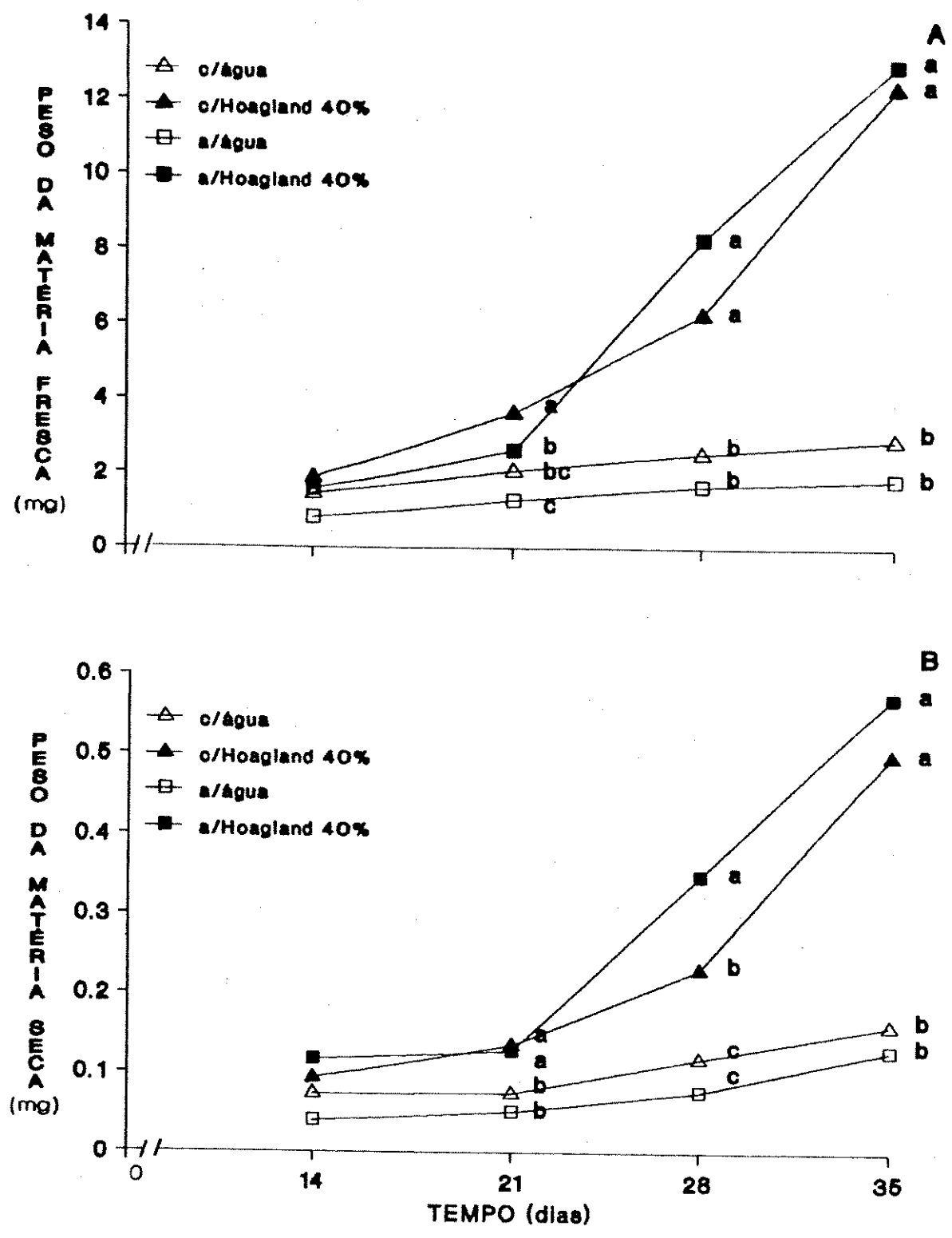


FIG.8 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia lavada (a) e terra de cerrado (c) com solução nutritiva 40%. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

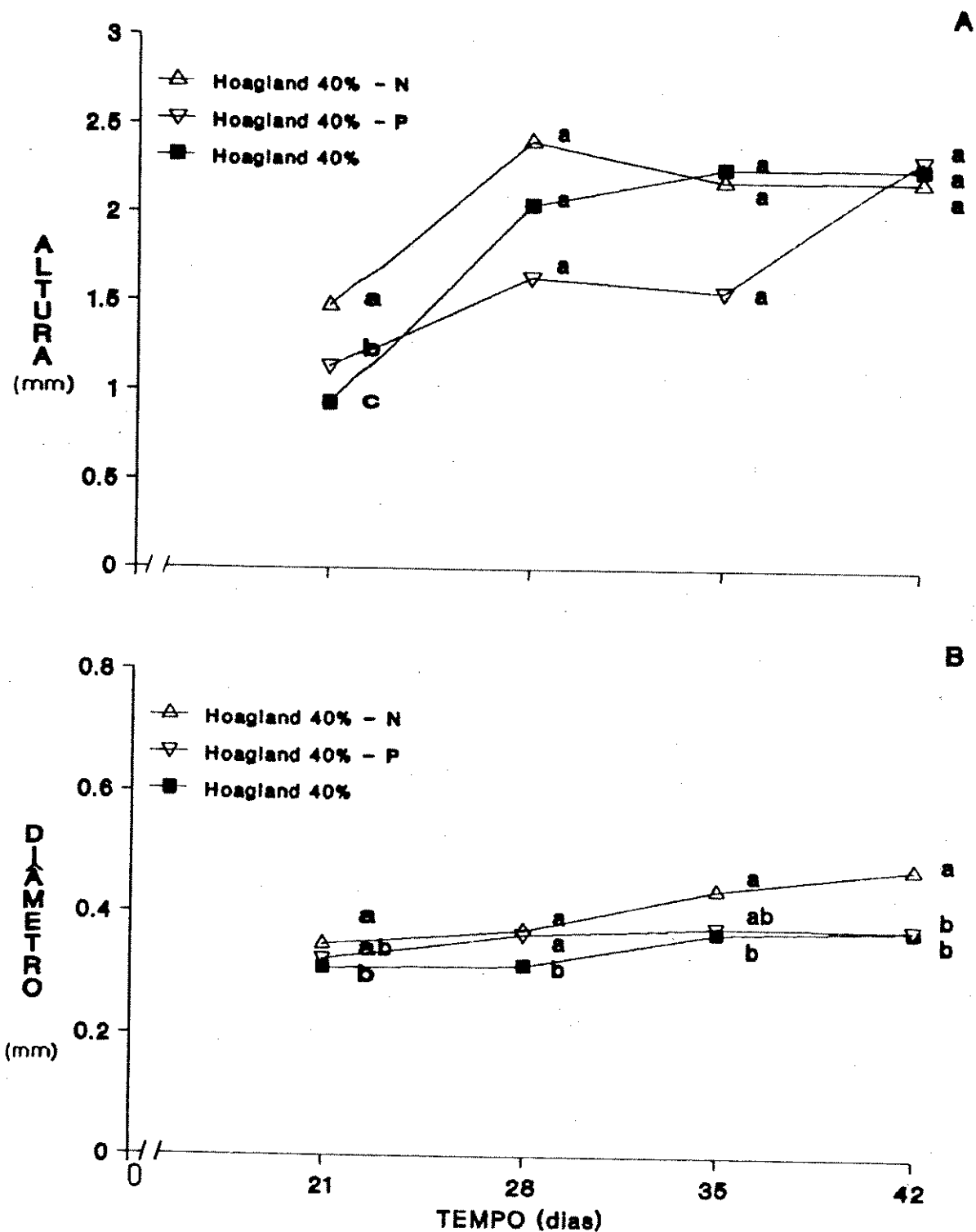


FIG.9 - Altura da plântula (A) e diâmetro do hypocótilo (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% completa, sem nitrogênio ou sem fósforo.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

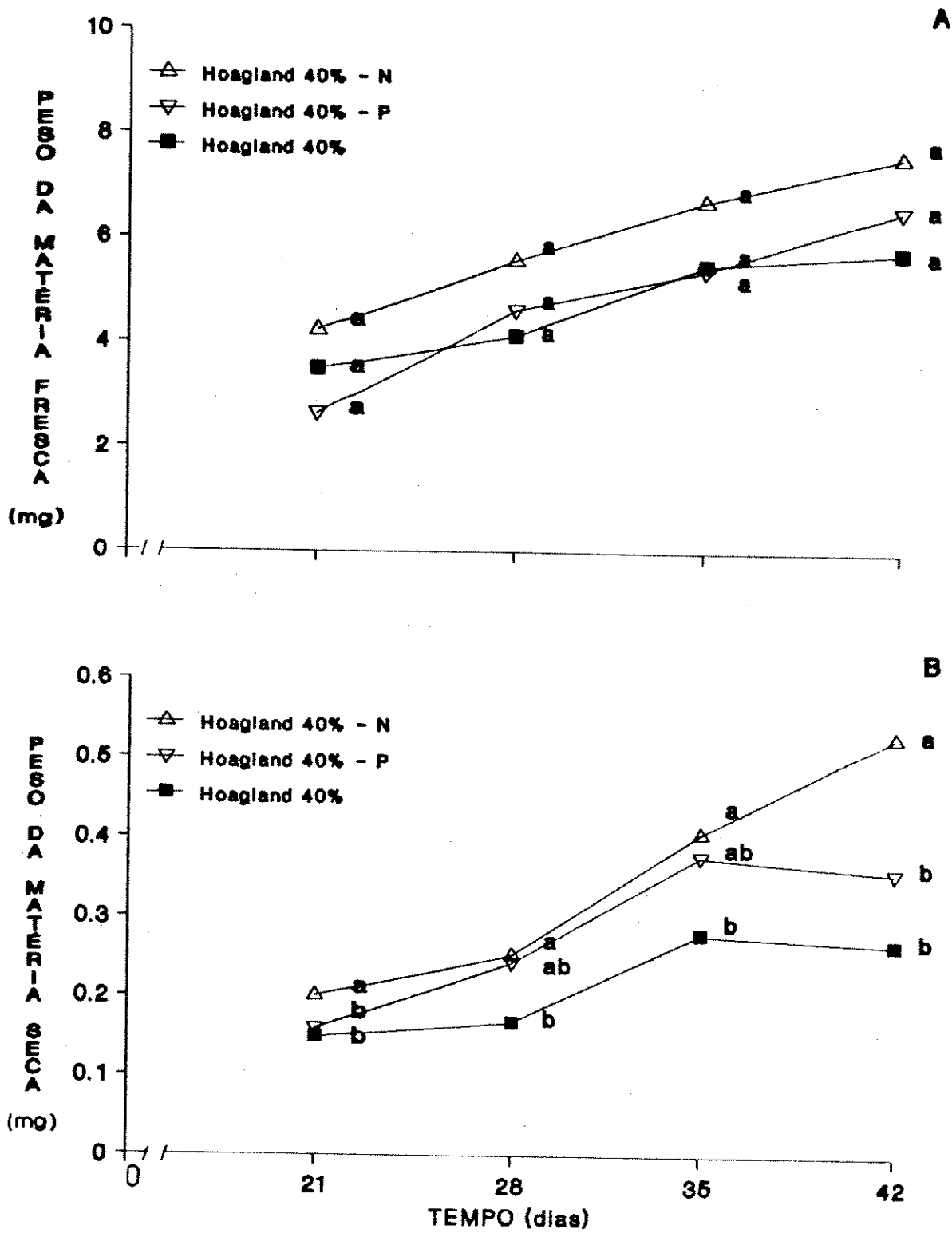


FIG.10 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia com solução nutritiva 40% completa, sem nitrogênio ou sem fósforo. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Teste Tukey 5%).

TABELA 5 - Efeito de nitrogênio e fósforo da solução nutritiva de Hoagland 40% sobre o número de pares de folhas de plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	CONTROLE	SOLUÇÃO NUTRITIVA	
		-N	-P
	número de pares de folhas		
21	2,5 b	3,0 a	2,5 b
28	2,9 a	3,1 a	3,0 a
35	3,2 a	3,0 a	3,3 a

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

TABELA 6 - Efeito de nitrogênio e fósforo da solução nutritiva de Hogland 40% sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo de plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	CONTROLE	SOLUÇÃO NUTRITIVA	
		-N	-P
		grãos de amido	
21	+	+	+
28	+	+	+
35	+	+	+

+ 100% das plântulas apresentavam grãos de amido

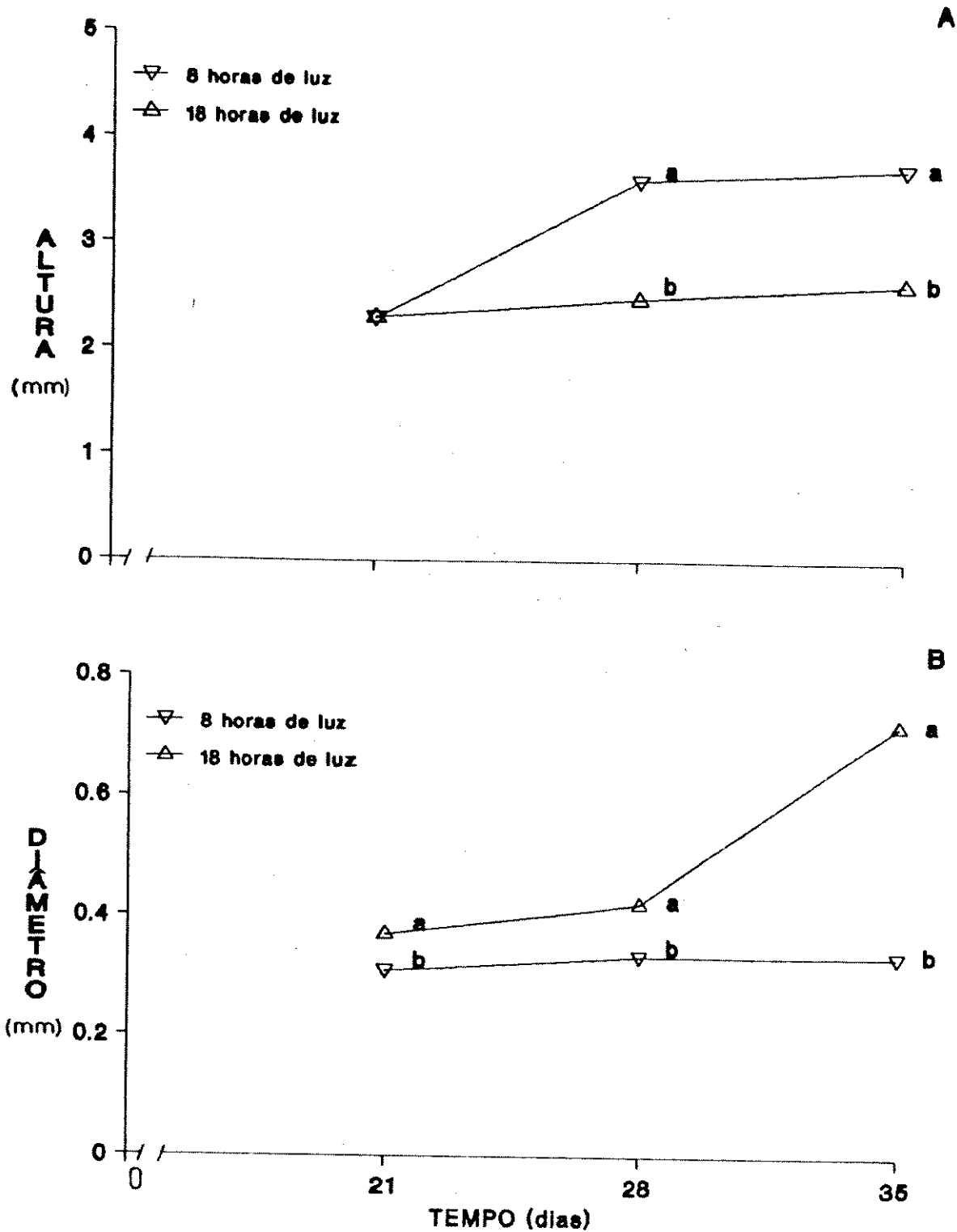


FIG.11 - Altura da plântula (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de *S.allagophylla* sob fotoperíodos de 8h ou 18h, crescidas em areia com solução nutritiva 40%. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).



concomitante no número de pares de folhas nas plântulas sob 8h (TAB.7), conclue-se que este aumento em altura se deva ao alongamento dos entrenós.

O diâmetro do hipocótilo foi maior em plântulas crescendo em fotoperíodo de 18h (FIG.11B); observou-se no hipocótilo a presença de grãos de amido. Não houve sinal de tuberização nas plântulas sob 8h até o 35º dia de idade, o que pode ser confirmado através dos resultados negativos no teste de lugol (TAB.8). O peso da matéria fresca e seca das plântulas sob 18h de luz também foi maior em relação às plântulas mantidas sob 8h (FIG.12A,B).

Quando as plântulas foram mantidas em fotoperíodo de 18h, mas em que 8h de luz eram complementadas com 10h de luz de baixa intensidade houve um estiolamento da plântula (FIG.13A). O diâmetro do hipocótilo das plântulas sob este fotoperíodo foi menor do que o diâmetro das plântulas controle crescendo sob 18h de luz de mesma intensidade (FIG.13B). O peso da matéria fresca e seca da plântula também foi menor no tratamento com baixa intensidade (FIG.14A,B). A TAB.9 indica que neste tratamento o número de pares de folhas foi menor.

Apesar de não se observar um aumento no diâmetro do hipocótilo (FIG.13B) haviam grãos de amido nesta região (TAB.10).

Foi feito também um experimento sob 8h de luz em temperatura constante de 25°C, sob intensidades luminosas de 36 ou 79  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Com 42 dias de idade, tanto as plantas crescendo sob baixa como sob alta intensidade luminosa apresentaram em média 0,31mm de diâmetro do hipocótilo, sem sinais de tuberização. Não foram observados grãos de amido na região do hipocótilo. A altura média das plântulas sob baixa intensidade foi de 4,3mm, enquanto que aquelas sob alta intensidade apresentaram uma altura média de 2,0mm. Como o número de pares de folhas foi igual nos dois tratamentos, conclui-se que houve alongamento dos entrenós no tratamento com baixa intensidade luminosa.

TABELA 7 - Efeito dos fotoperíodos de 8h e 18h sobre o número de pares de folhas , em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	FOTOPERÍODO	
	8h	18h
	número de pares de folhas	
21	2,52 a	3,00 b
28	3,04 a	3,56 b
35	3,88 a	4,20 a

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).

TABELA 8 - Efeito dos fotoperíodos de 8h e 18h sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo, em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	FOTOPERÍODO	
	8h	18h
	grãos de amido	
21	-	+
28	-	+
35	-	+

- ausência de grãos de amido

+ 100% das plântulas apresentavam grãos de amido

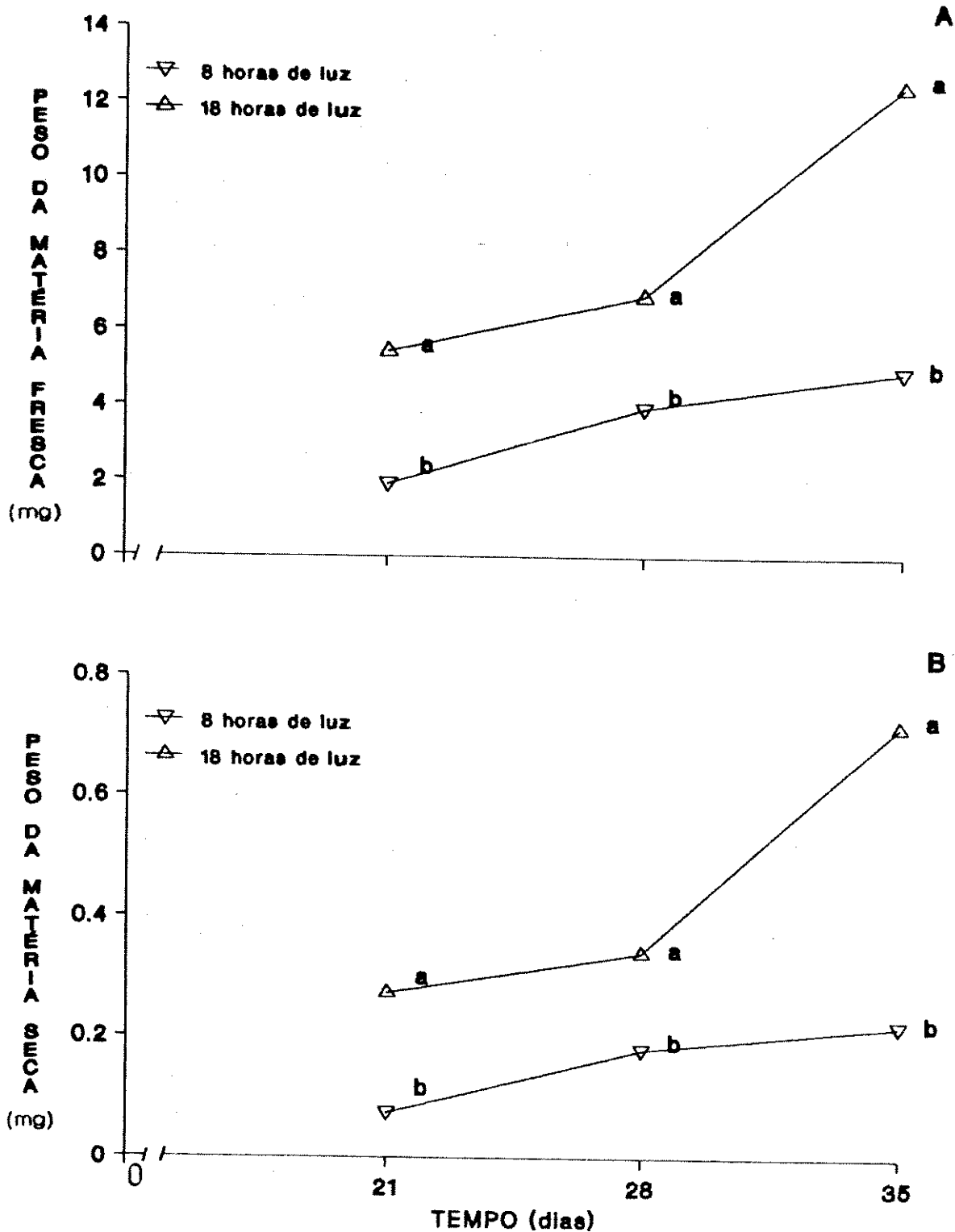


FIG.12 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de *S. allagophylla* sob fotoperíodo de 8h ou 18h crescidas em areia com solução nutritiva 40%. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).

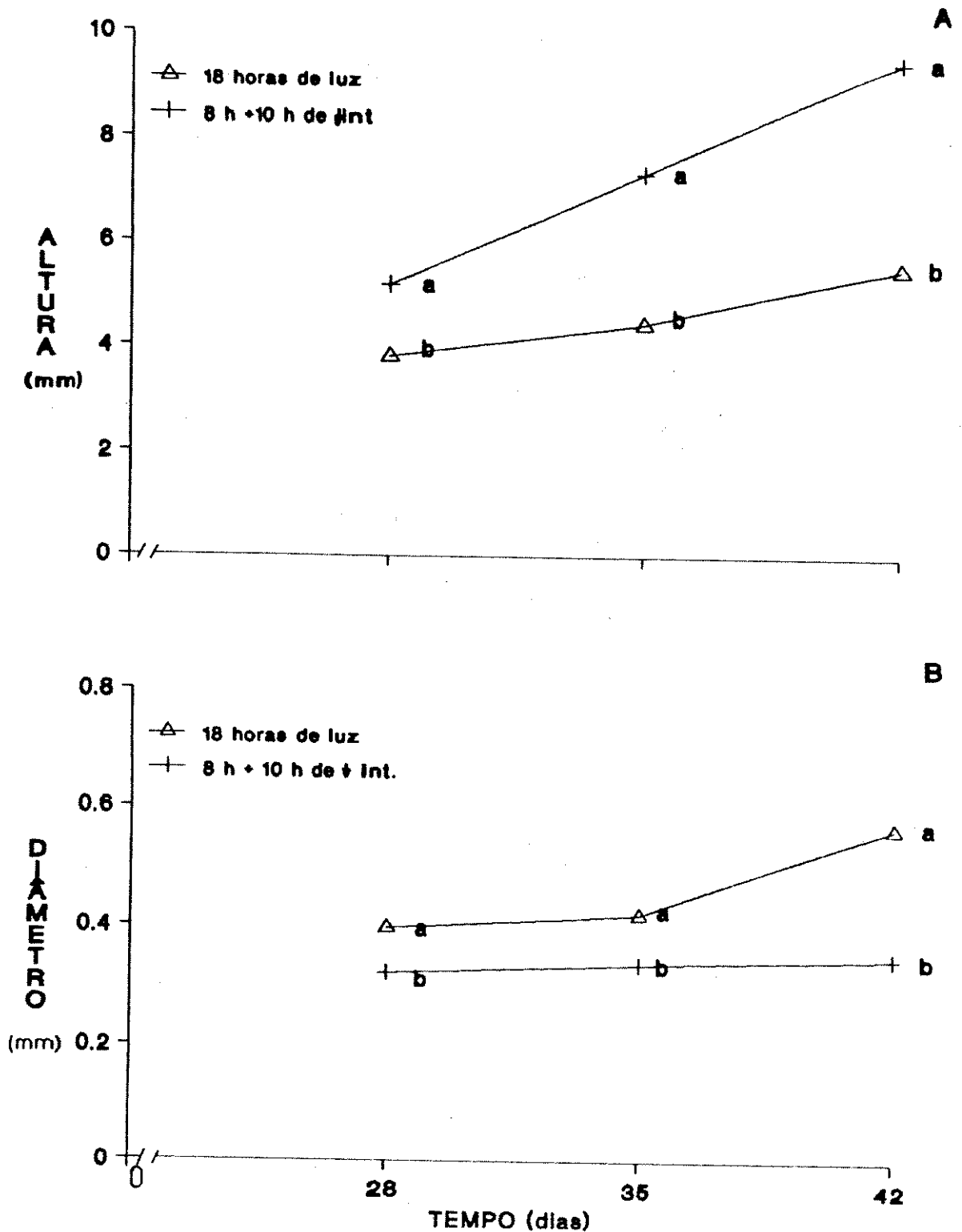


FIG.13 - Altura da plântula (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de *S. allagophylla* mantidas sob fotoperíodo de 18h, ou 8h de luz acrescido de 10h de baixa intensidade luminosa, crescidas em areia com solução nutritiva 40%.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).

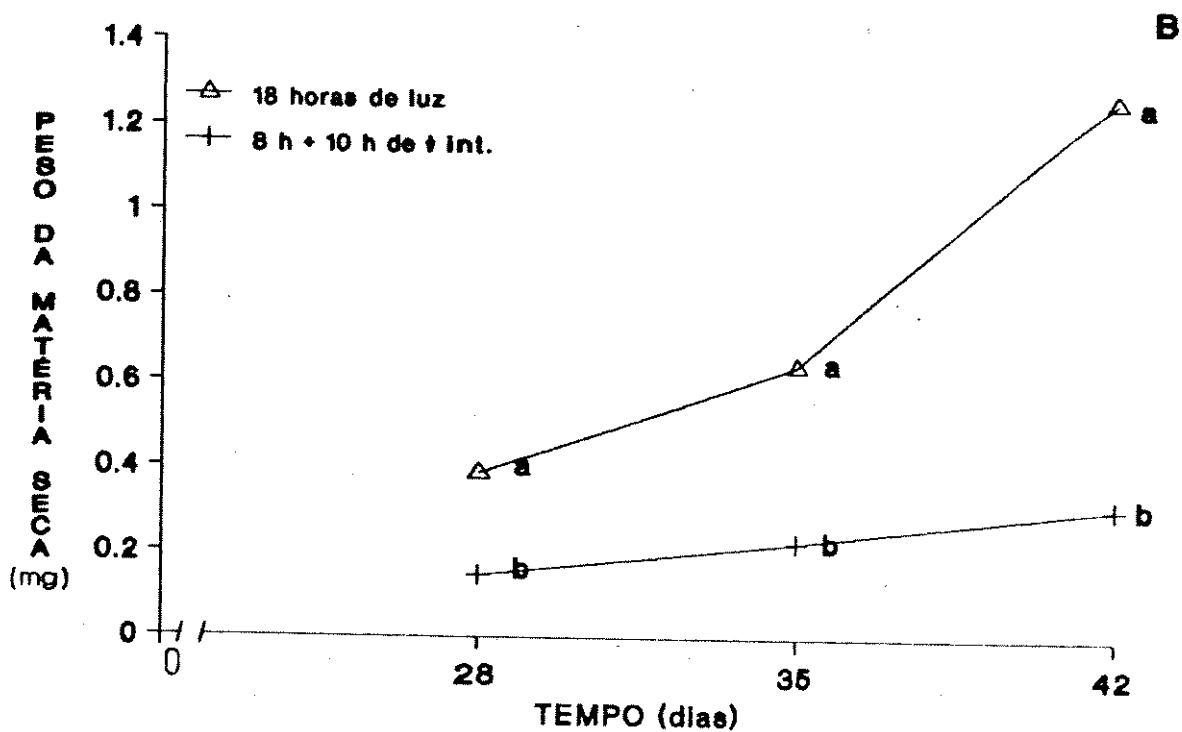
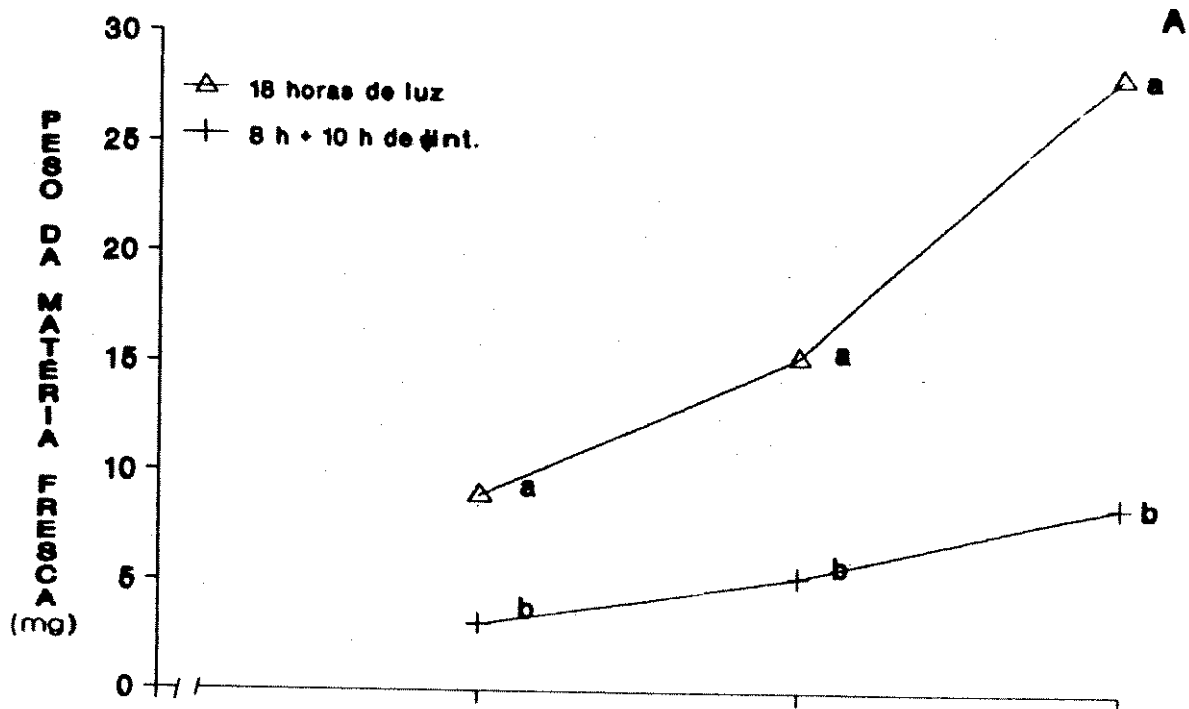


FIG.14 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de *S. allagophylla* mantidas sob fotoperíodo de 18h, ou 8h de luz acrescida de 10h de baixa intensidade luminosa, crescidas em areia com solução nutritiva 40%.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).

TABELA 9 - Efeito do fotoperíodo de 18h sobre o número de pares de folhas em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	FOTOPERÍODO	
	8h + 10h*	18h
	número de pares de folhas	
28	3,00 a	3,96 b
35	3,18 a	4,43 b
42	3,88 a	5,04 b

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).

TABELA 10 - Efeito do fotoperíodo de 18h sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	FOTOPERÍODO	
	8h + 10h*	18h
	grãos de amido	
28	-	±
35	-	+
42	±	+

- \* 10h de baixa intensidade luminosa  
 - ausência de grãos de amido  
 ± 50% ou menos de plântulas apresentavam grãos de amido  
 + 100% das plântulas apresentavam grãos de amido



### 3.2.3. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento

Houve um aumento na altura de plântulas tratadas com  $GA_3$  ( $10^{-5}M$ ) (FIG.15A). Nas plântulas tratadas com  $GA_3$  não haviam sinais de tuberização, o diâmetro do hipocótilo foi menor do que o do controle (FIG.15B). Com 35 dias de idade, o peso da matéria fresca e seca foi maior no controle (FIG.16A,B).

O aumento em altura nas plântulas tratadas, não foi acompanhado pelo aumento do número de pares de folhas, indicando que houve alongamento dos entrenós (TAB.11).

Nas plantas tratadas com  $GA_3$  além da inibição do espessamento do hipocótilo não houve formação de grãos de amido nesta região (TAB.12). A FIG.17 mostra um esquema das plântulas controle e das tratadas com  $GA_3$ .

Quando as plântulas foram submetidas a menor número de aplicações de  $GA_3$ , observou-se que à medida que o tempo passava, quanto menor o número de aplicações, mais os resultados se assemelhavam aos do controle, que não haviam recebido  $GA_3$ . Esta semelhança foi observada tanto para a altura da plântula (FIG.18A), como para o diâmetro do hipocótilo (FIG.18B).

A presença de grãos de amido no hipocótilo foi detectada em plântulas controle e naquelas que haviam recebido apenas duas aplicações de  $GA_3$  no início do experimento (TAB.13).

Houve inibição do crescimento em altura de plântulas tratadas com CCC (FIG.19A) e promoção no diâmetro do hipocótilo (FIG.19B). O peso da matéria fresca e seca foi menor nas plântulas tratadas com CCC (FIG.20A,B).

As plântulas tratadas com CCC apresentaram número de pares de folhas menor do que no controle (TAB.14). A presença de grãos de amido no hipocótilo foi detectada tanto no controle como nas plântulas tratadas com CCC (TAB.15). As plantas tratadas com CCC [ $1000\mu g/ml$ ] eram mais frágeis e apresentavam deformações morfológicas.

Plântulas tratadas com BA apresentaram uma altura menor (FIG.21A) e um diâmetro do hipocótilo maior (FIG.21B). O peso da matéria fresca e seca das plântulas tratadas com BA foi menor

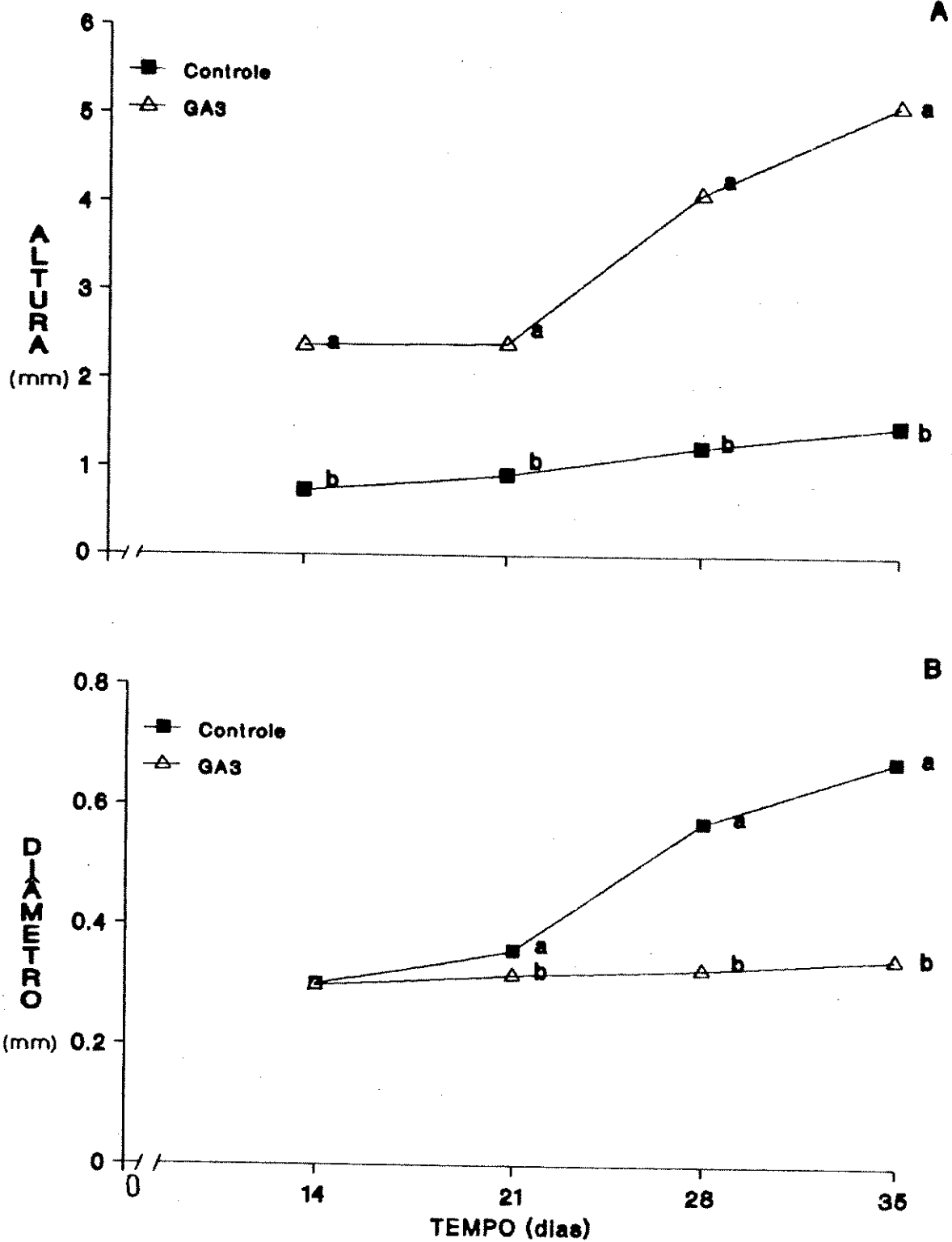


FIG.15 - Altura da plântula (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de GA<sub>3</sub> semanalmente

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo  
Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).

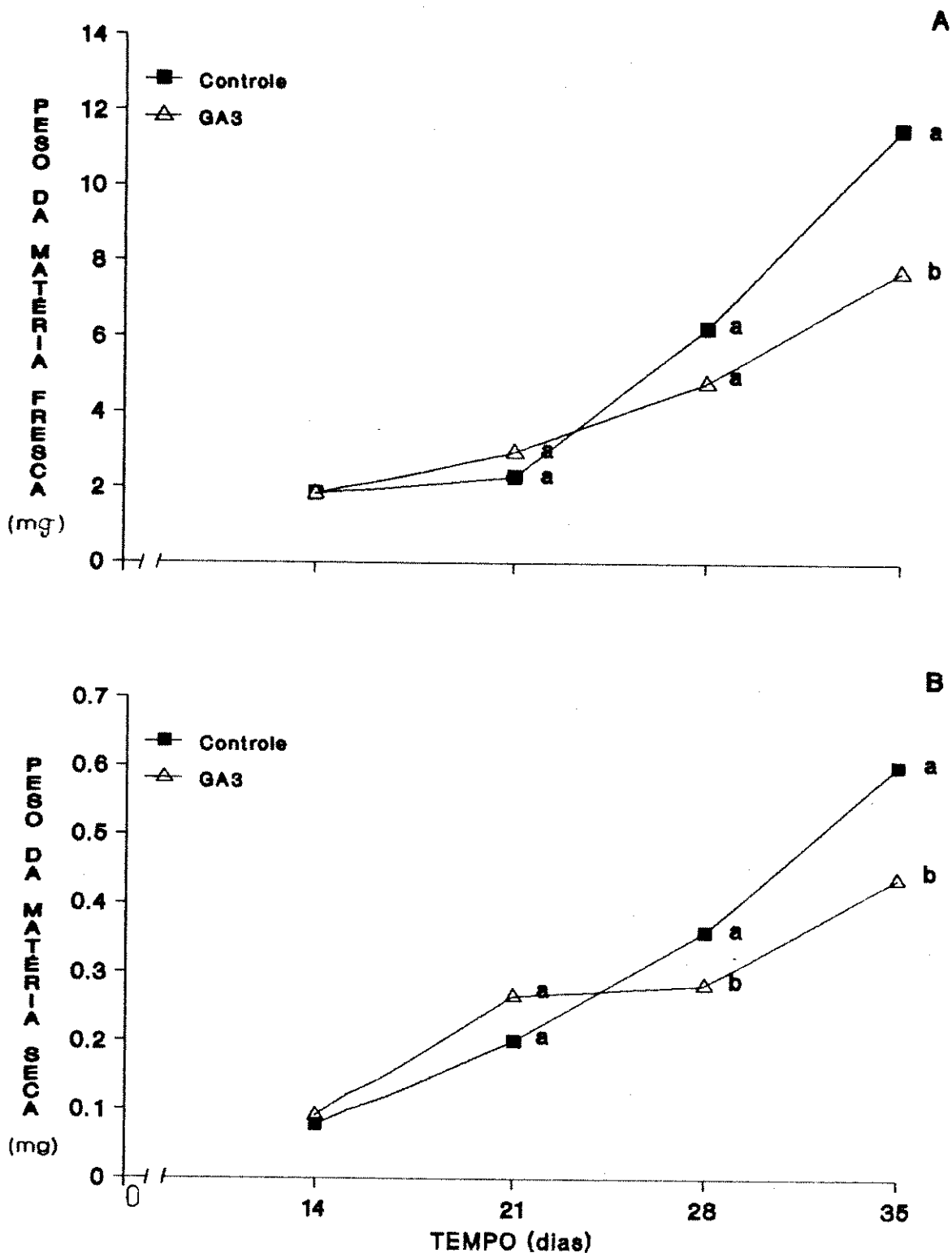


TABELA 11 - Efeito do GA<sub>3</sub> sobre o número de pares de folhas em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	CONTROLE	GA <sub>3</sub>
	número de pares de folhas	
14	2,50 a	2,54 a
21	3,08 a	2,94 a
28	4,00 a	3,96 a
35	5,00 a	4,94 a

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%)

TABELA 12 - Efeito do GA<sub>3</sub> sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de *S. allagophylla*.

---

TEMPO (dias)	CONTROLE	GA <sub>3</sub>
	grãos de amido	
14	-	-
21	+	-
28	+	-
35	+	-

---

- ausência de grãos de amido

+ 100% das plântulas apresentavam grãos de amido

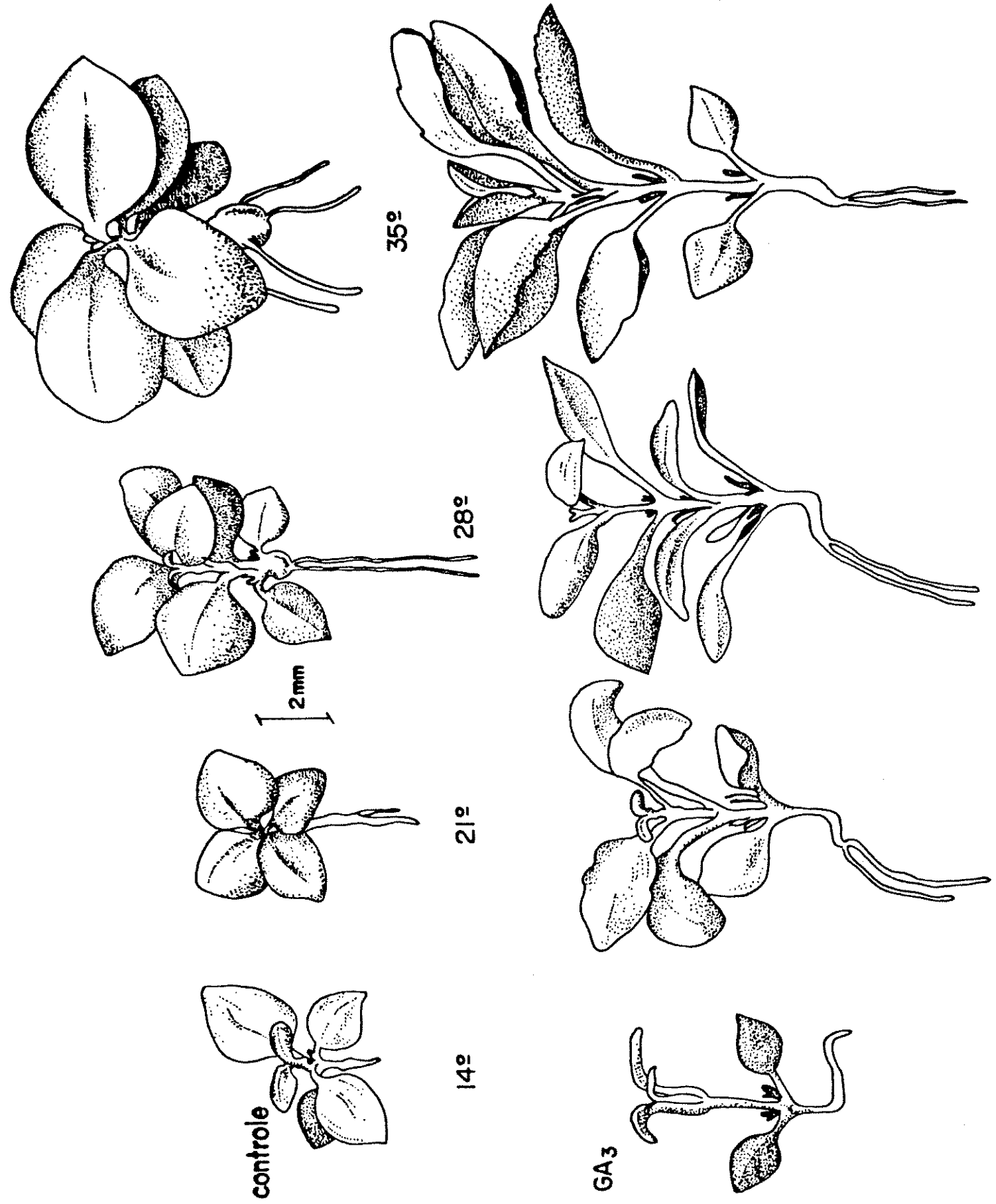


FIG.17 - Desenho em câmara clara, de plântulas com 14, 21, 28 e 35 dias de idade, tratadas com GA3 e do controle.

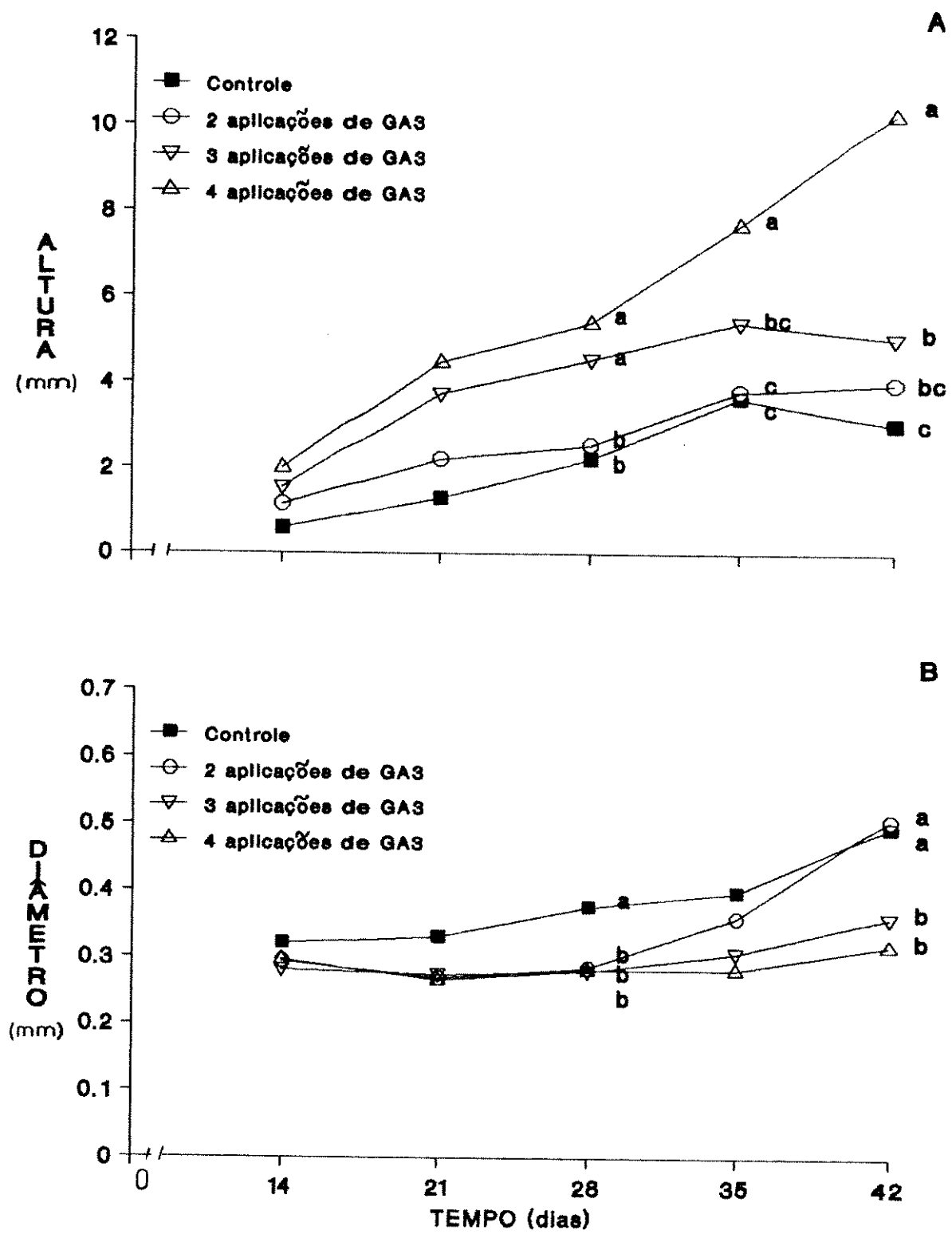


FIG.18 - Altura (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de 2, 3 e 4 aplicações de GA3. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

TABELA 13 - Efeito de números diferentes de aplicações de GA<sub>3</sub> sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	NÚMERO DE APLICAÇÕES DE GA <sub>3</sub>			
	controle	2	3	4
14	-	-	-	-
21	±	-	-	-
28	+	-	-	-
35	+	±	-	-
42	+	±	-	-

- ausência de grãos de amido

± 50% ou menos de plântulas apresentavam grãos de amido

+ 100% das plântulas apresentavam grãos de amido



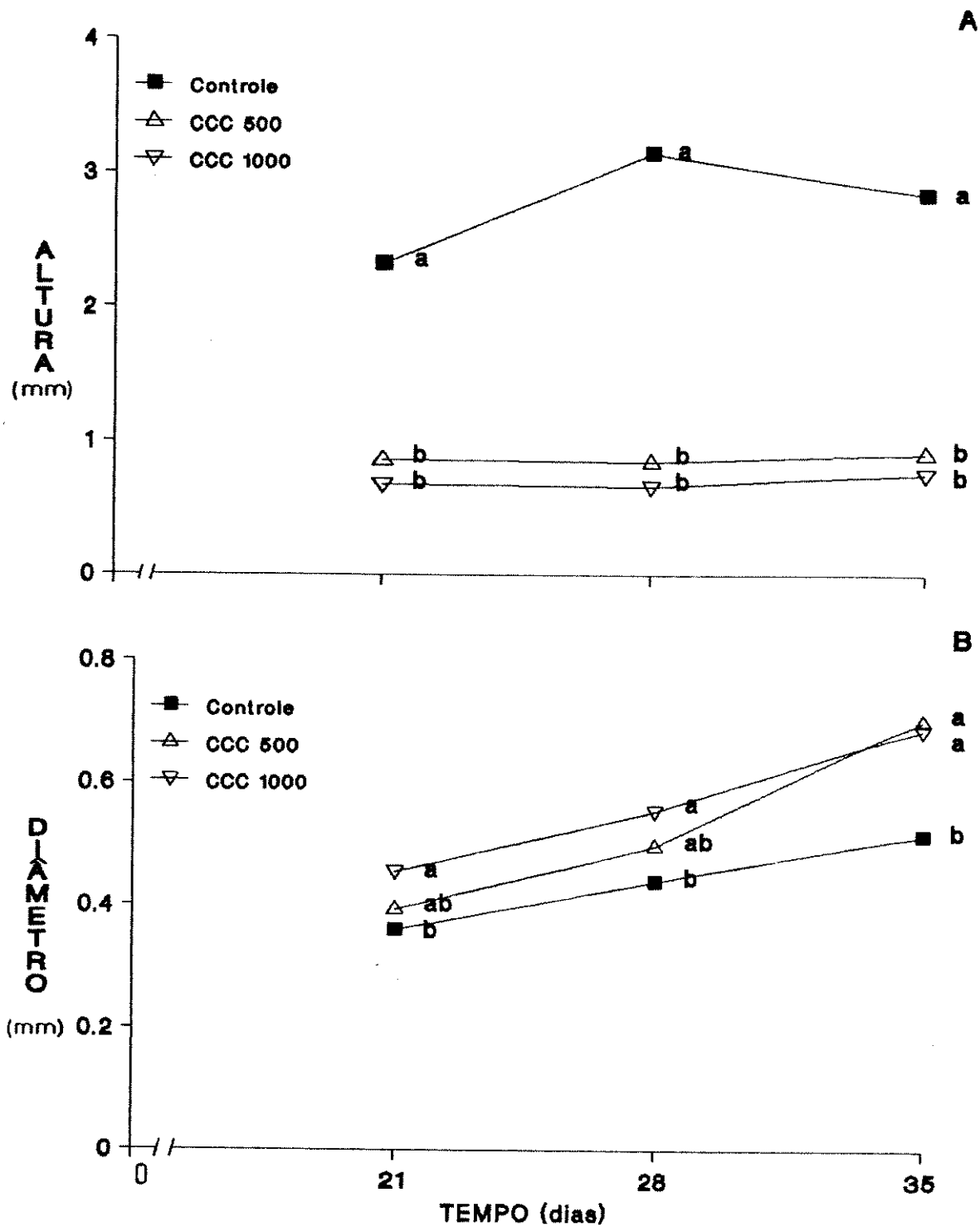


FIG.19 - Altura (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de CCC semanalmente. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

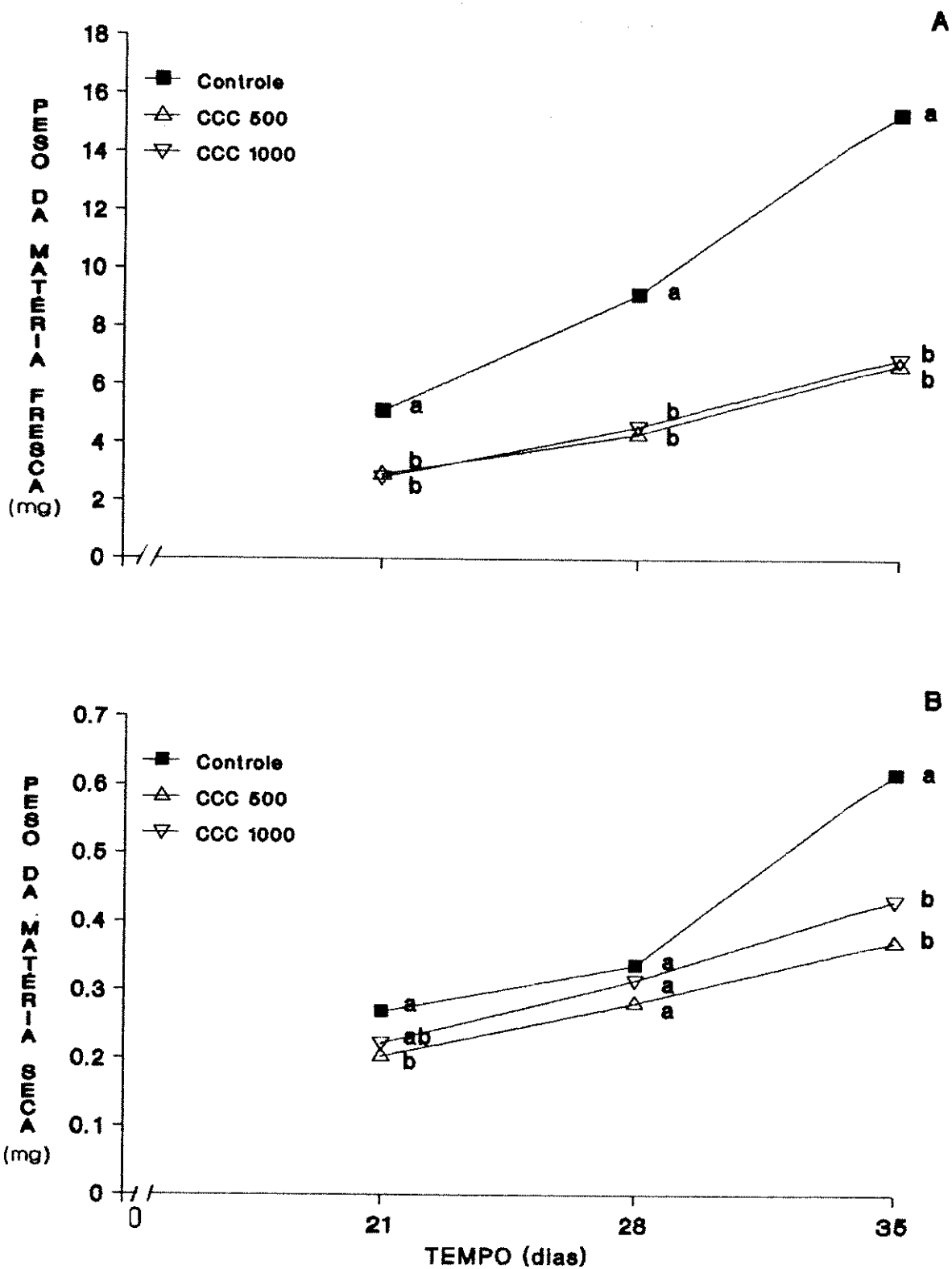


FIG.20 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de CCC semanalmente.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

TABELA 14 - Efeito da aplicação de CCC sobre o número de pares de folhas em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	CONTROLE	TRATAMENTOS	
		CCC 500 ( $\mu\text{g/ml}$ )	CCC 1000 ( $\mu\text{g/ml}$ )
	número de pares de folhas		
21	3,04 a	2,76 a	2,66 a
28	4,00 a	3,00 b	3,00 b
35	4,64 a	3,40 b	3,60 b

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

TABELA 15 - Efeito da aplicação de CCC sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	CONTROLE	TRATAMENTOS	
		CCC 500 ( $\mu\text{g/ml}$ )	CCC 1000 ( $\mu\text{g/ml}$ )
		grãos de amido	
21	+	+	+
28	+	+	+
35	+	+	+

+ 100% das plântulas apresentavam grãos de amido

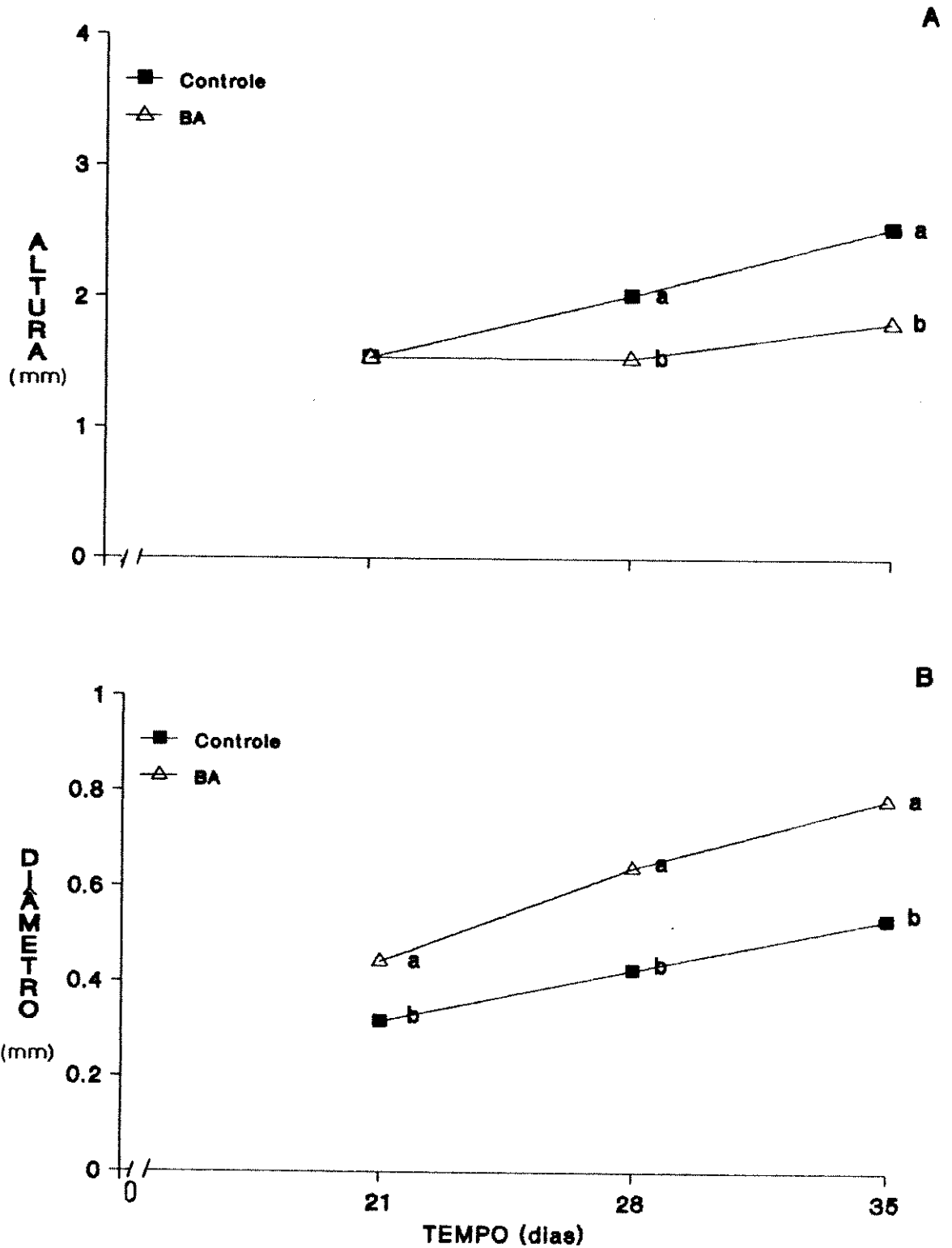


FIG.21 - Altura (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia com solução nutritiva 40% acrescida de BA semanalmente.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).

(FIG.22A,B). Em plântulas tratadas com BA, houve o desenvolvimento de inúmeras gemas saindo da região espessada do hipocótilo e um desenvolvimento geral das gemas axilares (FIG.23). A partir do 28 final das observações, o número de pares de folhas foi menor nas plântulas tratadas com BA (TAB.16).

A presença de grãos de amido foi observada tanto no controle como nas plântulas tratadas com BA (TAB.17).

A aplicação de AIA promoveu a altura da plântula (FIG.24A), porém não foram observadas alterações no diâmetro do hipocótilo (FIG.24B). As plântulas tratadas com AIA apresentaram um peso de matéria fresca menor que o do controle (FIG.25A), já o peso da matéria seca (FIG.25B) foi igual ao controle com 35 dias de idade, em plântulas com duas aplicações de AIA. Não houve diferença significativa entre o número de pares de folhas entre as plantas tratadas com AIA e o controle (TAB.18).

A presença de grãos de amido no hipocótilo foi detectada tanto no controle como nas plântulas tratadas com AIA (TAB.19).

Assim, pelos resultados apresentados o espessamento do hipocótilo foi promovido por fotoperíodo de 18h, pela ausência de nitrogênio no substrato, pela aplicação de BA e CCC, e inibido pela aplicação de GA<sub>3</sub>.

### 3.3. CRESCIMENTO DE PLANTAS EM CASA DE VEGETAÇÃO

Em um experimento preliminar foi estudado o crescimento em terra de cerrado e terra adubada.

Os resultados indicaram que o tipo de terra utilizada no plantio afetou marcadamente o crescimento de plantas de *S. allagophylla*. O plantio em terra de cerrado resultou numa diminuição considerável da altura da parte aérea (FIG.26A), do diâmetro (FIG.26B) e do peso da matéria seca da parte aérea e do órgão subterrâneo espessado (FIG.27A,B). As diferenças foram

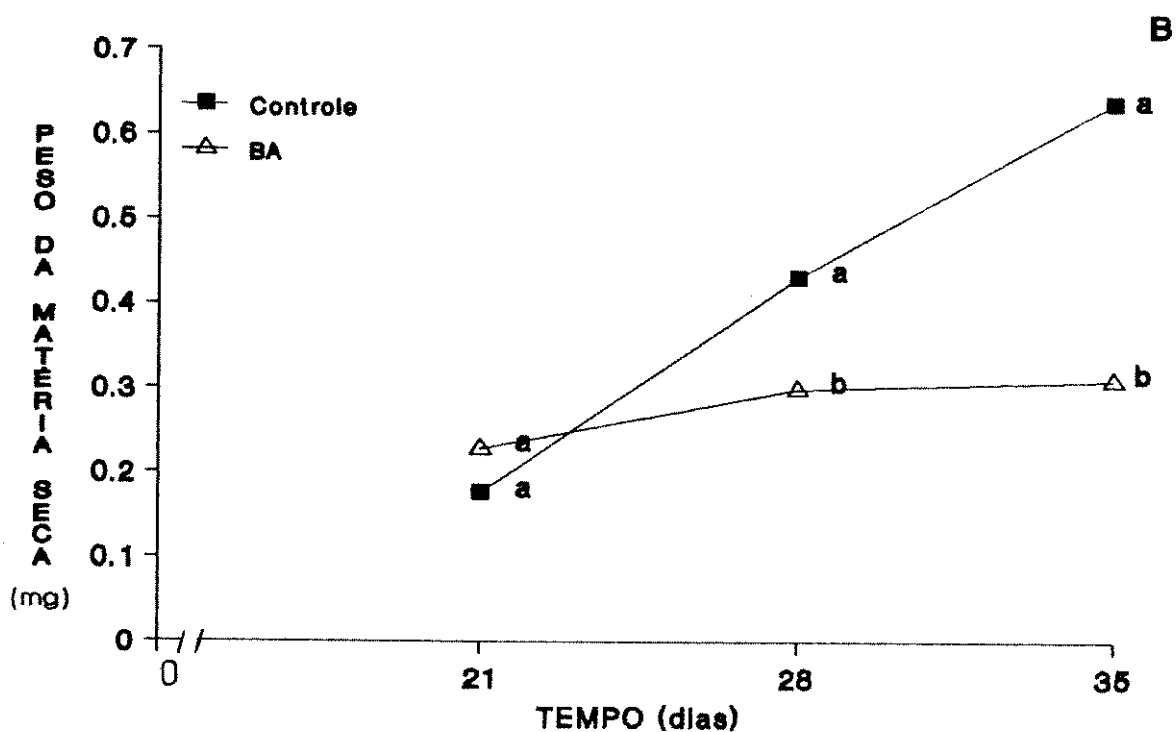
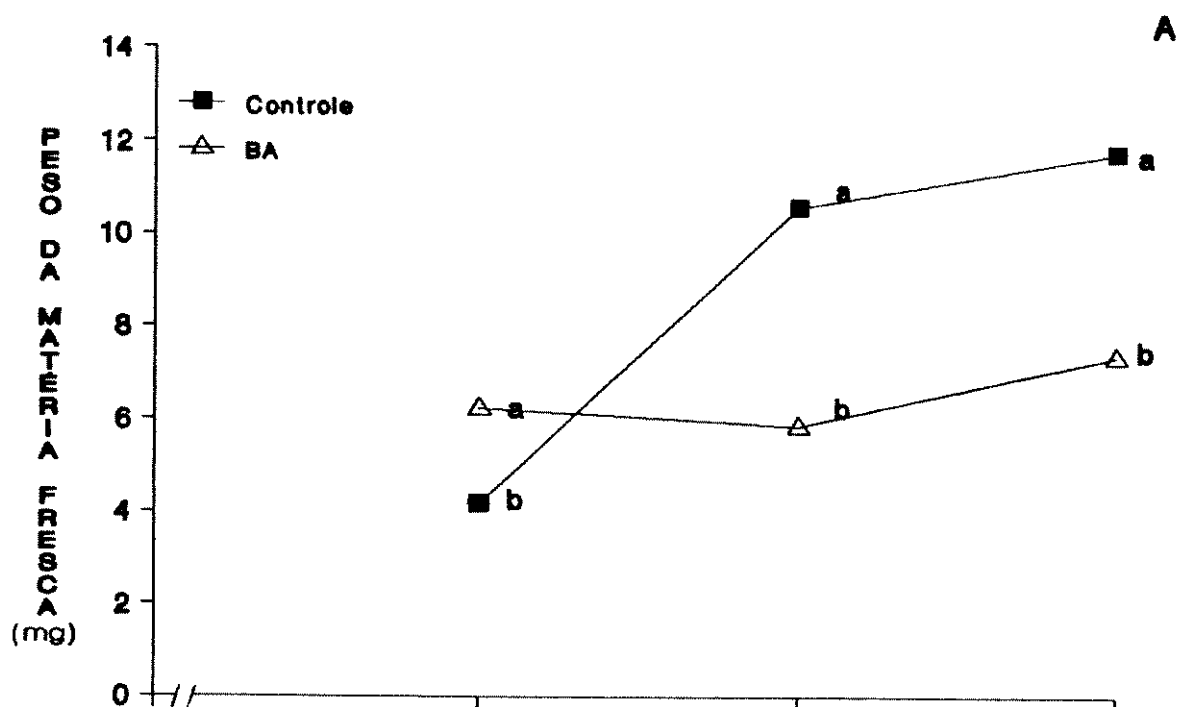


FIG.22 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de BA semanalmente.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%).

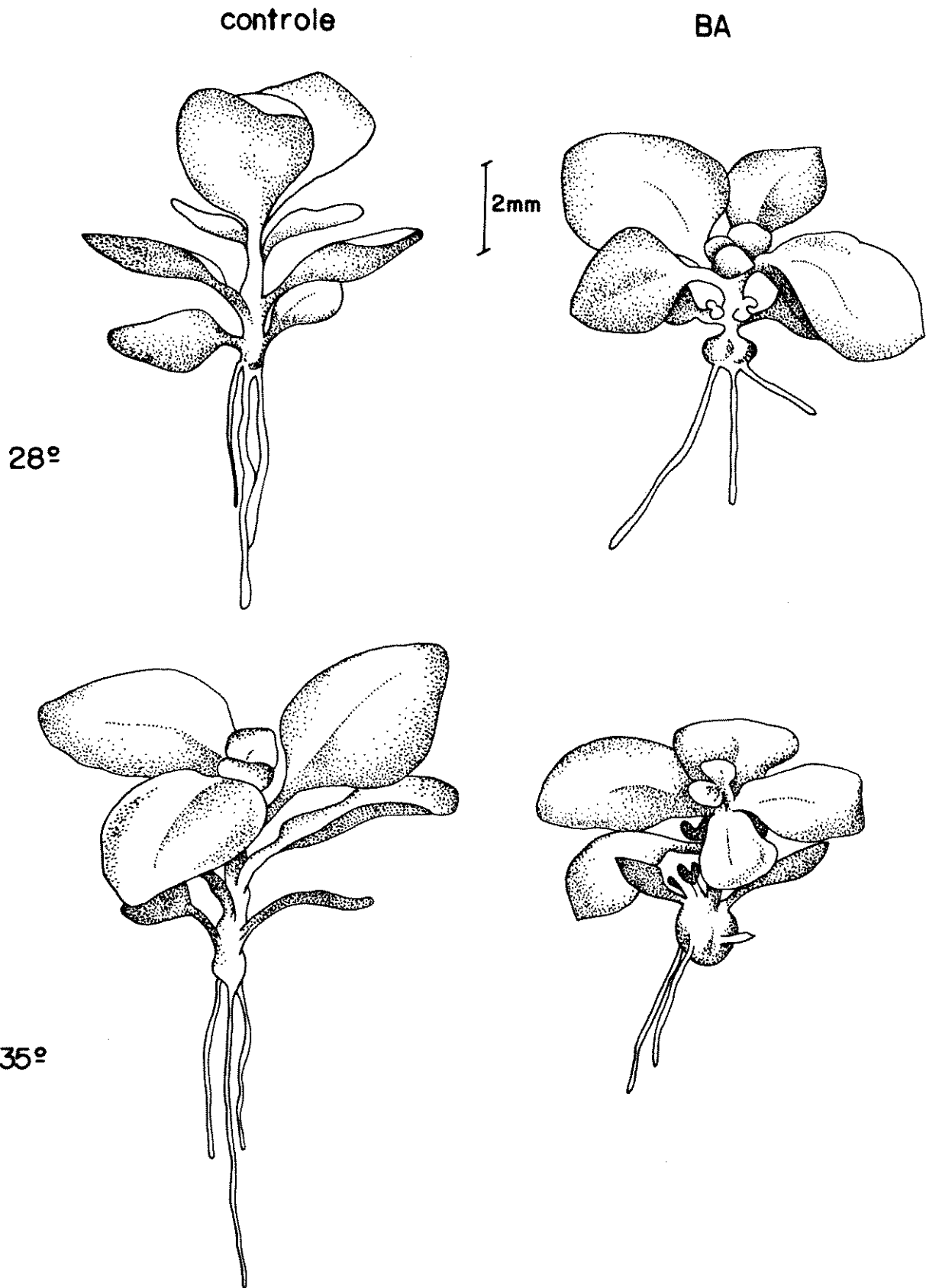


FIG.23 - Desenho em câmara clara de plântulas com 28 e 35 dias de idade, tratadas com BA e controle.



TABELA 16 - Efeito da aplicação de BA sobre o número de pares de folhas em plântulas de *S. allagophylla*.

---

TEMPO (dias)	CONTROLE	BA
	número de pares de folhas	
21	3,04 a	3,02 a
28	4,00 a	3,24 b
35	4,44 a	3,44 b

---

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%)

TABELA 17 - Efeito da aplicação de BA sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	CONTROLE	BA
	grãos de amido	
21	+	+
28	+	+
35	+	+

+ 100% das plântulas apresentavam grãos de amido

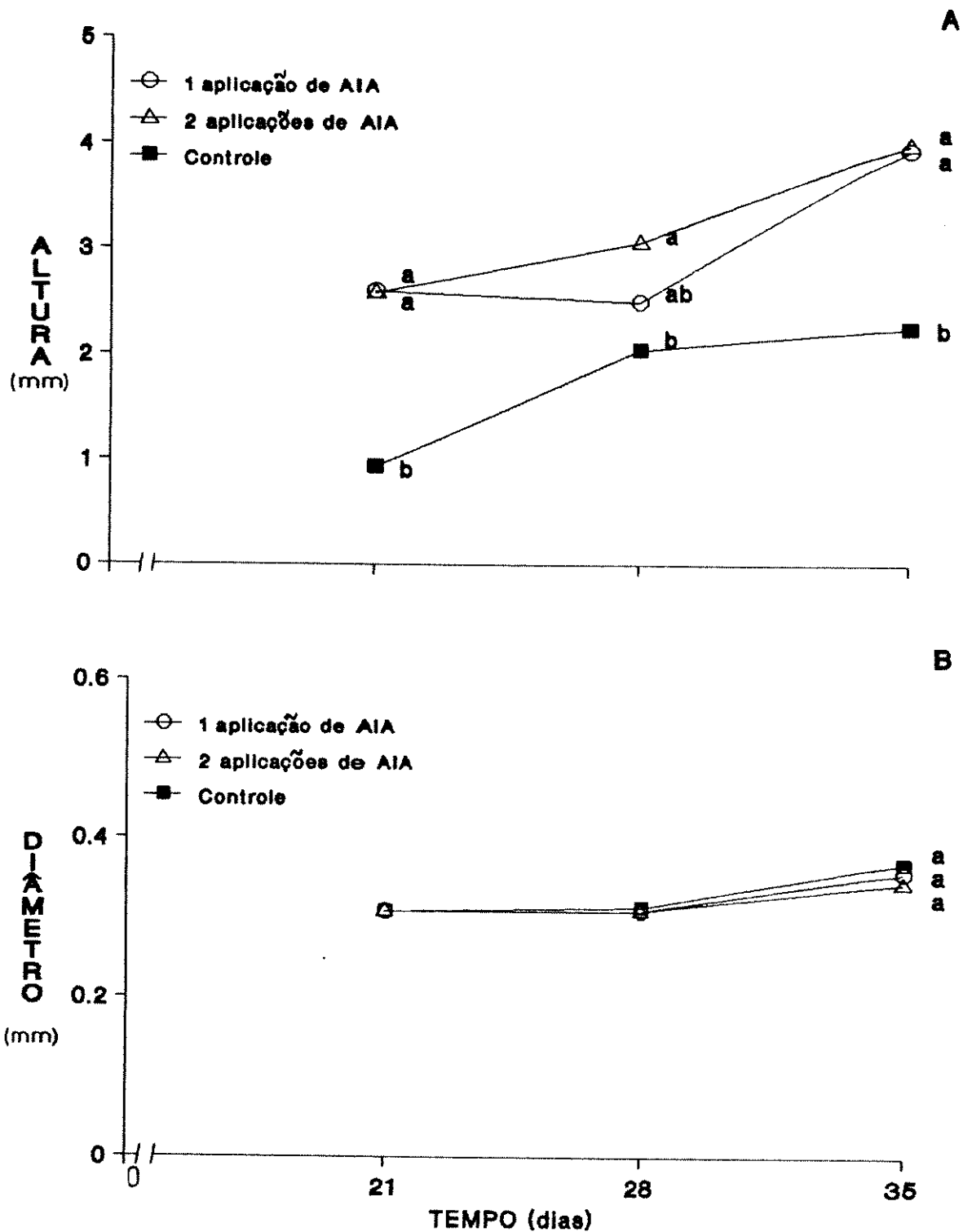


FIG.24 - Altura (A) e diâmetro do hipocótilo (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de 1 ou 2 aplicações de AIA. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

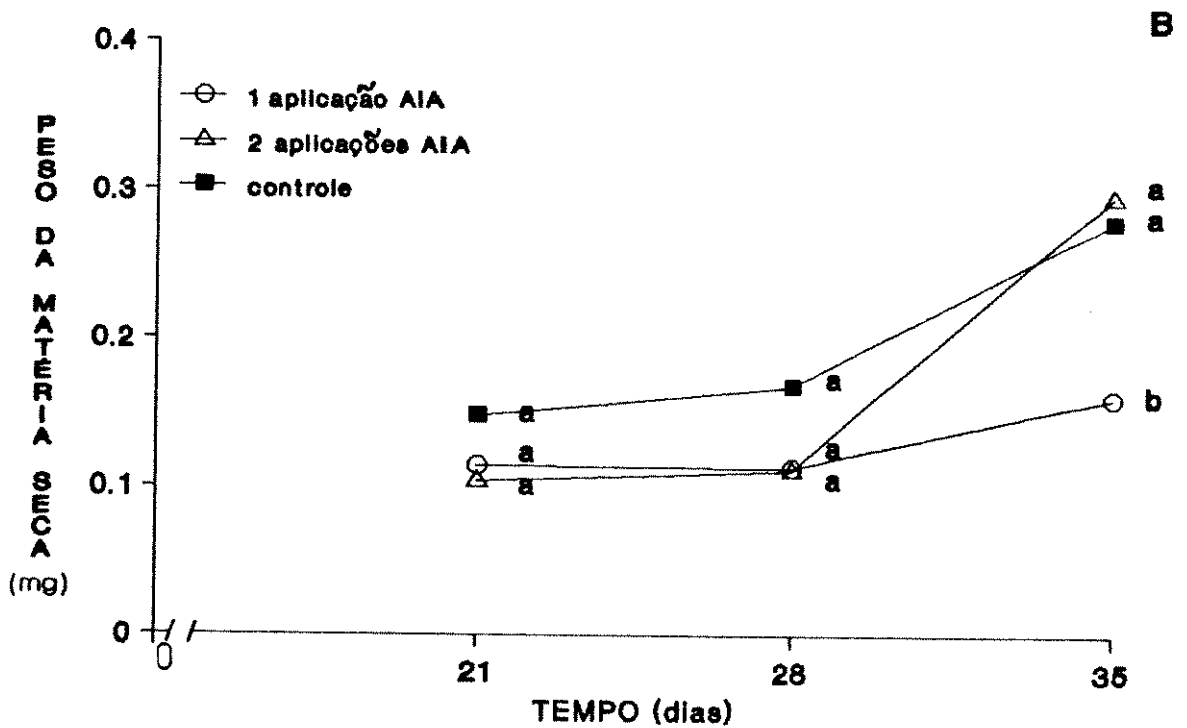
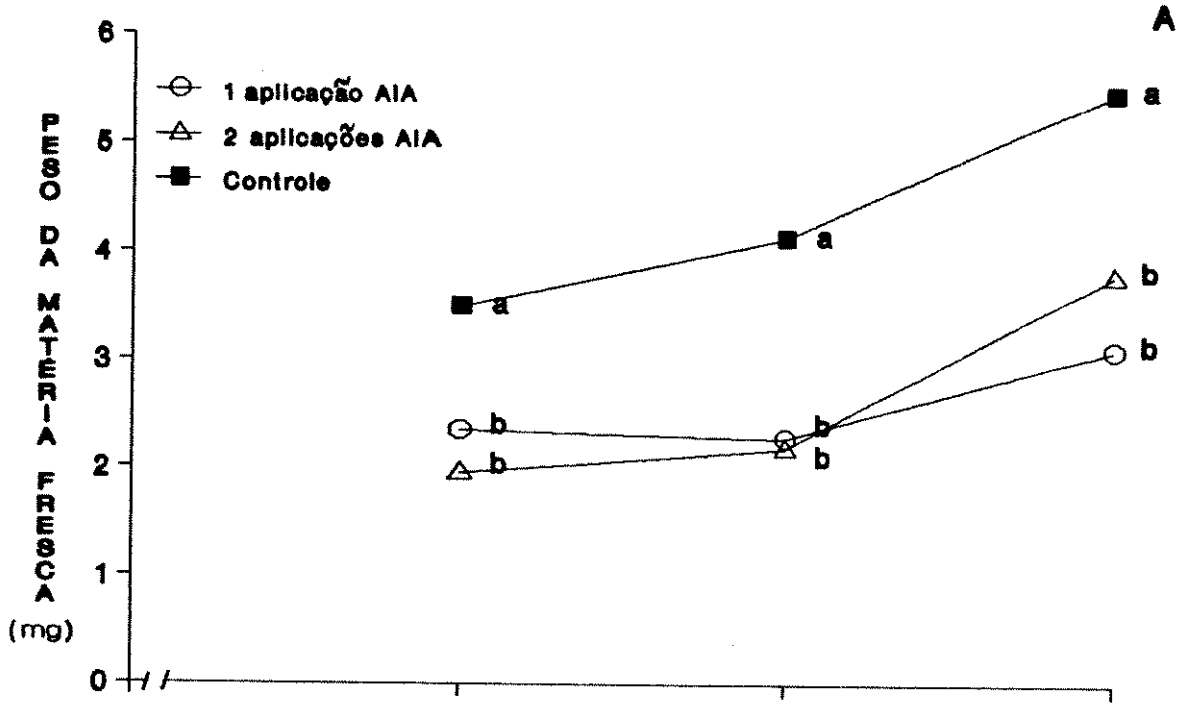


FIG.25 - Peso da matéria fresca (A) e da matéria seca (B) de plântulas de *S. allagophylla* crescidas em areia umedecida com solução nutritiva 40% acrescida de 1 ou 2 aplicações de AIA. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

TABELA 18 - Efeito da aplicação de AIA sobre o número de pares de folhas em plântulas de *S. allagophylla*.

TEMPO (dias)	CONTROLE	NÚMERO DE APLICAÇÕES DE AIA	
		1	2
		número de pares de folhas	
21	2,52 a	2,58 a	2,34 a
28	2,96 a	2,88 a	2,86 a
35	3,18 a	3,00 a	3,32 a

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada tempo. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

TABELA 19 - Efeito da aplicação de AIA sobre a presença de grãos de amido no hipocótilo em plântulas de *S. allagophylla*

TEMPO (dias)	CONTROLE	NÚMERO DE APLICAÇÕES DE AIA	
		1	2
		grãos de amido	
21	+	±	+
28	+	-	-
35	+	±	-

- ausência de grãos de amido

± 50% ou menos de plântulas apresentavam grãos de amido

+ 100% das plântulas apresentavam grãos de amido

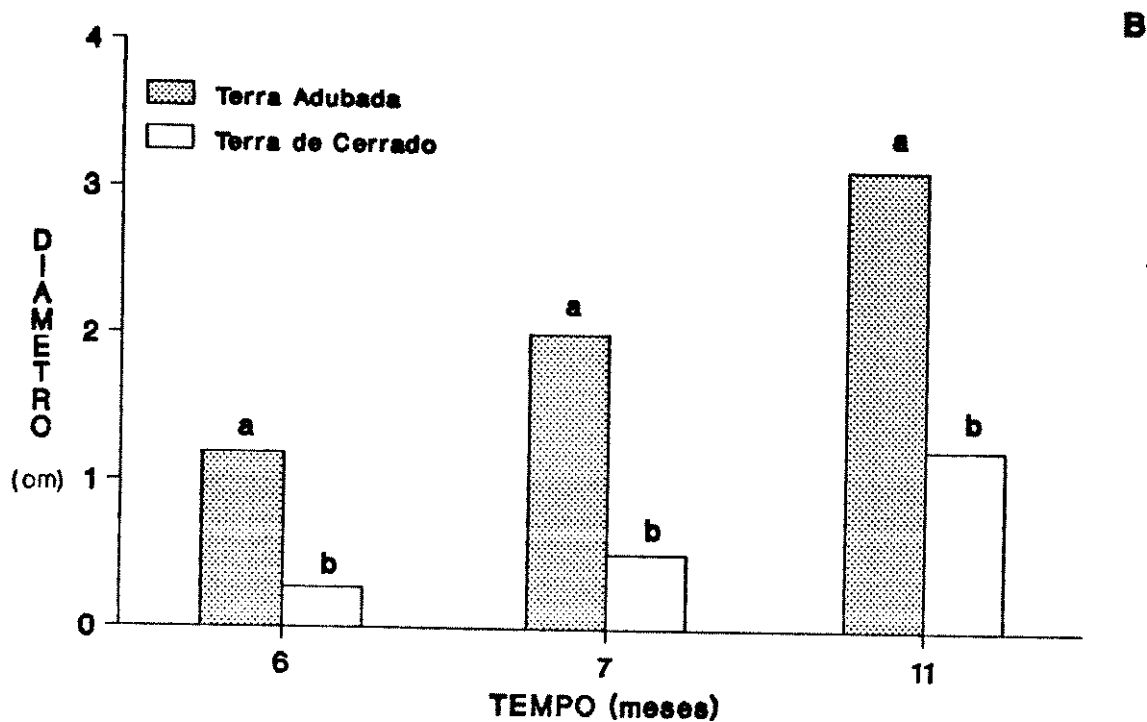
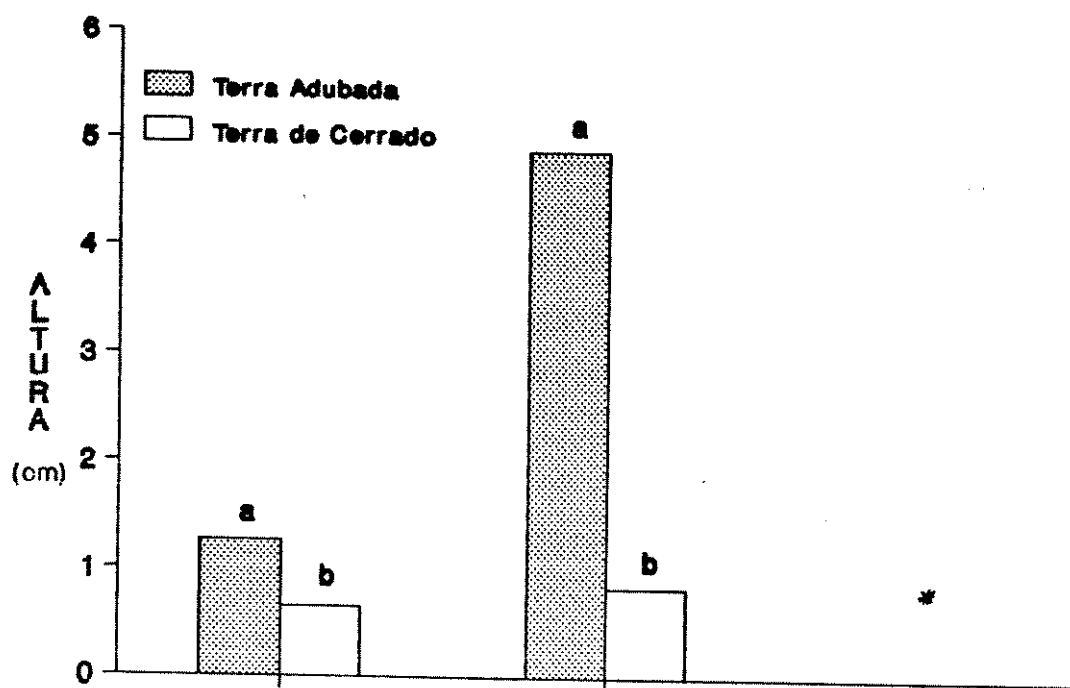
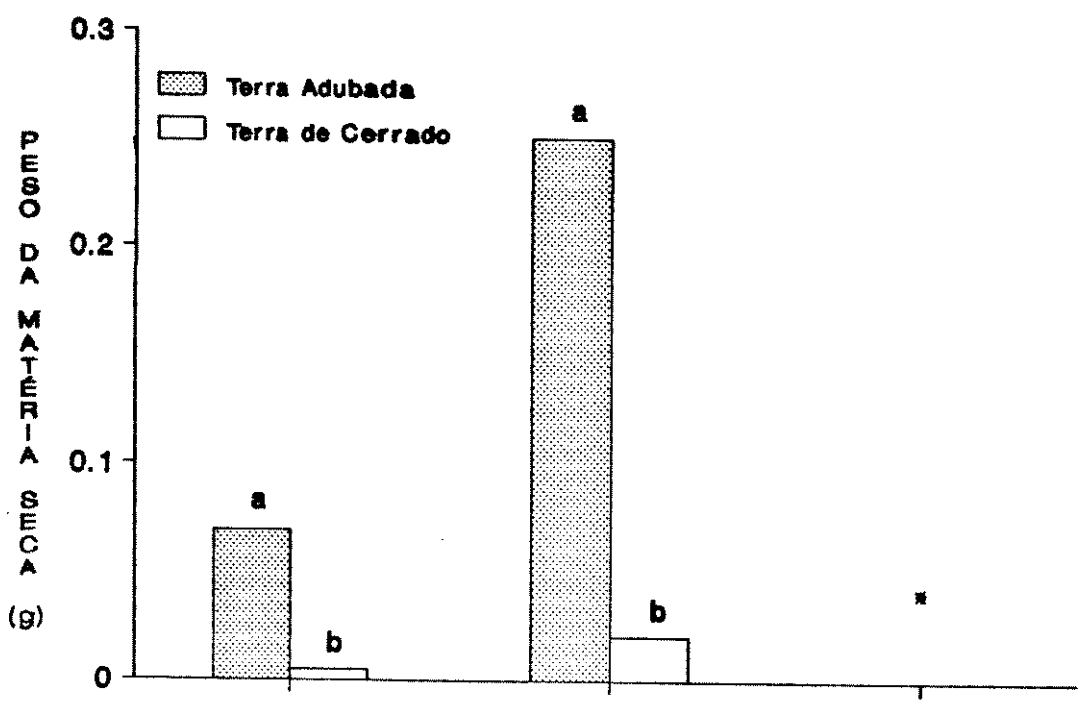


FIG.26 - Altura da parte aérea (A) e diâmetro do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de *S. allagophylla* crescidas em vasos com terra adubada ou com terra de cerrado

\* Senescência foliar (março de 1991)

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente entre si (teste de T 5%)

A



B

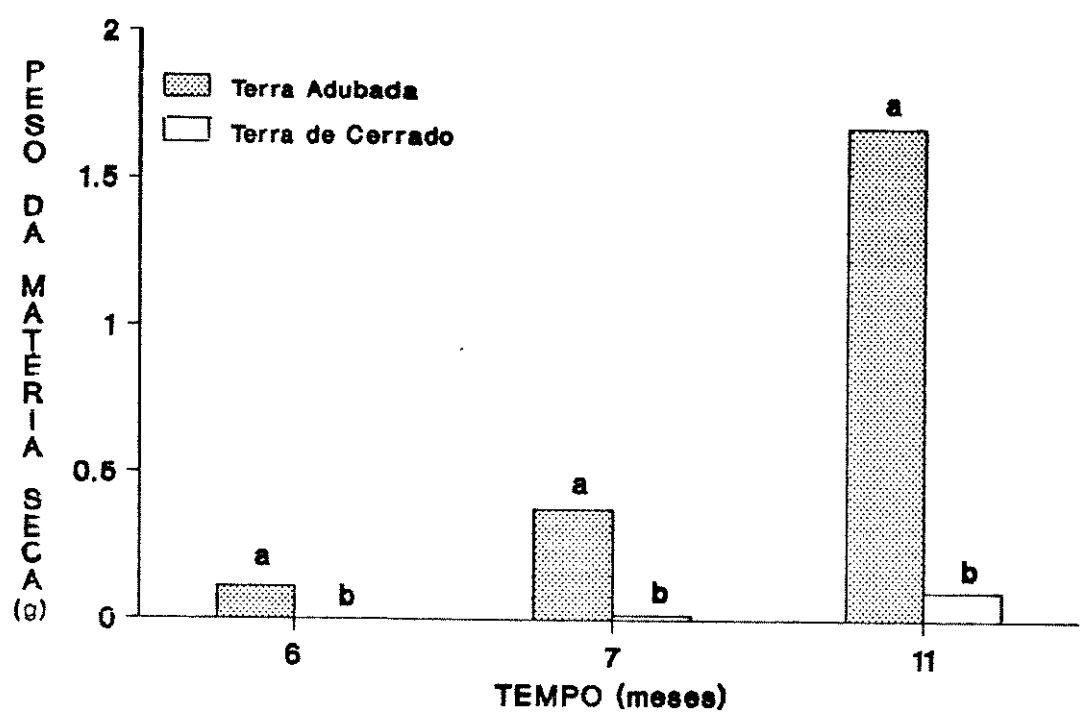


FIG.27 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de *S. allagophylla* crescidas e vasos com terra adubada e com terra de cerrado .

\* Senescência da parte aérea (março de 1991)  
 Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês.  
 Médias seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente entre si (teste de T 5%)



observadas a partir dos 6 meses de idade, quando se iniciaram as medidas, e foram constatadas até a entrada em dormência do órgão subterrâneo espessado aos 11 meses de idade. A razão entre o peso do órgão subterrâneo espessado e o peso total da planta confirmou que o crescimento deste órgão foi maior em terra adubada (TAB.20). O conteúdo relativo de água não variou ao longo dos meses, e foi de 94,02% para parte aérea e 90,28% no órgão subterrâneo espessado.

Em vista do crescimento muito lento das plantas em terra de cerrado, optou-se pelo uso de terra adubada em todos os experimentos em casa de vegetação, com fotoperíodo natural.

### 3.3.1. Aspectos fenológicos

Sementes recém-colhidas foram plantadas no mês de dezembro. O crescimento destas plantas foi acompanhado ao longo de vinte e dois meses (dezembro de 1990 a setembro de 1992). Na FIG.28 estão esquematizadas as diferentes fases fenológicas observadas.

As plantas com dois meses de idade tinham um caule curto, passando então por uma fase de alongamento (FIG.29), mas com 4 meses, houve uma parada de crescimento; nesta fase, as plantas possuíam de 7 a 9 pares de folhas. O processo de senescência da parte aérea ocorreu de abril a junho. Com 7 meses (julho), a parte aérea estava totalmente seca e o órgão subterrâneo espessado estava dormente, permanecendo assim até o final de agosto. A brotação ocorreu em setembro e, em menos de um mês, 7,5% do lote de plantas havia ápice floral (ápice formado por inúmeras escamas sobrepostas). Com 12 meses (no segundo ciclo de crescimento), as plantas atingiram a altura máxima. Sinais de senescência apareceram em março; em abril toda a parte aérea estava seca, iniciando um novo ciclo de dormência do órgão subterrâneo espessado.

O órgão subterrâneo espessado teve um aumento gradual no diâmetro e no volume (FIG.30A,B), mas o crescimento acentuado

TABELA 20 - Razão órgão subterrâneo espessado/planta toda (%), em plantas de *S. allagophylla* crescidas em terra adubada e de cerrado.

TEMPO (meses)	TRATAMENTOS	
	ADUBADA	CERRADO
6	61	29
7	59	30
11	100	100

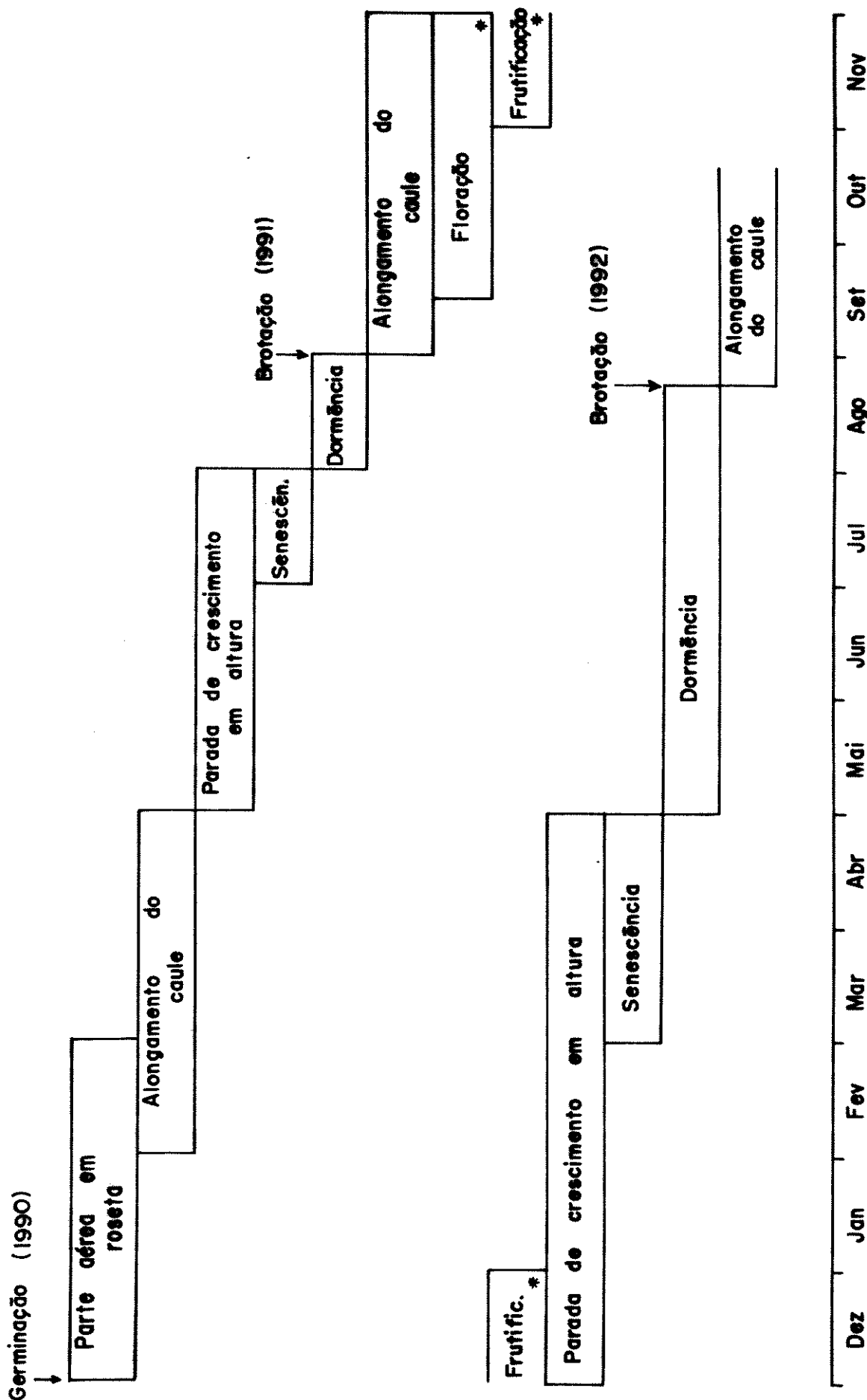


FIG.28 - Fenograma de *S. allagophylla* crescendo em casa de vegetação. Observações efetuadas de dezembro de 1990 a setembro de 1992

\* floração e frutificação em 7,3% das plantas

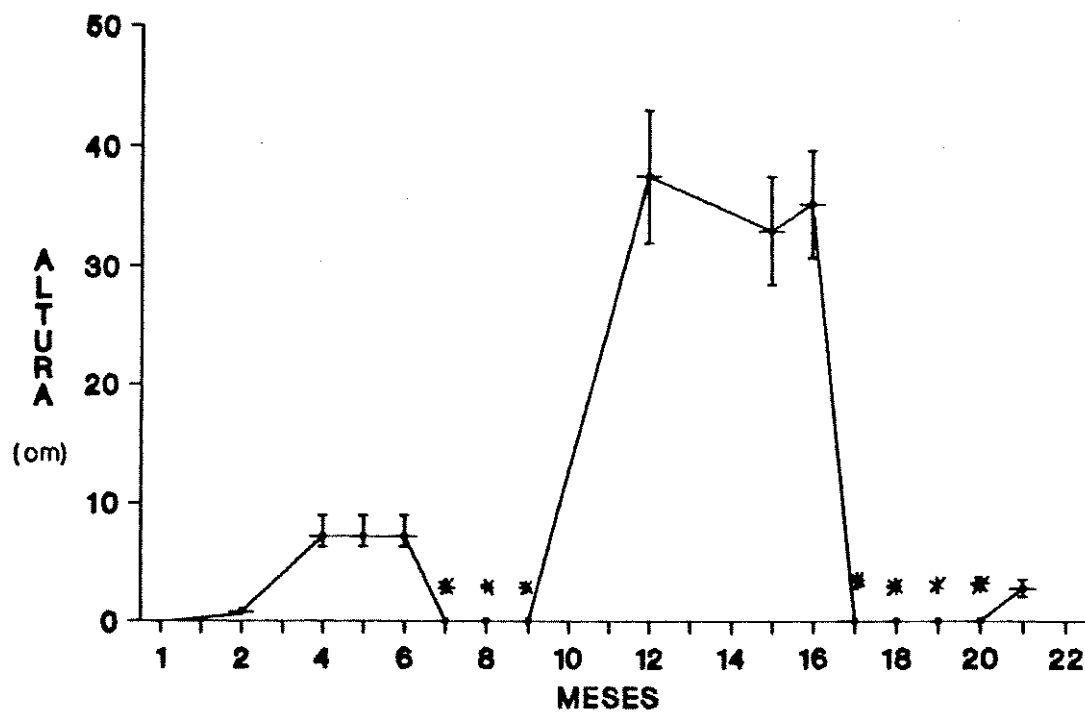


FIG.29 - Altura da parte aérea de *S. allagophylla* durante 21 meses.

\* Senescência da parte aérea  
Barras correspondem ao limite de confiança, ao nível de significância de 5%.

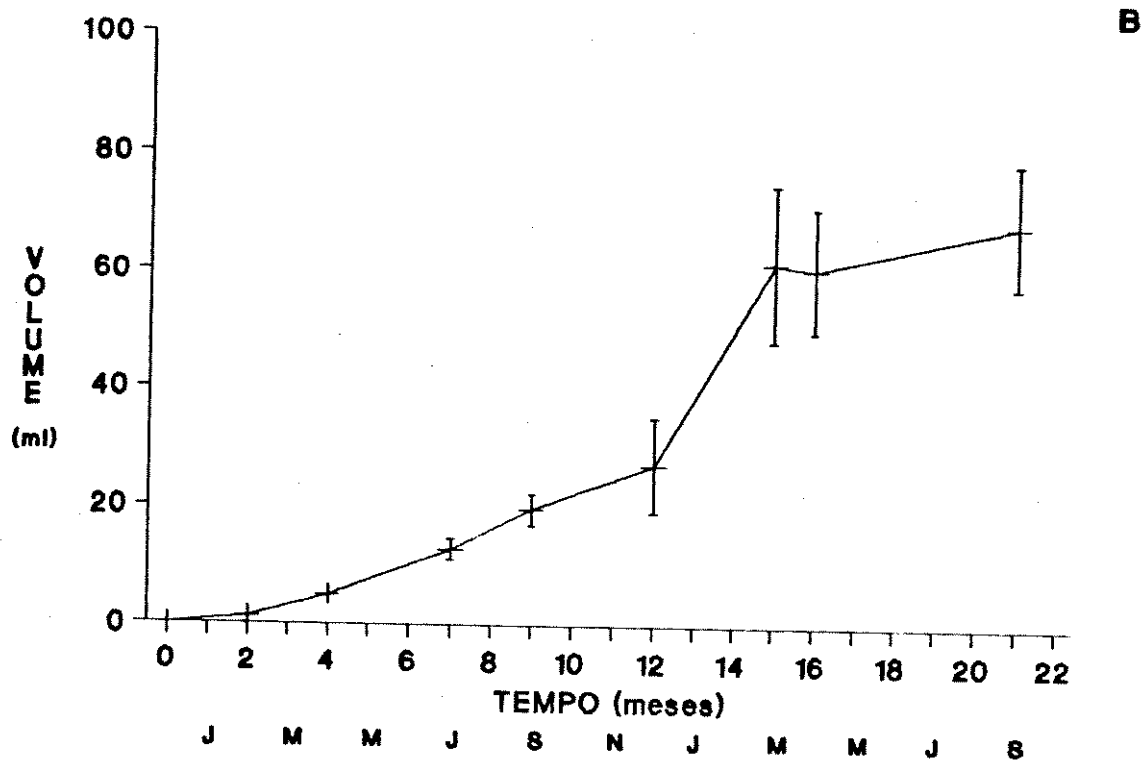
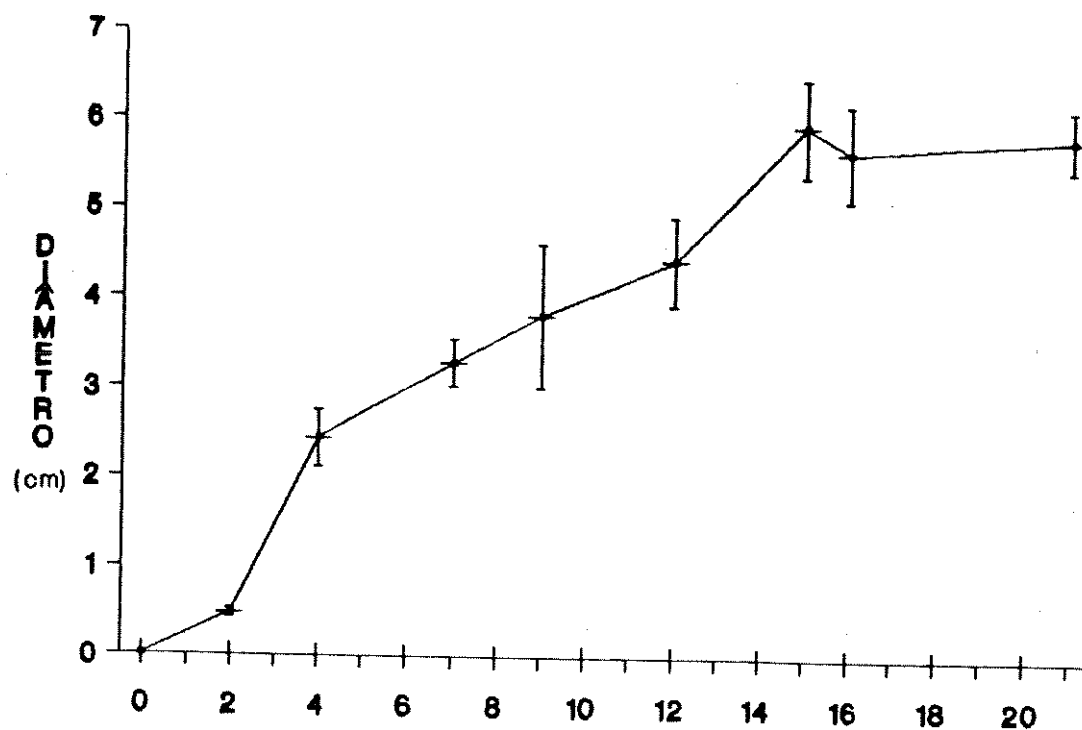


FIG.30 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado de *S. allagophylla* durante 21 meses. Barras correspondem ao limite de confiança, ao nível de significância de 5%.

a partir dos 12 meses pode ser melhor observado através do volume (FIG.30B).

Enquanto que o aumento da matéria seca da parte aérea foi interrompido por períodos em que não houve parte aérea (FIG.31A), o órgão subterrâneo espessado teve um aumento gradual, exceto nos períodos de dormência aos 7, 17, 18 e 19 meses (FIG.31B). O aumento de peso da matéria seca do órgão subterrâneo espessado foi menor entre 9 e 12 meses, quando ocorreu brotação e desenvolvimento da parte aérea e foi maior entre 12 e 16 meses, quando a altura da planta já havia estabilizado.

A TAB.21, indica que, aos 4 meses de idade, a razão entre o peso do órgão subterrâneo espessado e o peso total da planta foi maior que 50%. Aos 15 e 16 meses, quando a senescência da parte aérea teve início, houve um aumento desta razão para 75% e 78% respectivamente.

### 3.3.2. Efeito do fotoperíodo

O fotoperíodo afetou o crescimento de plantas já tuberizadas.

Plantas sob fotoperíodo de 18h e fotoperíodo natural apresentaram, em geral, uma altura maior; o fotoperíodo de 18h retardou a senescência da parte aérea, que ocorreu no mês de março nas plantas sob fotoperíodo natural e de 8h (FIG.32). A partir dos 8 meses de idade, foram observadas diferenças no diâmetro e volume do órgão subterrâneo espessado, sendo estes maiores no fotoperíodo de 18h e fotoperíodo natural (FIG.33A,B). A partir dos 6 meses, houve um aumento significativo no peso da matéria seca da parte aérea, em plantas mantidas no fotoperíodo de 18h e no fotoperíodo natural (FIG.34A). O mesmo ocorreu para o órgão subterrâneo espessado, nestes dois tratamentos após o 8º mês (FIG.34B). Apesar do fotoperíodo de 18h não ser observado na natureza no Estado de São Paulo, os resultados obtidos foram próximos ao do fotoperíodo natural, principalmente a partir do 8º mês, quando o fotoperíodo natural é mais longo. Os dados da

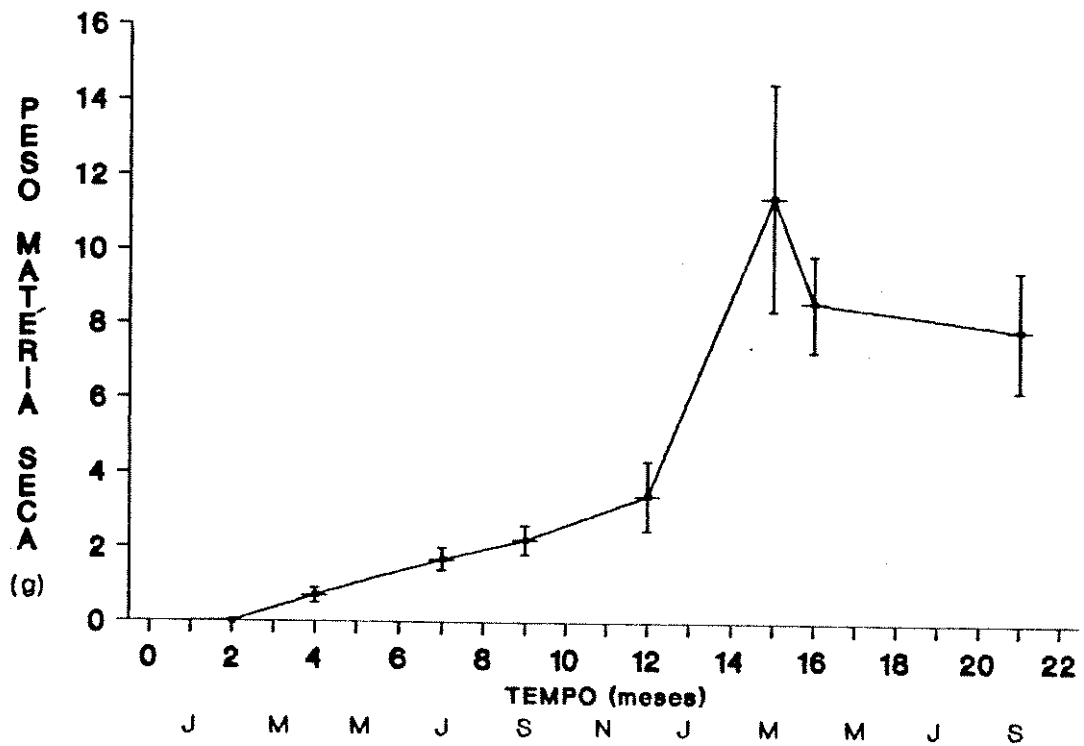
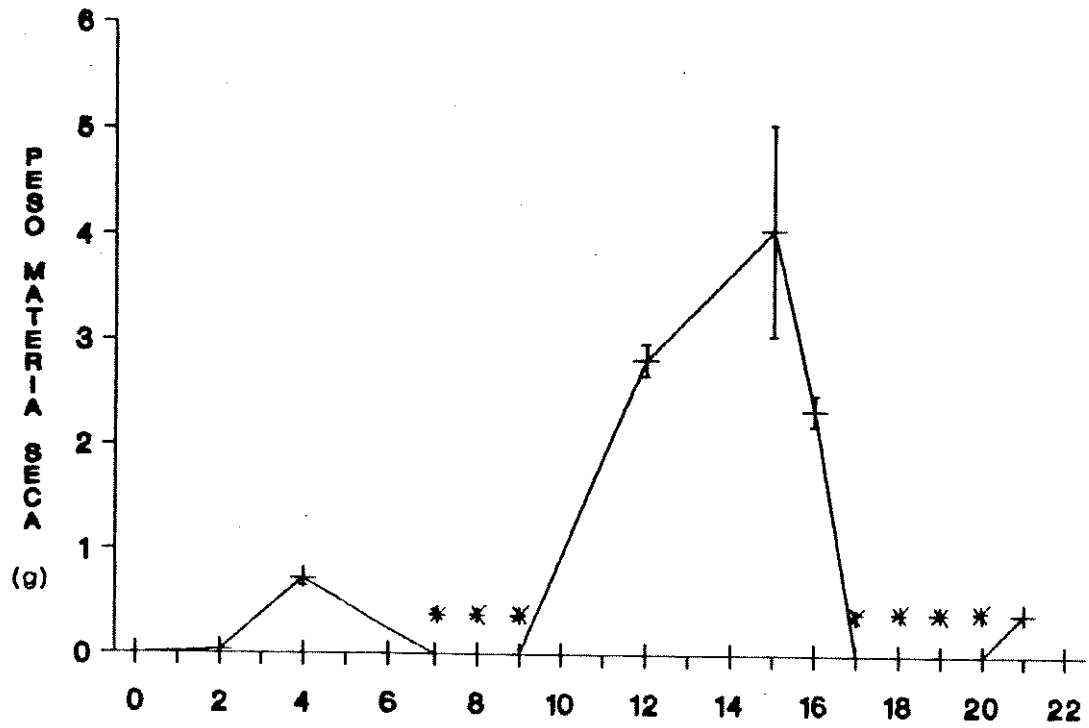


FIG.31 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de *S. allagophylla* durante 21 meses.

\* Senescência da parte aérea  
Barras correspondem ao limite de confiança, ao nível de significância de 5%.

TABELA 21 - Razão órgão subterrâneo espessado/planta toda (%) de *S. allagophylla* crescida em casa de vegetação.

---

TEMPO (meses)	(%)
4	52,6
7	100,0
9	100,0
12	53,3
15	75,2
16	78,5
21	100,0

---



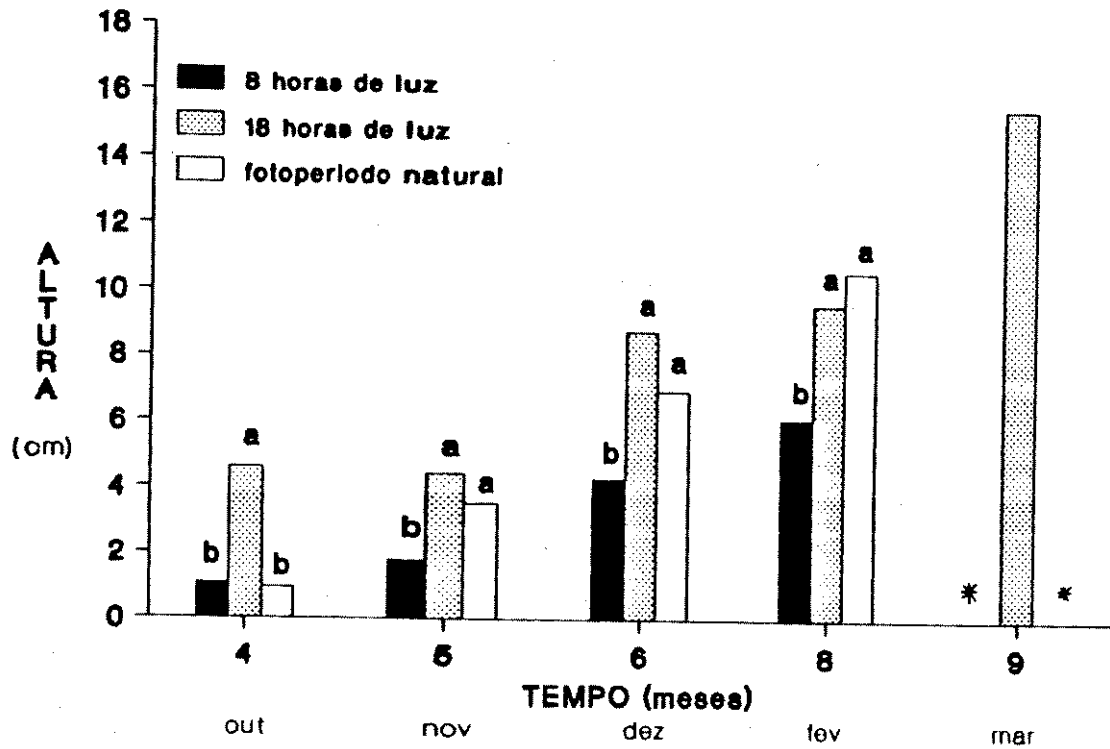


FIG.32 - Altura da parte aérea de plantas de *S. allagophylla* mantidas sob fotoperíodo de 8, 18h ou natural.

\* Senescência da parte aérea  
 Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês.  
 Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

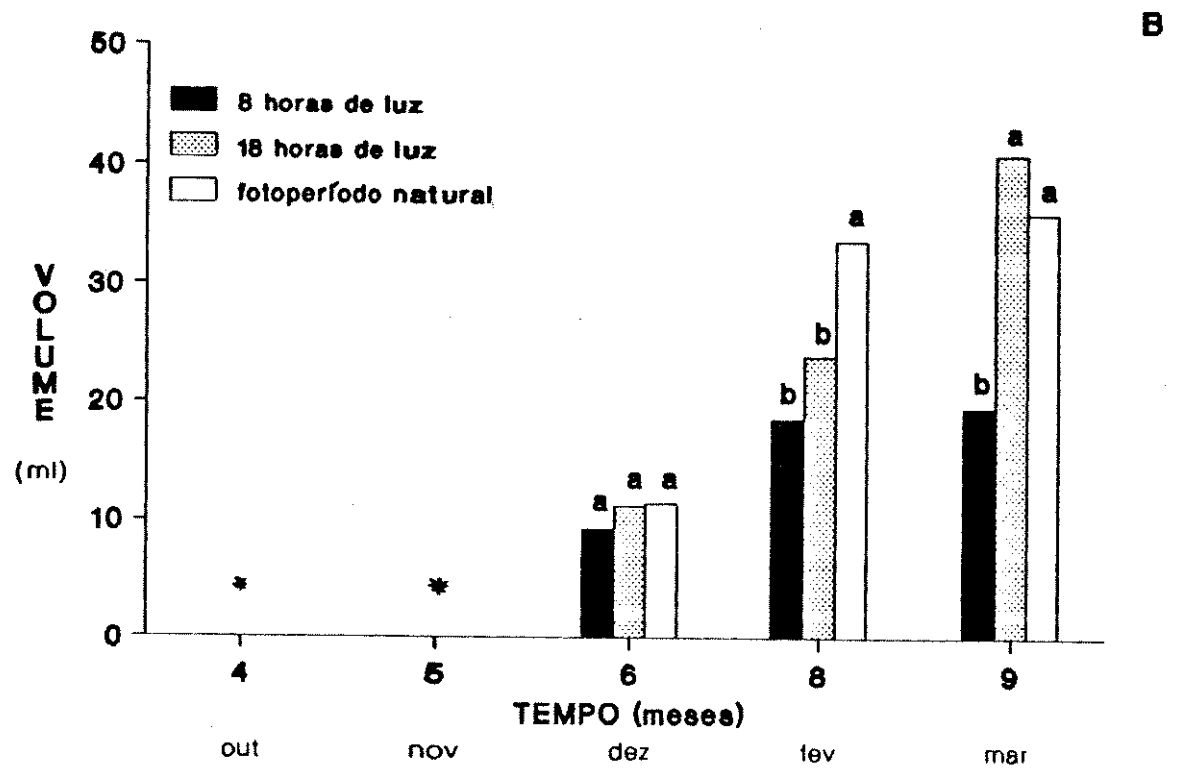
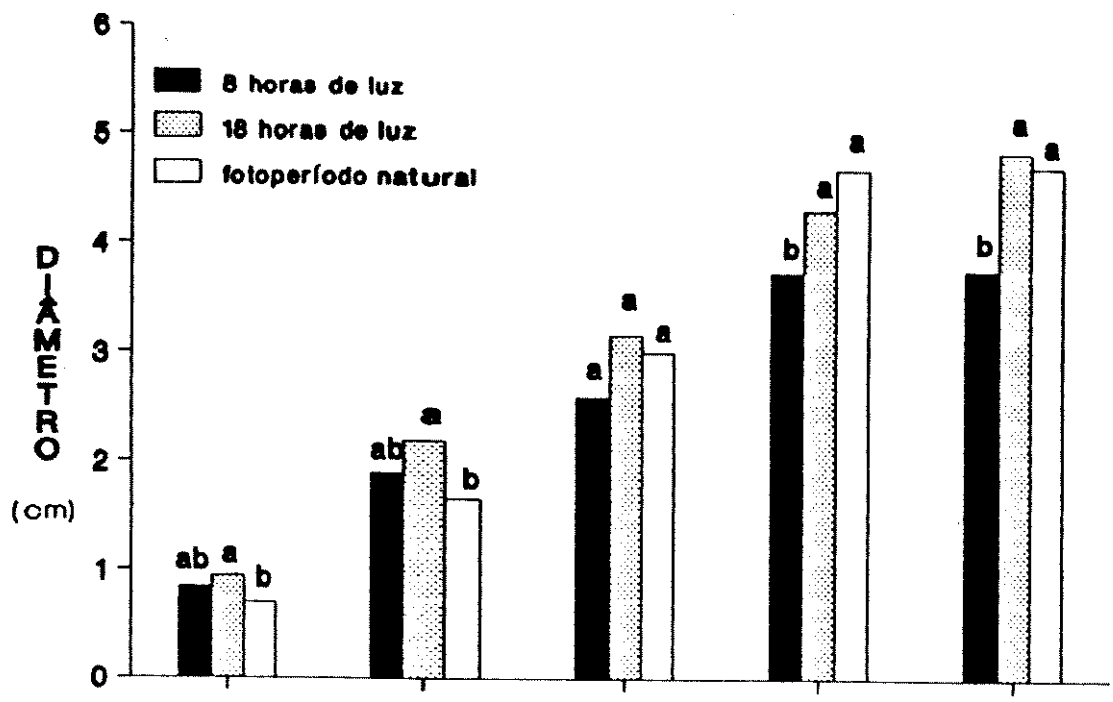


FIG.33- Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado, de plantas de *S. allagophylla* mantidas sob fotoperíodo de 8, 18h ou natural.

\* Medidas não foram efetuadas aos 4 e 5 meses de idade. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

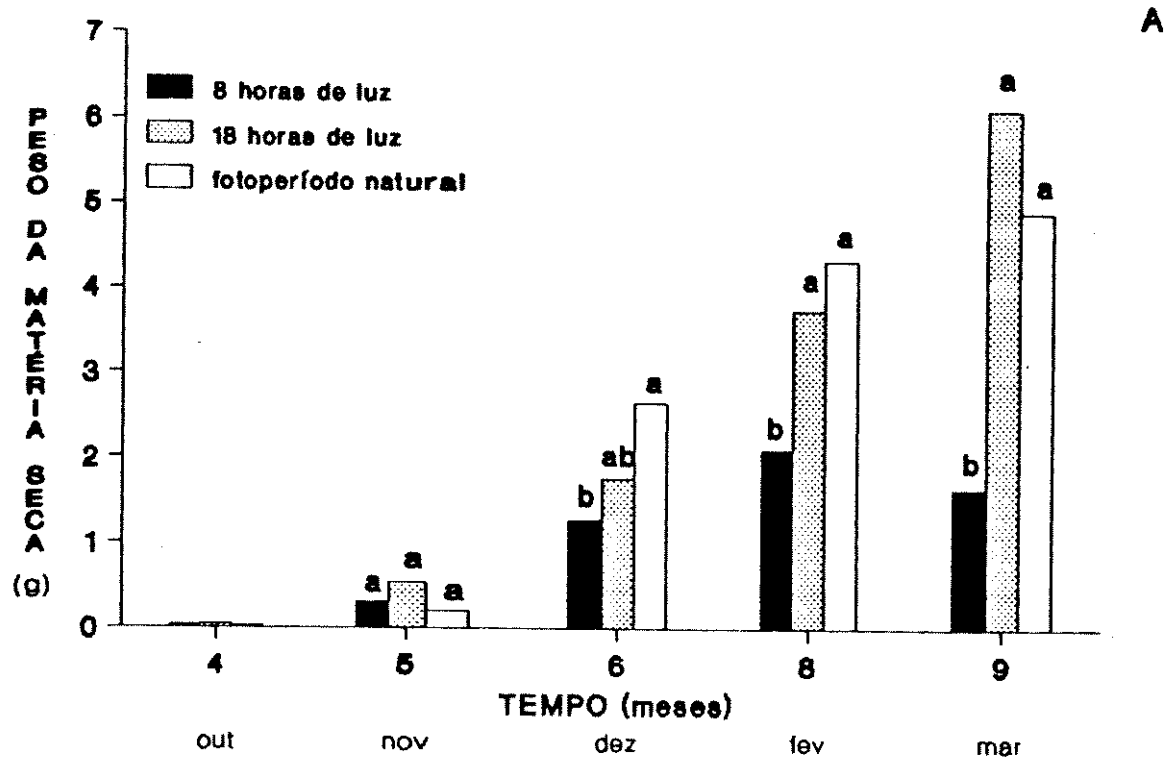
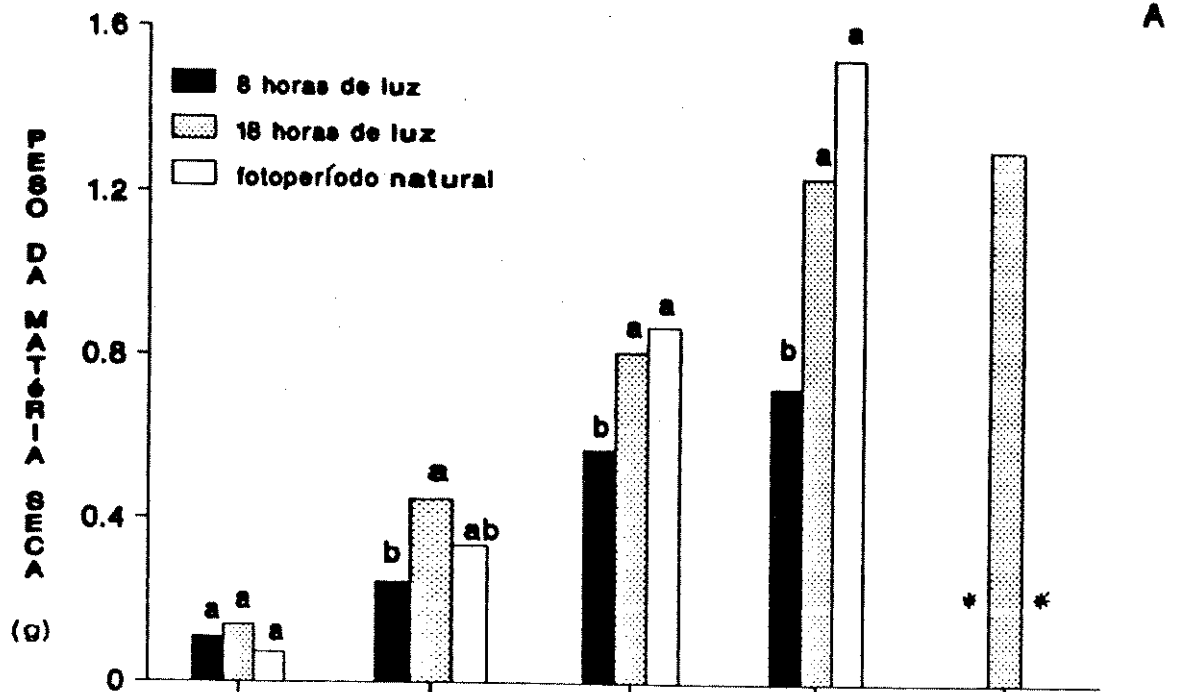


FIG.34 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de *S. allagophylla* mantidas sob fotoperíodo de 8, 18h e natural.

\* Senescência da parte aérea

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

TAB.22 indicam que não houve variação entre os diferentes tratamentos fotoperiódicos quanto à razão entre o peso do órgão subterrâneo espessado e o peso total da planta.

O número de pares de folhas presentes nos diferentes tratamentos foi maior no fotoperíodo de 8h aos 4 e 5 meses; porém, aos 6 e 8 meses de idade, foi semelhante aos demais tratamentos. Aos 9 meses, houve senescência foliar nos fotoperíodos natural e de 8h (TAB.23). O fato do número total de pares de folhas ter sido pouco afetado pelos tratamentos fotoperiódicos mostrou que o aumento de altura da parte aérea estava relacionado ao alongamento dos entrenós (TAB.23).

O conteúdo de amido no órgão subterrâneo espessado foi semelhante em plantas sob fotoperíodo de 8 e 18h, porém nas plantas sob 18h de luz o conteúdo de carboidratos solúveis foi menor (TAB.24).

### 3.3.3. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento

#### - efeito do $GA_3$ e inibidores de síntese de GAs

As plantas foram mantidas em fotoperíodo natural.

Em plantas com dois meses de idade, foram aplicados  $GA_3$  e CCC semanalmente; após 1 e 2 meses de aplicações, foram tomadas medidas de crescimento das plantas (portanto, plantas com 3 e 4 meses de idade).

A altura das plantas tratadas com  $GA_3$  foi seis vezes maior aos 3 meses de idade e quatro vezes e meia maior aos 4 meses de idade (FIG.35). CCC não alterou a altura das plantas (FIG.35). A TAB.25 sugere que o aumento em altura causado por  $GA_3$ , se deve ao alongamento dos entrenós, pois o número de pares de folhas não foi alterado. Quanto ao órgão subterrâneo espessado não foi observada diferença significativa no diâmetro ou no volume (FIG.36A,B). Não houve um aumento no peso da matéria seca da parte aérea em plantas tratadas com  $GA_3$  (FIG.37A). Houve um decréscimo no peso da matéria seca do órgão subterrâneo espessado tratado com  $GA_3$  [ $50\mu\text{g}/10\mu\text{l}$ ] em relação ao controle, porém esta

TABELA 22 - Razão órgão subterrâneo espessado/planta toda (%) de *S. allagophylla* crescida em casa de vegetação sob fotoperíodo de 8, 18h e natural (FN).

TEMPO (meses)	FOTOPERÍODO		
	8h	18h	FN
4	25,51	24,83	22,87
5	55,49	54,74	38,81
6	69,09	70,44	66,80
8	74,44	75,11	73,93
9	100,00	82,53	100,00

TABELA 23 - Efeito dos fotoperíodos de 8, 18h e natural (FN) sobre o número de pares de folhas em plantas de *S. allagophylla*.

TEMPO (meses)	FOTOPERÍODO		
	8h	18h	FN
número de pares de folhas presentes			
4	4,1 a	3,2 b	3,9 ab
5	4,6 a	3,7 b	5,0 a
6	3,3 a	3,3 a	3,9 a
8	4,3 a	4,0 a	4,1 a
9	senescência	3,8	senescência
número total de pares de folhas*			
6	4,1 a	5,0 ab	6,0 b
8	5,9 a	5,9 a	5,5 a
9	senescência	5,6	senescência

\* contando as abscisadas

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

TABELA 24 - Carboidratos solúveis e amido do órgão subterrâneo espessado em plantas de *S. allagophylla* com 6 meses de idade, sob fotoperíodo de 18h, 8h e natural (FN).

FOTOPERÍODO	CONTEÚDO DE CARBOIDRATO TOTAL (mg/unidade de órgão subterrâneo)	
	SOLÚVEL	AMIDO
8h	215,760	713,745
18h	270,890	1555,770
FN	300,440	864,261

	CONTEÚDO RELATIVO DE CARBOIDRATO (mg/g peso de matéria seca)	
	SOLÚVEL	AMIDO
8h	170,160 a	562,896 a
18h	102,340 b	587,754 a
FN	171,390 a	493,020 a

Letras comparam médias entre os tratamentos.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

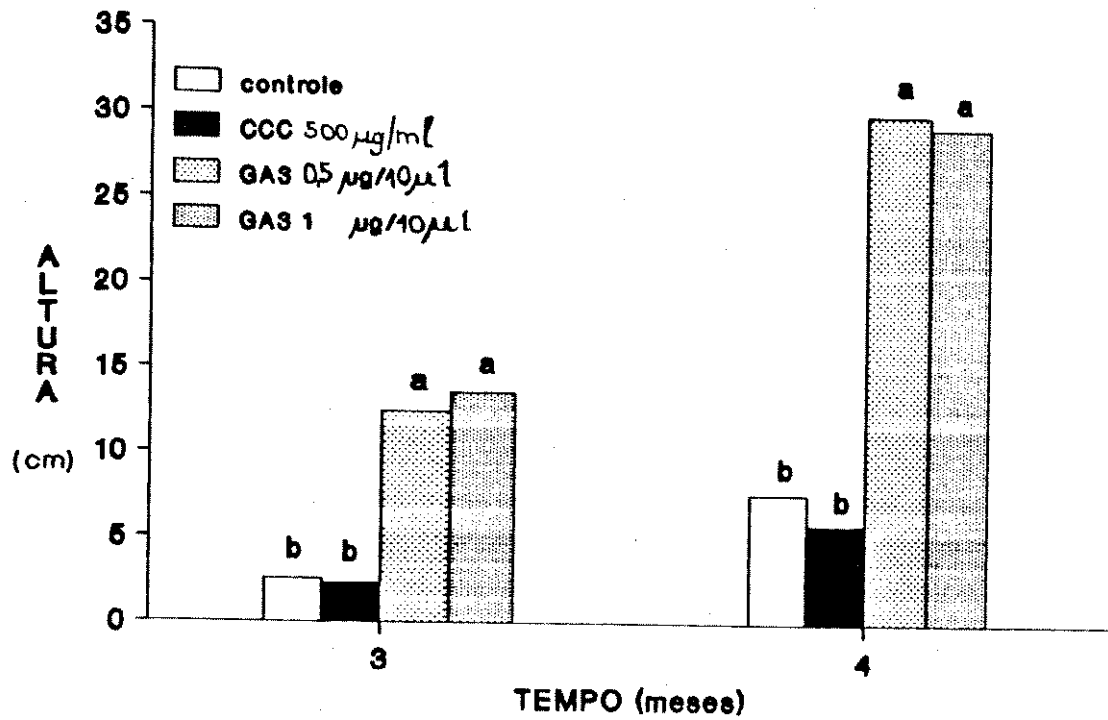


FIG.35 - Altura da parte aérea, de plantas mantidas de *S. allagophylla* tratadas com GA<sub>3</sub> e CCC. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)



TABELA 25 - Efeito da aplicação de GA<sub>3</sub> e CCC sobre o número de pares de folhas total, em plantas de *S. allagophylla* com 4 meses de idade.

TEMPO (meses)	CONTROLE	TRATAMENTOS		
		CCC	GA <sub>3</sub> [0,5µg/10µl]	GA <sub>3</sub> [1µg/10µl]
4	7,0 a	6,8 a	7,4 a	7,5 a

Letras comparam médias entre os tratamentos.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

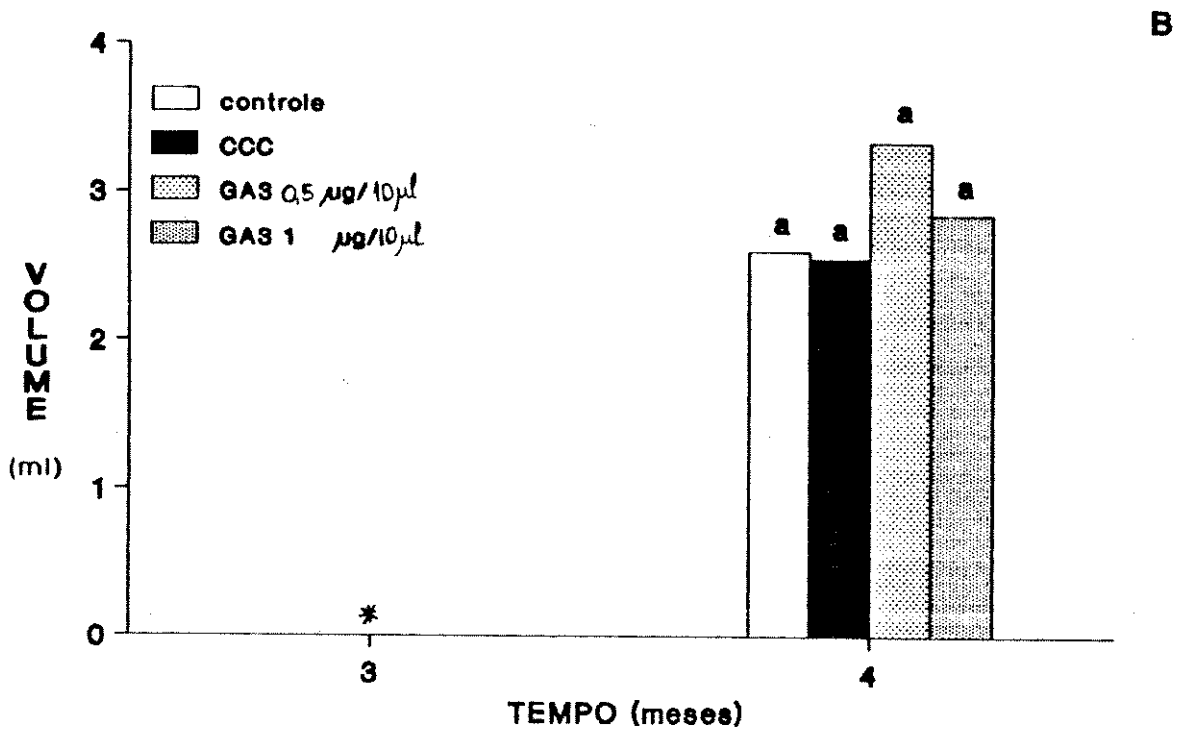
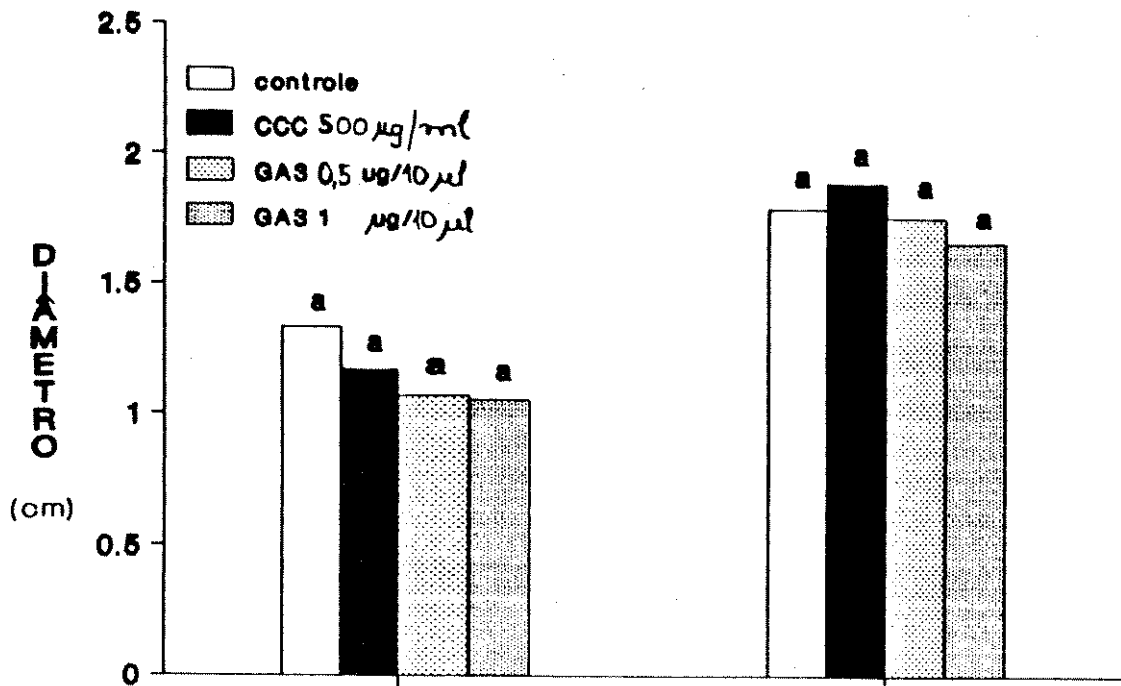


FIG.36 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado, de plantas de *S. allagophylla* tratadas com GA<sub>3</sub> e CCC.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

\* Medidas não foram efetuadas aos 3 meses de idade.

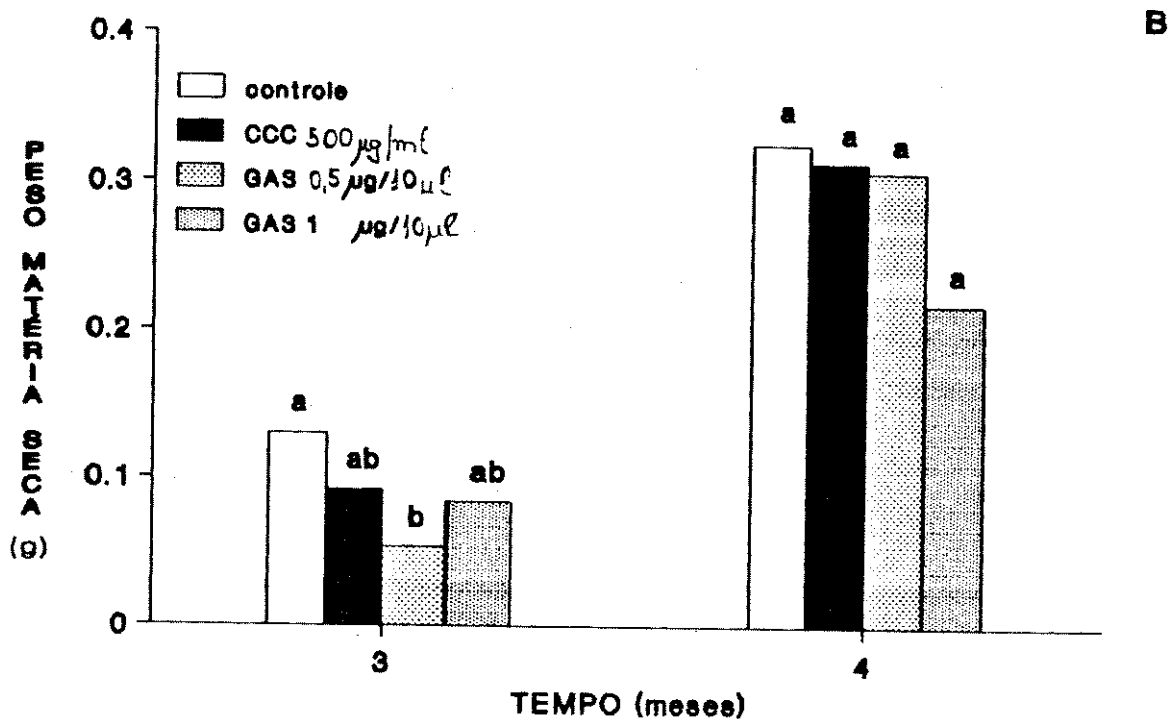
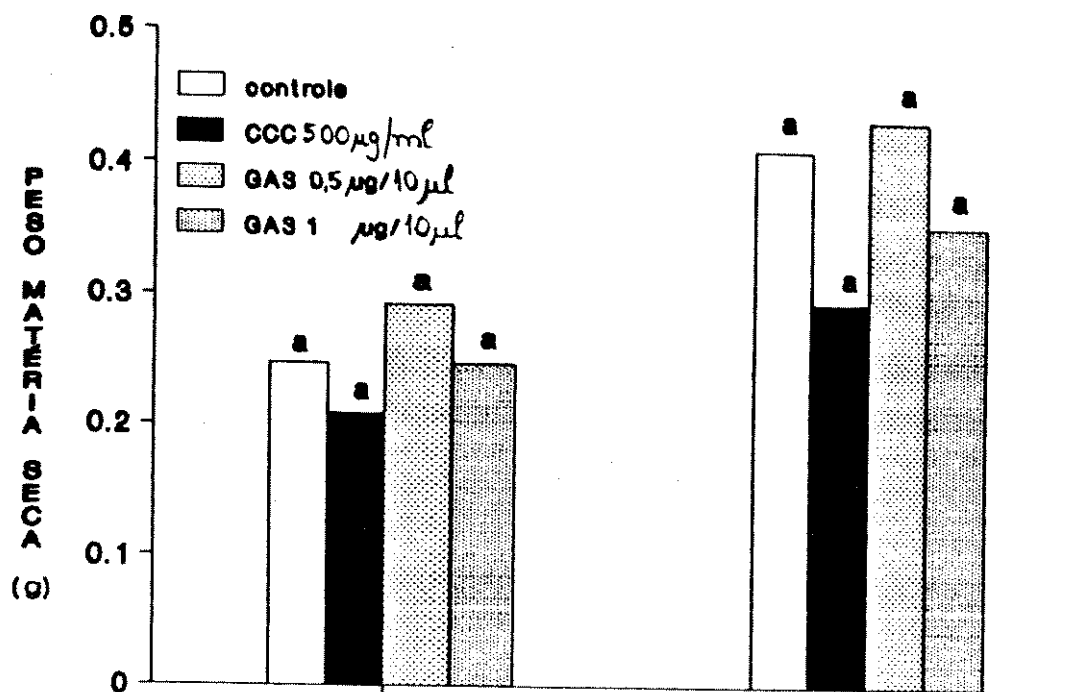


FIG.37 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de *S. allagophylla* tratadas com GA<sub>3</sub> e CCC.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Teste Tukey 5%).

diferença não se manteve aos quatro meses de idade (FIG.37B)

A razão entre o peso do órgão subterrâneo espessado e o peso total da planta foi menor nas plantas tratadas com GA<sub>3</sub>, porém esta diferença não se manteve nas plantas com 4 meses de idade mas nesta idade a razão foi diminuída por CCC (TAB.26).

Em outro experimento plantas foram tratadas com GA<sub>3</sub>, CCC e Paclobutrazol aos 4 meses de idade. Após 1 e 2 meses de aplicações (isto é, plantas com 5 e 6 meses de idade), observou-se que o efeito sobre a altura foi semelhante ao do experimento anterior. Desta forma, GA<sub>3</sub> promoveu o crescimento em altura da parte aérea (FIG.38). Não houve aumento significativo no diâmetro ou no do volume do órgão subterrâneo espessado tratado com CCC (FIG.39A,B). Aos 6 meses de idade, não foi observada diferença significativa no peso da matéria seca da parte aérea (FIG.40A) e no peso de matéria seca do órgão subterrâneo espessado entre as plantas controle e tratadas com GA<sub>3</sub> ou CCC (FIG.40B). As plantas tratadas com Paclobutrazol no geral tiveram seu crescimento prejudicado, sendo observada senescência e queda foliar. Houve uma diminuição significativa no peso da matéria seca do órgão subterrâneo espessado nas plantas tratadas com Paclobutrazol (FIG.40B).

O conteúdo de amido no órgão subterrâneo espessado de plantas tratadas com CCC e GA<sub>3</sub> foi menor do que nas plantas controle. O conteúdo de carboidratos solúveis foi significativamente maior nas plantas tratadas com GA<sub>3</sub> (TAB.27).

#### - efeito de BA

Benzil-adenina (BA) foi aplicada em plantas com 3 meses de idade através de microagulha, diretamente no órgão subterrâneo espessado. Após 1 mês de aplicações semanais, não foram observadas alterações entre controle e tratado em relação à altura de parte aérea (FIG.41), diâmetro (FIG.42A), volume (FIG.42B) e peso da matéria seca do órgão subterrâneo espessado (FIG.43B). O tratamento com BA também não alterou o peso da matéria seca da parte aérea (FIG.43A). Os dados da TAB.28, da razão entre o peso do órgão subterrâneo espessado e o peso total

TABELA 26 - Razão órgão subterrâneo espessado/planta toda (%), em plantas de *S. allagophylla* com 3 e 4 meses de idade, tratadas com GA<sub>3</sub> e CCC .

TEMPO (meses)	CONTROLE	TRATAMENTOS		
		CCC	GA <sub>3</sub> [0,5µg/10µl]	GA <sub>3</sub> [1µg/10µl]
3	34,38	46,88	15,46	25,42
4	44,33	25,79	41,52	38,08

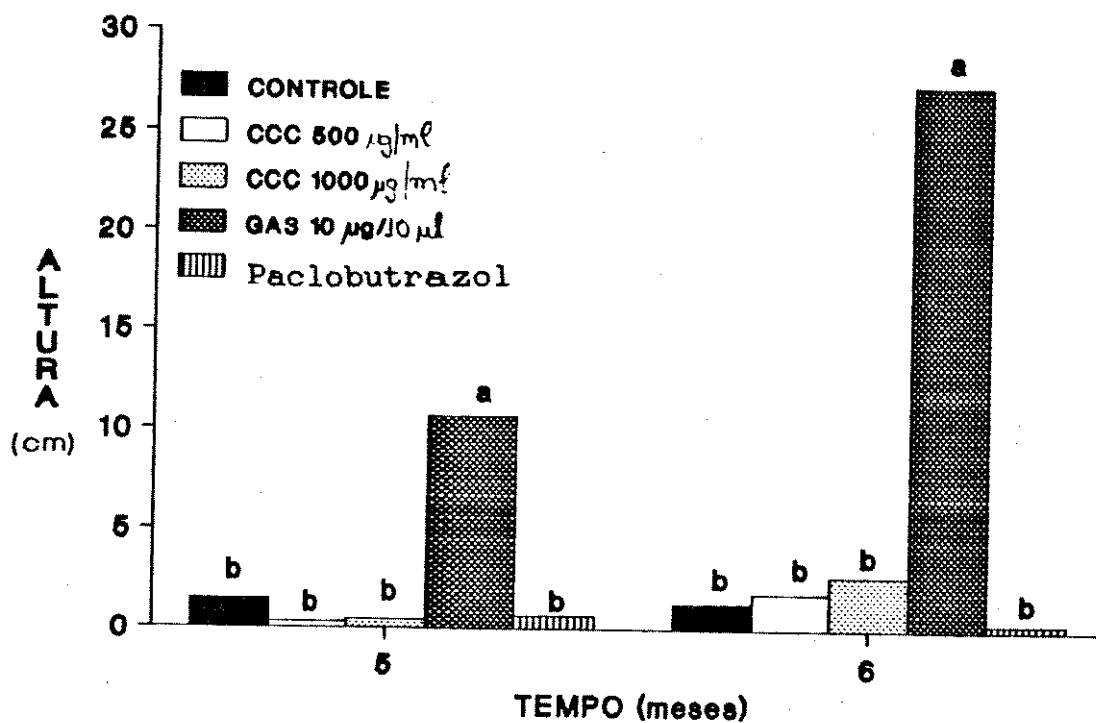


FIG.38 - Altura da parte aérea de plantas de *S. allagophylla* tratadas com GA<sub>3</sub>, CCC e Paclobutrazol. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

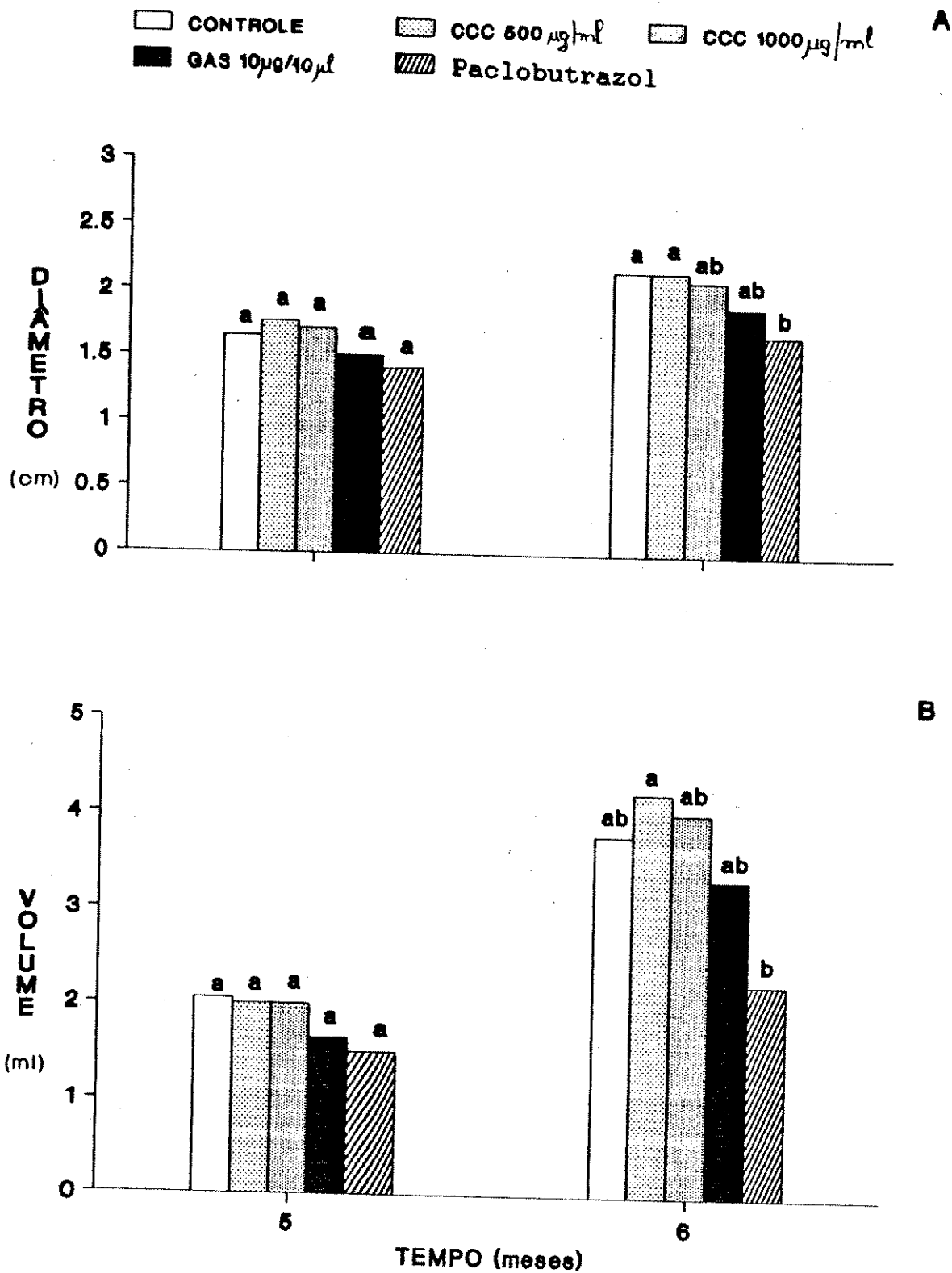


FIG.39 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado, de plantas de *S. allagophylla* tratadas com  $\text{GA}_3$ , CCC e Paclobutrazol. Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

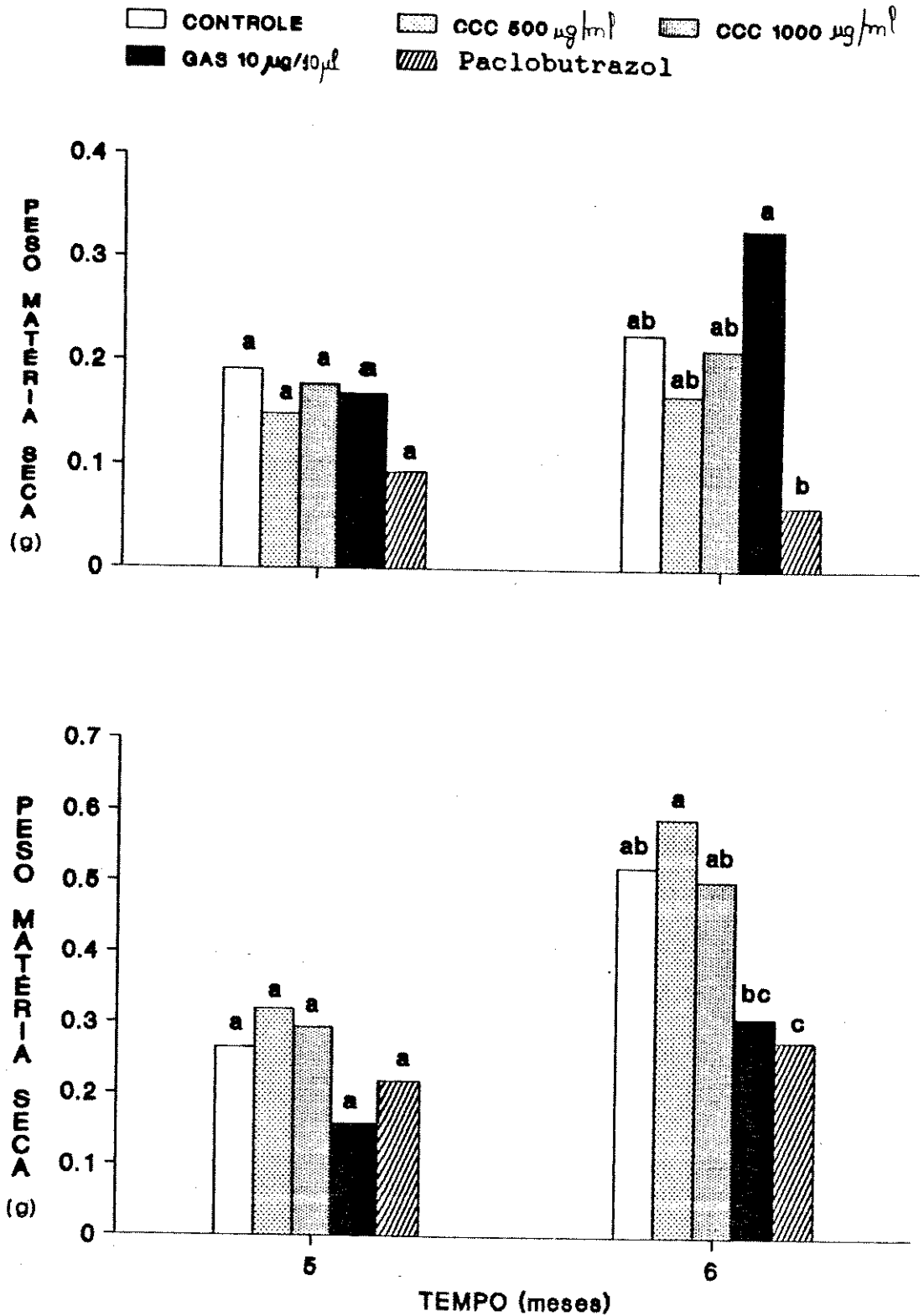


FIG.40 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de *S. allagophylla* tratadas com GA<sub>3</sub>, CCC e Paclobutrazol.

Letras comparam médias entre os tratamentos em cada mês. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).



TABELA 27 - Carboidratos solúveis e amido do órgão subterrâneo espessado de plantas de *S. allagophylla* com 5 meses de idade tratadas com GA<sub>3</sub> e CCC e Paclobutrazol.

TRATAMENTO	CONTEÚDO DE CARBOIDRATO TOTAL (mg/unidade de órgão subterrâneo espessado)	
	SOLÚVEL	AMIDO
CONTROLE	12,364	129,000
GA <sub>3</sub>	14,864	26,143
CCC ( 500 mg/l)	13,062	87,357
CCC (1000 mg/l)	8,817	74,238
PACLOBUTRAZOL	7,844	91,323

	CONTEÚDO RELATIVO DE CARBOIDRATO (mg/g peso da matéria de seca)	
	SOLÚVEL	AMIDO
CONTROLE	46,743 b	488,620 a
GA <sub>3</sub>	94,013 a	165,360 c
CCC ( 500 mg/l)	40,908 b	273,590 bc
CCC (1000 mg/l)	30,020 b	252,770 c
PACLOBUTRAZOL	35,967 b	418,720 ab

Letras comparam as médias entre os tratamentos.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

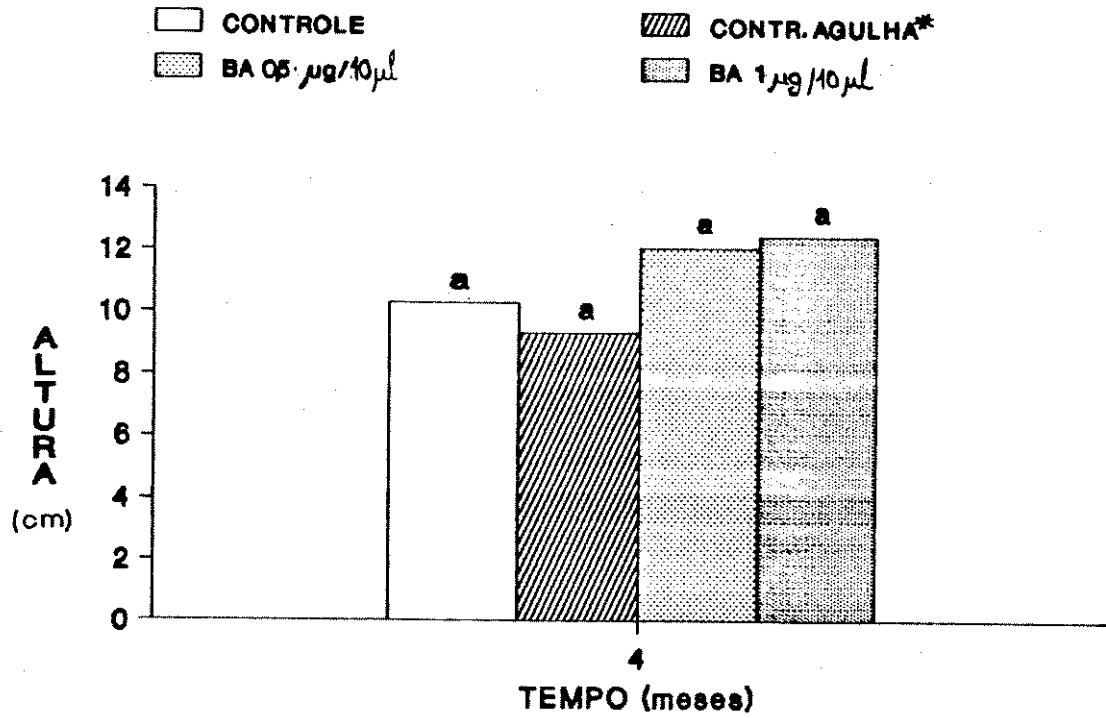


FIG.41 - Altura da parte aérea de plantas de *S. allagophylla* tratadas com BA.

Letras comparam médias entre os tratamentos.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

\* CONTR. AGULHA = água destilada aplicada com microagulha

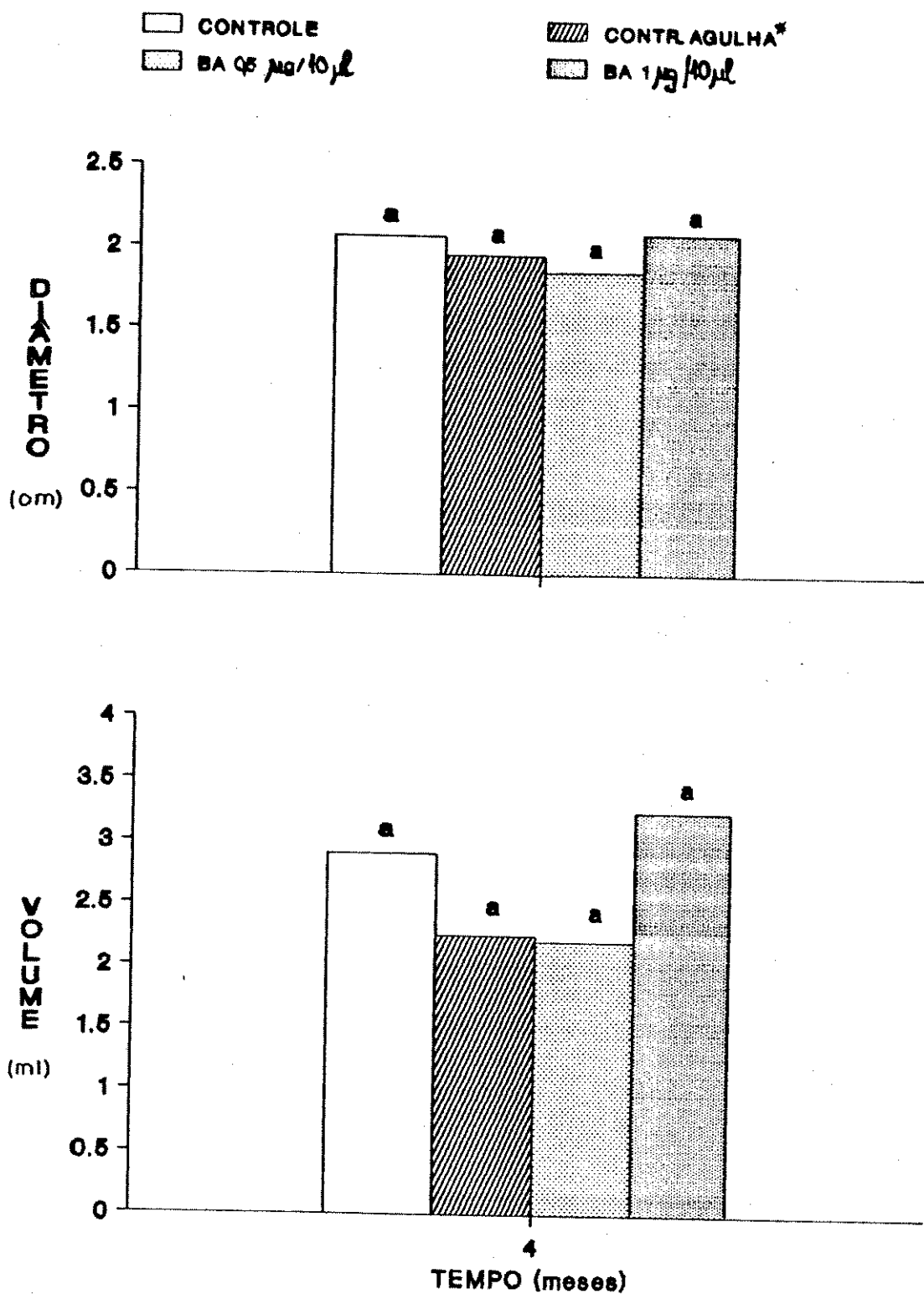


FIG.42 - Diâmetro (A) e volume (B) do órgão subterrâneo espessado de plantas de *S. allagophylla* tratadas com BA. Letras comparam médias entre os tratamentos. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

\* CONTR. AGULHA = água destilada aplicada com microagulha

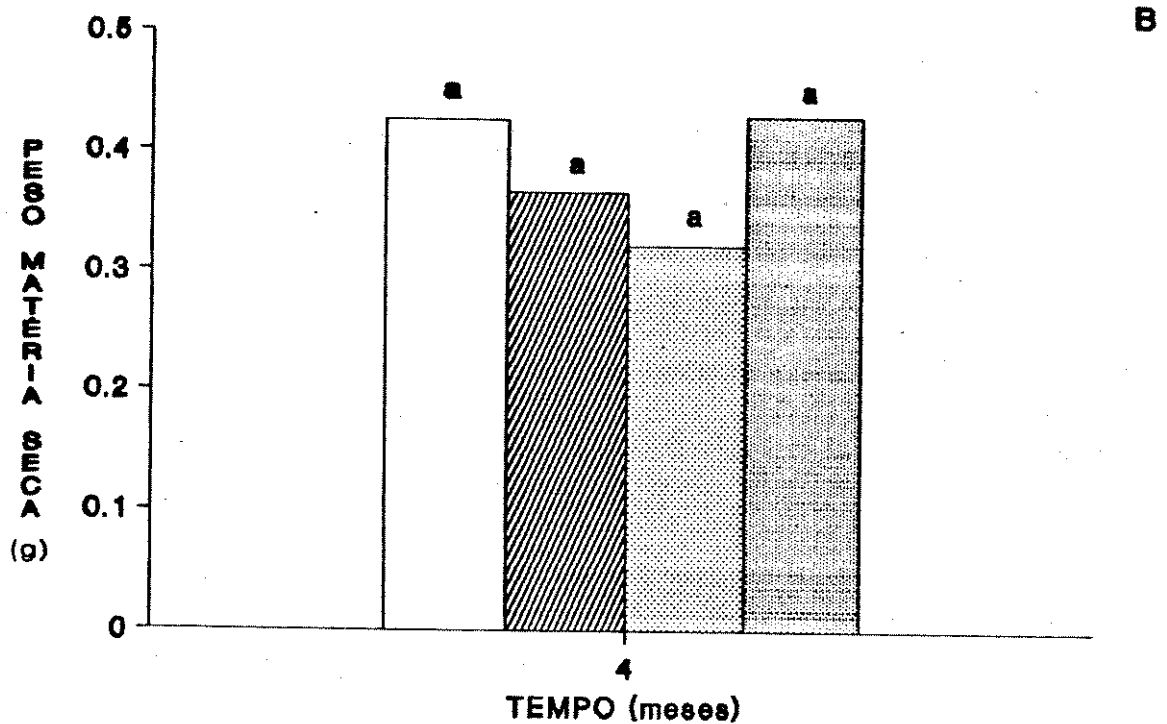
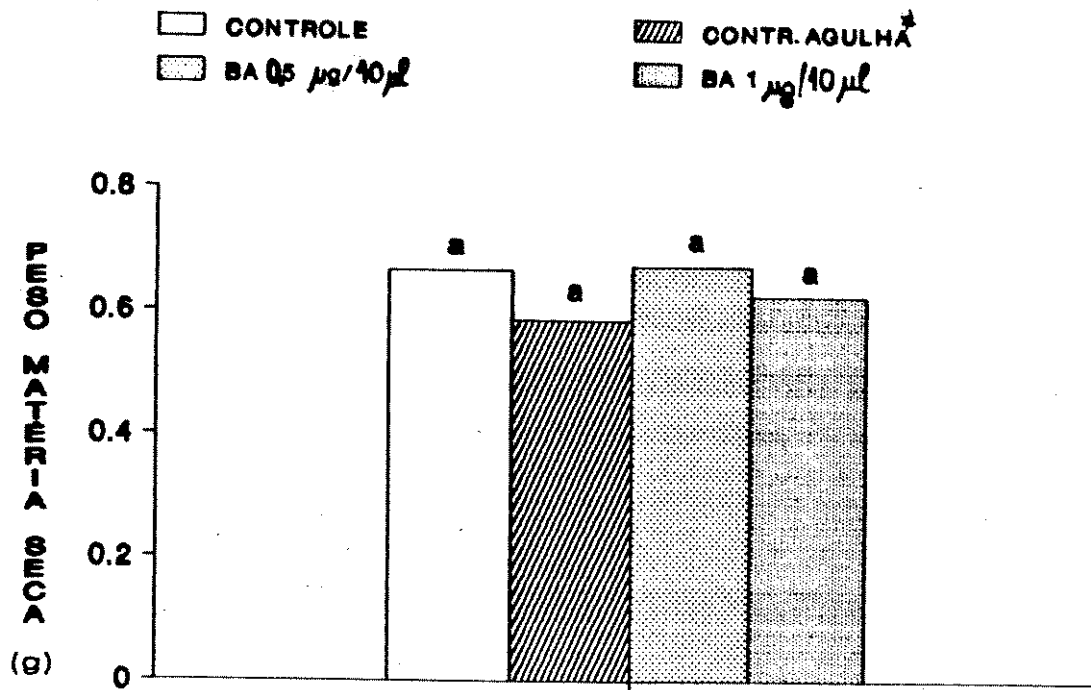


FIG.43 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de *S. allagophylla* tratadas com BA.

Letras comparam médias entre os tratamentos.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

\* CONTR. AGULHA = água destilada aplicada com microagulha

TABELA 28 - Razão Órgão subterrâneo espessado/planta toda (%), em plantas de *S. allagophylla* com 4 meses de idade tratadas com BA.

TEMPO (meses)	CONTROLE	CONTROLE MICROAGULHA	TRATAMENTOS	
			BA [0,5µg/10µl]	BA [1µg/10µl]
4	38,14 a	36,11 a	31,75 a	41,07 a

Letras coparam médias entre os tratamentos

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

da planta confirmam que não houve diferença entre os diferentes tratamentos.

*- efeito de CEPA e AgNO<sub>3</sub>*

Plantas com 3 meses de idade, receberam solução de CEPA ou solução de AgNO<sub>3</sub> através de regas na terra dos vasos. Após 1 mês de aplicações semanais, observou-se uma inibição significativa provocada por CEPA na altura da parte aérea (FIG.44). Houve, também, um efeito inibidor da maior concentração de CEPA sobre o diâmetro e volume do órgão subterrâneo espessado (FIG.45A,B). O peso da matéria seca da parte aérea também foi afetado nas duas concentrações de CEPA (FIG.46A). Não foi observada diferença significativa no peso da matéria seca do órgão subterrâneo espessado nos diferentes tratamentos (FIG.46B). A razão entre o peso do órgão subterrâneo espessado e o peso total da planta (TAB.29) foi maior nas plantas tratadas com CEPA. Os resultados apresentados na TAB.30 indicam que o número de pares de folhas produzidas pelas plantas tratadas com CEPA foi igual ao controle, porém houve no tratamento com CEPA uma queda maior de folhas em relação ao controle.

Concluindo, em casa de vegetação o fotoperíodo de 18h promoveu o desenvolvimento da parte aérea, porém pouco efeito teve sobre o órgão subterrâneo espessado. A aplicação de reguladores de crescimento não afetou o crescimento do órgão subterrâneo espessado. A altura da parte aérea foi promovida pela aplicação de GA<sub>3</sub> e inibida pela aplicação de CEPA.

### 3.4. PROPAGAÇÃO VEGETATIVA

#### 3.4.1. Propagação a partir de estacas de folhas

*- tipos de estacas*

A TAB.31 apresenta a porcentagem de estacas que após 1 mês em vermiculita umedecido com água apresentava sinais de tuberização. Estacas só de caule com gema apical (tipo "A") ou só

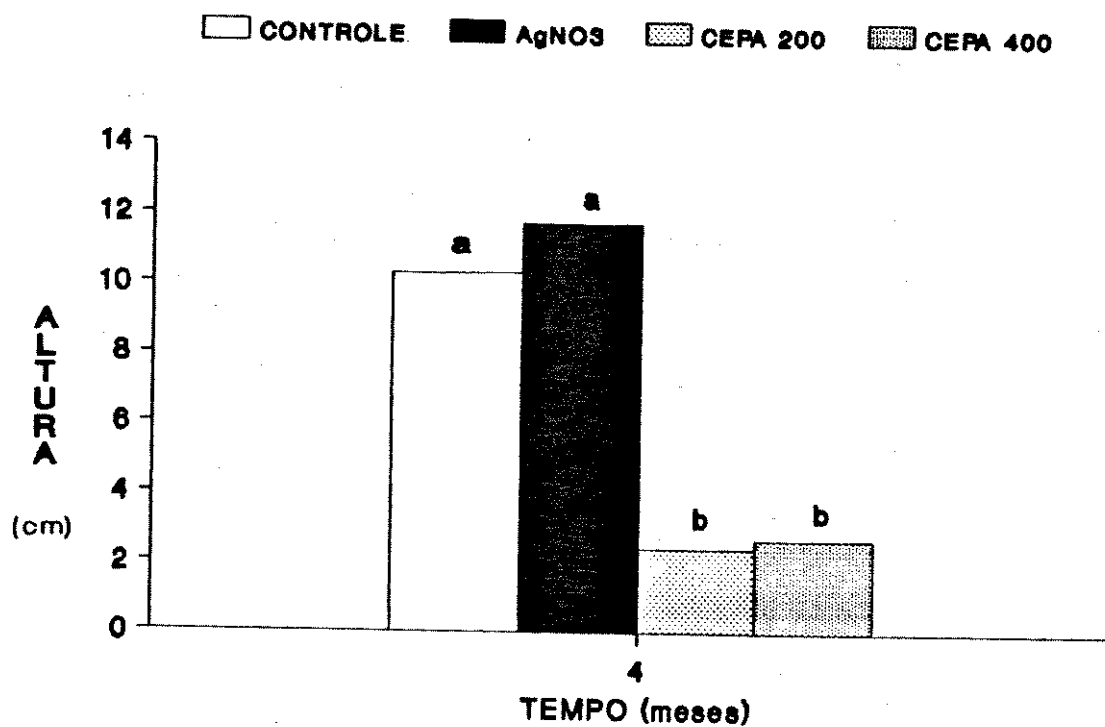


FIG.44 - Altura da parte aérea de plantas de *S. allagophylla* tratadas com CEPA e  $\text{AgNO}_3$ . Letras comparam médias entre os tratamentos. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

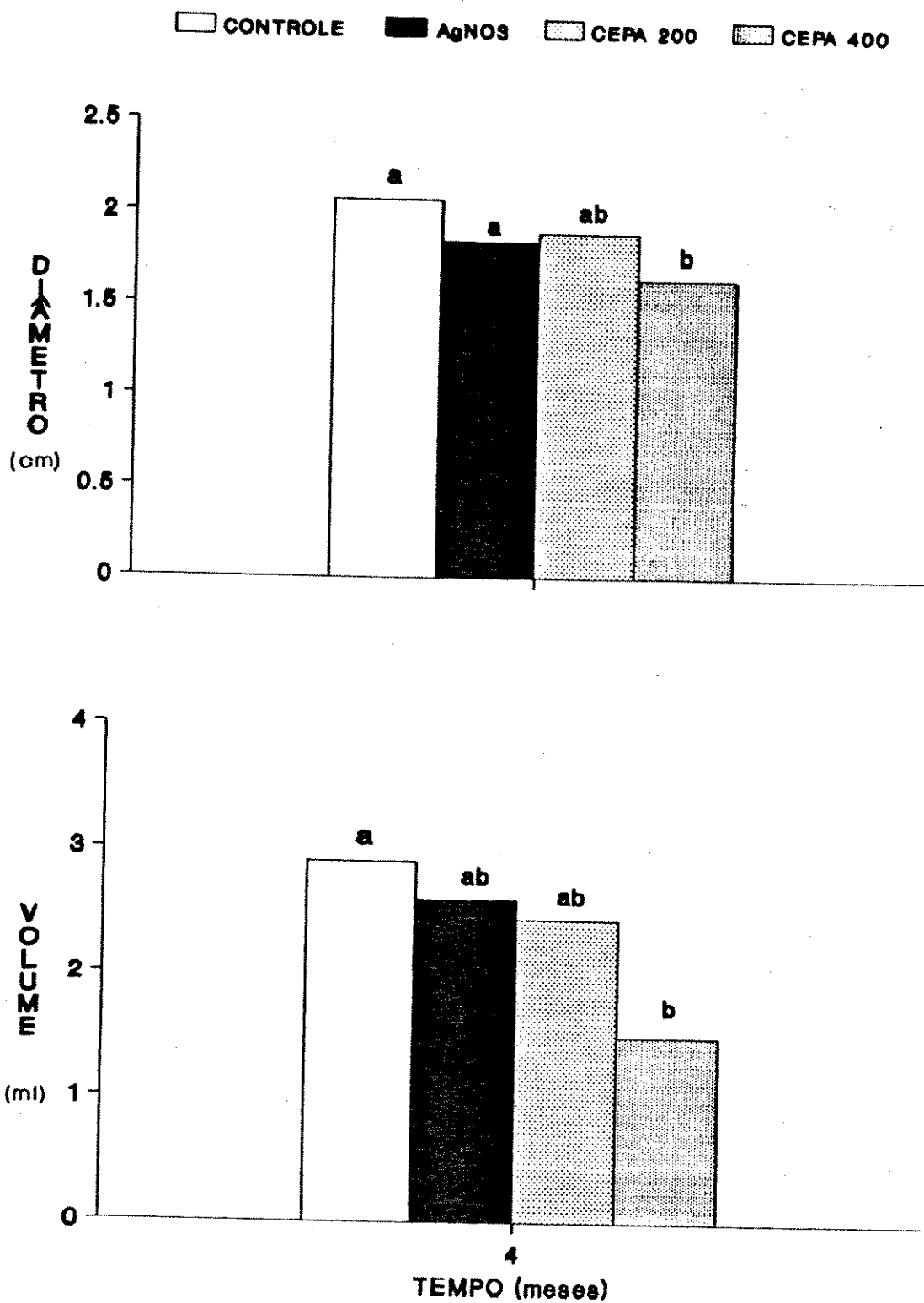
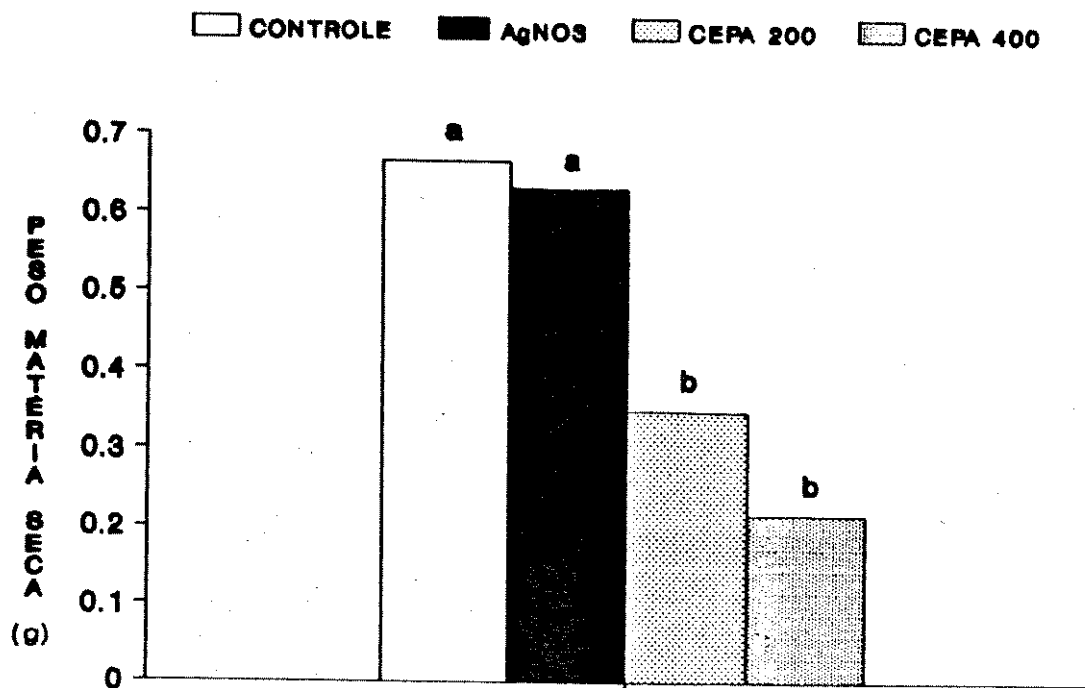


FIG.45 - Diâmetro (A) e volume (B) de plantas de *S. allagophylla* tratadas com CEPA e  $AgNO_3$ .  
 Letras comparam médias entre os tratamentos  
 Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)



A



B

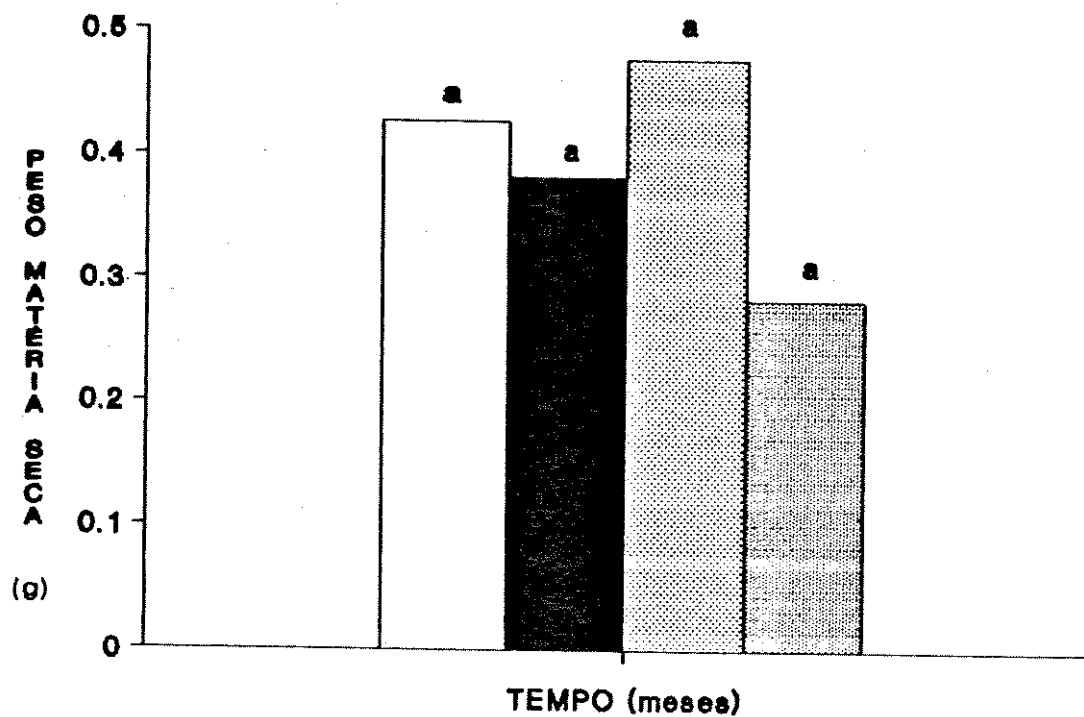


FIG.46 - Peso da matéria seca da parte aérea (A) e do órgão subterrâneo espessado (B) de plantas de *S. allagophylla* tratadas com CEPA e  $\text{AgNO}_3$ . Letras comparam médias entre os tratamentos. Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%).

TABELA 29 - Razão órgão subterrâneo espessado/planta toda (%), de *S. allagophylla* com 4 meses de idade, tratadas com CEPA e solução de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ).

TEMPO (meses)	CONTROLE	TRATAMENTOS	
		$\text{AgNO}_3$	CEPA [200mg/l] [400mg/l]
4	38,14 a	38,25 a	57,93 b 57,14 b

Letras comparam médias entre os tratamentos.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

TABELA 30 - Efeito da aplicação de CEPA e  $\text{AgNO}_3$  sobre o número de pares de folhas em plantas de *S. allagophylla* com 3 meses de idade.






TEMPO (meses)	CONTROLE	TRATAMENTOS		
		$\text{AgNO}_3$	CEPA [200mg/l]	CEPA [400mg/l]
	número total de pares de folhas*			
4	7,0 ab	7,5 a	6,6 b	6,8 b
	número de pares de folhas existentes			
4	4,5 a	4,2 a	3,1 b	2,8 b

Letras comparam as médias entre os tratamentos.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste Tukey 5%)

\* incluindo as excisadas

TABELA 31 - Propagação vegetativa em diferentes tipos de estacas de *S. allagophylla* após 30 dias em vermiculita.

ESTACA		PORCENTAGEM DE ESTACAS			
		NECROSADAS	CALO	TUBERIZADA	CALO+RAIZ
	tipo "A"	100	0	0	0
	tipo "B"	50	0	40	10
	tipo "C"	100	0	0	0
	tipo "D"	65	0	35	0
	tipo "E"	60	40	0	0

de caule com gema axilar sem folhas (tipo "C"), não se desenvolveram. Dentre as estacas com gema apical e folhas (tipo "B"), 40% tuberizaram e 10% formaram apenas calos e raízes. Quando apenas a folha sem gema axilar foi usada como estaca (tipo "E"), formou-se um calo na região do corte no prazo de duas semanas, porém após um mês estas folhas senesceram não havendo qualquer indício de tuberização. Quando na folha foi mantida a gema axilar (tipo "D"), formou-se inicialmente um calo na região do corte e após um mês desenvolveu-se um espessamento, que corado a fresco com reagente de lugol indicou a presença de grãos de amido. Formou-se aí um tecido de reserva com aspecto semelhante ao do órgão subterrâneo espessado. A presença de grãos de amido em menor quantidade foi observada no calo. Estas estacas foram acompanhadas por 2 meses. Neste período as folhas senesceram assim que a gema axilar se desenvolveu, produzindo novas plantas. Isto indica que a propagação vegetativa por estacas é possível em *S. allagophylla*.

Quando as estacas (tipo "D") originaram-se de plantas mais jovens (com 5 meses de idade), 44% tuberizaram. O mesmo não acontecia quando as estacas originaram de plantas mais velhas (com 8 meses de idade): estas não tuberizaram e em apenas 5% houve formação de calo (TAB.32).

#### *- reguladores de crescimento*

Nos experimentos seguintes foram utilizadas estacas do tipo "D"

A aplicação de GA3 inibiu a a tuberização, porém não inibiu a formação de calos (TAB.33). A aplicação conjunta de GA3 e o antioxidante cisteína reduziu pela metade a porcentagem de estacas necrosadas em relação àquelas tratadas apenas com cisteína (TAB.33), embora a cisteína por si só não tenha tido qualquer efeito sobre a tuberização. Não foi observada a presença de grãos de amido no calo, através de coloração a fresco com reagente de lugol.

Cisteína não inibiu a necrose das estacas tratadas com BA, que em 1 semana necrosaram (TAB.33).

TABELA 32 - Propagação vegetativa de estacas do tipo "D" de *S. allagophylla* provenientes de plantas com 5 ("jovens") e 8 ("velhas") meses de idade

ESTACA	PORCENTAGEM DE ESTACAS			
	NECROSADAS	CALO	TUBERIZADA	CALO+RAIZ
JOVEM	28	28	44	0
VELHA	95	5	0	0

TABELA 33 - Efeito da aplicação de substâncias reguladoras de crescimento na propagação vegetativa de estacas tipo "D" de *S. allagophylla*.

TRATAMENTO	PORCENTAGEM DE ESTACAS			
	NECROSADAS	CALO	TUBERIZADA	GEMA
GA <sub>3</sub>	12,5	81,25	0	6,25
GA <sub>3</sub> +CISTEÍNA	6,25	93,75	0	0
CISTEÍNA	18,75	50,00	43,75	12,50
AGUA	56,25	0	43,75	0
BA	100,00	0	0	0
BA+CISTEÍNA	100,00	0	0	0

AIB promoveu o enraizamento das estacas e não inibiu a tuberização (TAB.34).

- *fotoperíodo*

Em outro experimento as estacas do tipo "D", originadas de plantas que cresceram em diferentes fotoperíodos em casa de vegetação, foram mantidas no mesmo fotoperíodo ou em outro, por 1 mês, quando foi observada a porcentagem de tuberização. Os resultados são apresentados na TAB.35.

O fotoperíodo de 18h foi o melhor tratamento para a tuberização (TAB.35), tanto quando dado à planta doadora como à estaca. As estacas sob o fotoperíodo de 18h, em que 10h eram de baixa intensidade, não tuberizaram (TAB.35). A FIG.47 mostra duas estacas do tipo "D", retiradas de plantas em fotoperíodo de 18h, sob o fotoperíodo de 18h em que se pode observar dois padrões de desenvolvimento: tuberização ou crescimento da gema.

3.4.2. Propagação vegetativa por cultura de tecidos "in vitro"

Os dois tipos de explantes (explantes-1 e explantes-2) responderam de forma satisfatória às condições de cultivo. Apesar disto, os explantes do tipo "2", por terem sido mais fáceis de serem obtidos e por terem apresentado um rápido desenvolvimento, foram escolhidos para a maioria dos experimentos. As culturas foram mantidas sob luz constante a 25°C.

A TAB.36, evidencia o padrão geral morfológico apresentado pelos explantes-1 após 90 dias em meio contendo diferentes balanços de citocinina e auxina. Os explantes quando cultivados em MS sem adição de reguladores de crescimento pouco se desenvolveram. A adição de BA promoveu o desenvolvimento da parte aérea; as plantas formadas apresentaram um ou mais ramos com 2 a 4 nós, não havendo a formação de raízes. Quando cultivados em meio contendo apenas ANA houve formação de folhas deformadas. Para a formação de raízes a presença de ANA foi



TABELA 34 - Efeito da aplicação de AIB na propagação vegetativa de estacas tipo "D" de *S. allagophylla*

TRATAMENTO	PORCENTAGEM DE ESTACAS			
	NECROSADA	CALO	TUBERIZADA	TUB.+RAIZ
CONTROLE	65	0	35	0
AIB 0,5%	75	0	0	25
AIB 1,0%	75	0	5	20

TABELA 35 - Efeito do fotoperíodo na propagação vegetativa de estacas tipo "D" de *S. allagophylla*.

Fotoperíodo da planta doadora	Fotoperíodo da estaca	PORCENTAGEM DE ESTACAS			
		NECROSADAS	CALO	TUBERIZADA	GEMA
8h + 10h*	8h + 10h*	91,3	8,7	0	0
8h	8h	84,0	8,0	4,0	0
8h	18h	46,2	0	53,8	0
18h	8h	9,7	0	90,3	0
18h	18h	5,9	0	82,4	11,7

\* 10h de baixa intensidade luminosa

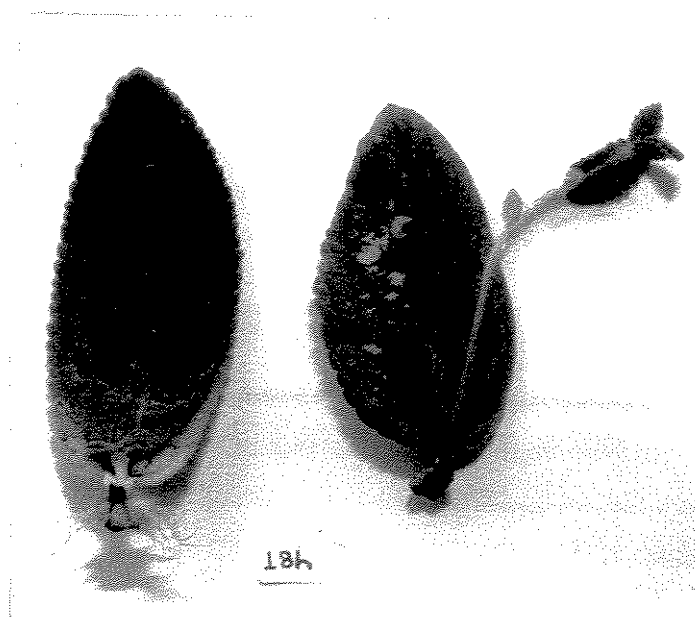











FIG.47 - Estacas tipo "D" de *S. allagophylla* sob a ação de fotoperíodo de 18h, mostrando dois padrões de desenvolvimento: tuberização (esquerda) e crescimento de gemas (direita).

TABELA 36 - Efeito de diferentes combinações de ANA e BA sobre explantes-1 de *S. allagophylla*, após 90 dias em cultura "in vitro" com meio MS.

BA ( $\mu\text{g/ml}$ )	ANA ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	0	0,1	0,5
0			
0,01			
0,1			









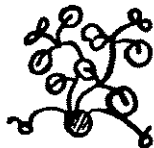
necessária. Calos foram formados quando ANA e BA foram adicionados ao meio. Não houve qualquer sinal de tuberização nos diferentes tratamentos.

A TAB.37 revela o padrão geral morfológico apresentado pelos explantes-1 após 60 dias em meio contendo diferentes balanços de citocinina, auxina e giberelina. Os explantes cultivados apenas em MS necrosaram. Repetindo o resultado anterior, quando o meio de cultura foi acrescido apenas de ANA houve formação de folhas deformadas. Explantes-1 com ANA mais GA<sub>3</sub> formaram calos com raízes. GA<sub>3</sub> 1,0 µg/ml provocou a formação de folhas com limbo foliar estreito e longo. O balanço auxina/citocinina formou uma planta que aparentemente apresentava sinais de tuberização; porém, o tecido estava muito oxidado e pouco compacto, lembrando mais um calo. Quando o tipo de explante foi mudado para explantes-2 (provenientes de plantas estéreis), após 30 dias em meio MS, os explantes se desenvolveram tanto no controle como no meio com diferentes balanços de auxina/citocinina. BA 0,1 µg/ml quando associada à auxina promoveu o desenvolvimento de gemas a partir de um calo. As gemas foram em maior número e mais curtas quando o balanço ANA/BA foi de 0,01/0,1 µg/ml. As gemas foram em menor número e formaram caules longos no balanço ANA/BA de 0,1/0,1 µg/ml. Concentração mais baixa de BA mesmo associada a ANA, promoveu a formação de apenas uma gema. Quando apenas BA foi aplicada, também houve promoção do desenvolvimento de apenas uma gema. Após 90 dias em meio MS que continha BA 0,1 µg/ml, a planta que aí se desenvolveu havia tuberizado (FIG.48). O tecido era compacto e similar aos de órgãos subterrâneos espessados formados em plântulas oriundas de sementes. Da região superior do órgão formado, originaram-se raízes e a parte aérea.

Novamente quando explantes-2 cresceram em meio B5 acrescido de BA/AIA, observou-se tuberização em plantas onde havia sido acrescentado BA 0,1 µg/ml, porém o desenvolvimento foi lento (180 dias).

Quando CCC foi acrescido ao meio MS, houve aumento no peso da matéria fresca e seca da parte aérea, porque neste meio

TABELA 37 - Efeitos de diferentes concentrações de ANA, BA e GA<sub>3</sub> sobre explantes-1 de *S. allagophylla*, após 60 dias em cultura "in vitro" em meio MS.

ANA x BA (µg/ml / µg/ml)	GA <sub>3</sub> (µg/ml)		
	0	0,1	1,0
0/0	+		
0/0.01			
0,1/0			
0,1/0,01		-	-

+ morte dos explantes

- tratamento não efetuado



FIG.48 - Tuberização "in vitro" em meio MS contendo BA  $0,1\mu\text{g/ml}$  após 90 dias de inoculação de explantes-2 de *S. allagophylla*.

desenvolveram-se inúmeras gemas diretamente a partir do explante<sup>2</sup> (TAB.38). CCC 1000 $\mu$ g/ml teve efeito residual nas gemas desenvolvidas, já que mesmo após transferência das gemas para um novo meio isento de CCC, estas desenvolveram o mesmo padrão morfológico apresentado quando na presença de CCC. Com aplicação de CCC não houve sinal de tuberização, apesar do caule da planta haver espessado.

Em outro experimento os explantes-2 foram cultivados em meio MS e B5 e B5(50%) sob os fotoperíodos de 8 e 18h. Após 120 dias, os explantes apresentaram maior desenvolvimento da parte aérea em B5 e B5(50%) do que em MS, mas isto não se refletiu no peso da matéria seca (TAB.39). O mesmo não ocorreu para o peso da matéria seca da raiz, que foi menor nos explantes no meio MS (TAB.39). O fotoperíodo de 18h promoveu o desenvolvimento da porção aérea e da raiz, como mostra o peso da matéria seca (TAB.39). Após 180 dias, observou-se tuberização bem definida no tratamento B5/18h. A área foliar dos explantes com 120 dias foi maior com meio B5 ou B5(50%) com o fotoperíodo de 18h (FIG.49).

Os experimentos com propagação vegetativa por meio de estacas ou cultura "in vitro" indicaram: que a presença da gema axilar é necessária para que haja tuberização nas estacas, porém a gema axilar sózinha não é capaz de tuberizar em cultura "in vitro" a menos que reguladores de crescimento sejam aplicados. O fotoperíodo de 18h foi o melhor para a tuberização.



TABELA 38 - Efeito do CCC sobre explantes-2 de *S.allagophylla*, após 60 dias em cultura "in vitro" com meio MS.

TRATAMENTO	PARTE AÉREA	RAIZ
	peso da matéria fresca (mg)	
CONTROLE	196,1 b	17,5 a
CCC	694,7 a	21,5 a
	peso da matéria seca (mg)	
CONTROLE	13,3 b	1,4 a
CCC	45,4 a	2,6 a
	número de gemas desenvolvidas	
CONTROLE		5,1 a
CCC		26,6 a

Valores correspondem às médias de 7 repetições.

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste T 5%)

TABELA 39 - Efeito do fotoperíodo de 8 e 18h e do meio de cultura no desenvolvimento de explantes-2 de *S. allagophylla*, após 4 meses.

MEIO DE CULTURA	FOTOPERÍODO	
	8h	18h
-----		
	peso da matéria seca da parte aérea (mg)	
MS	4,80 a A	17,06 a B
B5	4,79 a A	23,97 a B
B5 (50%)	4,20 a A	17,69 a B
-----		
	peso da matéria seca da raiz (mg)	
MS	0,45 a A	1,17 a A
B5	1,38 b A	4,49 b B
B5 (50%)	1,15 b A	3,17 b B
-----		
	número de pares de folhas	
MS	17,60 a A	15,40 a A
B5	7,40 b A	13,40 a B
B5 (50%)	11,80 abA	13,40 a A
-----		

Valores correspondem às médias de 5 repetições.

Letras minúsculas correspondem a diferença significativa a nível de 5% entre os meios de cultura, e letras maiúsculas, correspondem a diferença significativa a nível de 5% entre os fotoperíodos (teste Tukey).

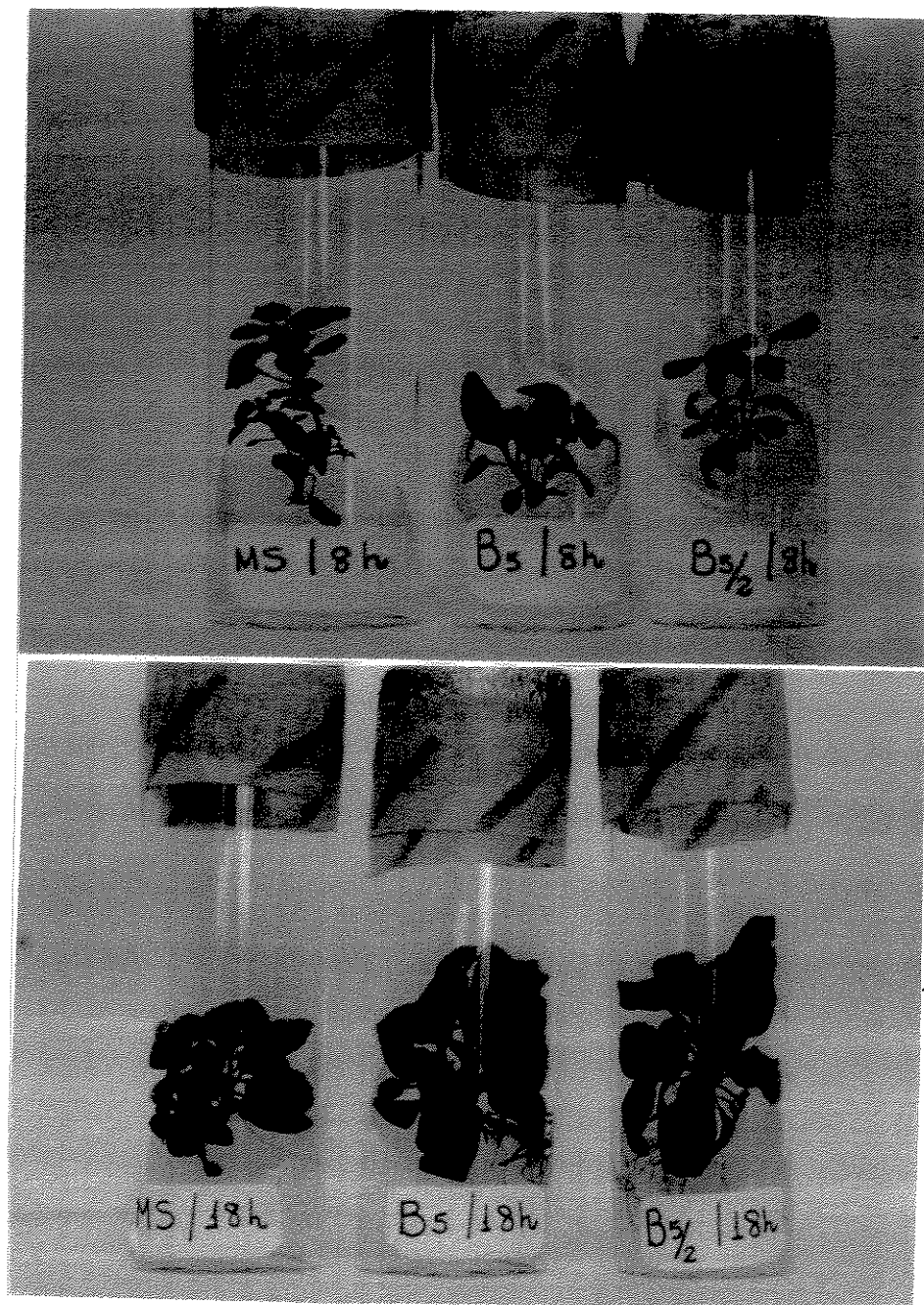


FIG.49 - Efeito do fotoperíodo e do meio de cultura no desenvolvimento de explantes-2 de *S. allagophylla* em cultura em "in vitro".

#### 4. DISCUSSÃO

As plantas de *Sinningea allagophylla* crescendo no cerrado de Moji-Guaçu (SP) apresentaram um ciclo fenológico bem definido com um período de dormência de 5 meses durante o período mais frio e seco do ano (outono e inverno). Nesta fase ocorreu a senescência de toda a parte aérea que, mesmo estando seca, se manteve presa ao órgão subterrâneo espessado. No final de agosto, antes das primeiras chuvas, uma ou mais gemas do órgão subterrâneo espessado brotaram, desenvolvendo rapidamente nova parte aérea. A perda total da parte aérea não ocorre em todas as espécies herbáceas de cerrado; como exemplo pode-se citar *Gomphrena prostata*, que sofre apenas uma parada de crescimento neste período (FIGUEIREDO, 1993).

Os xilopódios e outros órgãos subterrâneos espessados do cerrado são vistos como órgãos capazes de sobreviver ao período da estação seca que é de 4 a 5 meses (RIZZINI & HERINGER, 1961; RATTER et al., 1973; MEDINA, 1982) em virtude da capacidade de armazenar grande quantidade de água. O conteúdo de água nos xilopódios e em outros órgãos subterrâneos espessados pode variar de 40 a 96% do peso fresco (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 1986) dependendo do grau de lignificação (RIZZINI, 1965). Em plantas adultas de *S. allagophylla* coletadas no campo, a variação do conteúdo de água foi de 80 a 85% nos diferentes estádios fenológicos. Pequenas variações do conteúdo de água também foram encontradas em outras espécies herbáceas do cerrado como *Lantana montevidensis* e *Isostigma peucedanifolium*, que permaneceram entre 59 a 65% e 55 a 56%, respectivamente (COUTINHO, 1976).

FIGUEIREDO (1993) relacionou o teor de umidade de xilopódios de *Gomphrena prostata* com a idade da planta. Assim plantas jovens apresentavam um teor de umidade alto, cerca de 83%, que declinava gradativamente, chegando a 66% de umidade antes do período da seca. Já em plantas adultas o teor de umidade dos xilopódios de *G. prostata* se manteve constante ao redor de 56%. Em plantas jovens de *S. allagophylla* crescidas em casa de

vegetação também houve pequena redução do conteúdo de água com o aumento da matéria seca do órgão até os 4 meses de idade, mantendo-se posteriormente entre 83 a 88% de umidade. As porcentagens de umidade do órgão subterrâneo espessado de plantas de *S. allagophylla* coletadas no campo e na casa de vegetação foram semelhantes, mesmo estando sob regime hidrico diferente.

RAWITSCHER (1948) sugere que as pequenas flutuações no conteúdo de água se devam ao fato dos xilopódios serem protegidos contra dessecação durante a estação da seca. As gemas desenvolvidas na brotação de *S. allagophylla* são as mais centrais e são desprovidas de catáfios ou túnicas, estruturas comuns em espécies do cerrado e que têm sido interpretadas como elementos de proteção contra a seca, o fogo e o calor (COUTINHO, 1976).

Os órgãos subterrâneos espessados de *S. allagophylla* foram encontrados no cerrado a uma profundidade de 10cm; nesta profundidade muitas espécies geófitas e hemicriptófitas sofrem stresses hídricos todos os anos, devido à profundidade do lençol freático e o não desenvolvimento de sistemas subterrâneos muito profundos (MANTOVANI & MARTINS, 1988). Em plantas de *S. allagophylla*, obtidas a partir de sementes e crescendo em casa de vegetação observou-se o aprofundamento gradativo do órgão subterrâneo no solo, uma característica do crescimento, importante para a sobrevivência da espécie, já que a superfície do solo é mais seca. Em algumas espécies herbáceas perenes os bulbos apresentam raízes especializadas contrácteis que aprofunda-os no solo, como no caso de narcisos (CHAN, 1952 in ESAU, 1976), entretanto nenhum estudo para determinar esta especialização das raízes de *S. allagophylla* foi efetuado.

Logo após a brotação de *S. allagophylla* no cerrado, já são observados sinais de floração e em um mês a planta forma o escapo floral, que em dois meses frutifica. A população de *S. allagophylla* observada não apresentou sinais de reprodução vegetativa, comum em espécies de cerrado, como por exemplo em rizóforos de *Vernonia herbácea* (MACHADO DE CARVALHO & DIETRICH, 1993). No entanto, a produção de sementes de *S. allagophylla* foi farta no período de novembro a dezembro. Suas sementes quiescentes muito pequenas e em grande número foram dispersas

durante a estação chuvosa, porém não foi possível observar neste período plântulas em desenvolvimento no ambiente natural. A desproporção entre o número elevadíssimo de sementes produzidos por certas plantas, o número muito menor de sementes germinadas e o número menor ainda de plântulas sobreviventes é de ocorrência frequente em espécies do cerrado (LABOURIAU, 1966). Apesar da intensa destruição de plântulas recém-germinadas mesmo no período das chuvas, não se pode negar a importância da propagação por sementes (RIZZINI, 1979). Vários autores salientam que a germinação em condições naturais de cerrado ocorre em maior porcentagem em locais com atenuação da insolação e no período chuvoso (RIZZINI & HERINGER, 1962; LABOURIAU et al., 1964). Em *S. allagophylla*, uma única vez, foram observadas cinco plantas com cerca de cinco centímetros de comprimento, apresentando órgãos subterrâneos espessados de menos de um centímetro de diâmetro. Em experimentos feitos em casa de vegetação, comparando o crescimento da espécie em estudo em solo de cerrado e em solo adubado, indicaram claramente que o crescimento dos órgãos subterrâneos espessados é lento no solo de cerrado. Portanto fica difícil afirmar se estas plantas encontradas tiveram um lento crescimento, já tendo passado por períodos de seca e de inverno ou se eram resultado de germinação rápida, seguida de rápido crescimento no período das chuvas, visto que estavam crescendo praticamente no folheto, pouco enterradas no solo.

A população de plantas de *S. allagophylla* observada quanto aos aspectos fenológicos no cerrado, foi escolhida entre as plantas que se encontravam em floração e com isto ficavam de fora plantas mais jovens que apresentavam órgãos subterrâneos espessados menores e que não floresciam. O fato de plantas mais jovens não florescerem, também foi observado nas plantas mantidas em casa de vegetação, durante o primeiro ano do seu ciclo fenológico. A partir do segundo ano algumas plantas do lote floresceram (30%) e no terceiro ano cerca de 65%. Plantas de *Gomphrena prostata* desenvolvidas a partir de sementes também não floresceram durante o primeiro período de crescimento (FIGUEIREDO, 1993).

Ao contrário de outras espécies herbáceas de cerrado que apresentam dificuldade na produção de sementes e multiplicação das plantas via reprodução sexuada (HADDAD, 1991), *S. allagophylla* prestou-se bem à multiplicação das plantas através de sementes em casa de vegetação; as dificuldades encontradas na fase inicial de desenvolvimento foram contornadas com esterilização do solo, uso de sombrite e regas feitas com nebulizador. O acompanhamento simultâneo do crescimento de *S. allagophylla*, tanto em cerrado, como em casa de vegetação, permitiu determinar as fases fenológicas, evitando-se assim a aplicação de reguladores de crescimento em momentos em que a planta passava por mudanças no padrão de desenvolvimento.

Em vista das condições adversas encontradas na faixa superficial de solo onde se estabelecem as sementes de *S. allagophylla*, o desenvolvimento rápido do órgão subterrâneo espessado torna-se um mecanismo que garante a sobrevivência da espécie. As sementes de *S. allagophylla* não apresentam mecanismos de controle de germinação como outras espécies de cerrado que apresentam mecanismos de dormência descritos por LABOURIAU (1966). Suas sementes diminutas apresentam cotilédones pouco desenvolvidos que adquirem coloração esverdeada mesmo antes de perderem a testa. Entre os padrões de comportamento inicial das plântulas sugeridos por LABOURIAU (1966), *S. allagophylla* se enquadraria melhor entre as plantas que desde cedo produzem órgãos subterrâneos espessados. Em experimentos sob condições controladas de luz e temperatura, as sementes de *S. allagophylla* germinaram tanto na luz como no escuro após sete dias de embebição, sendo que no 21 dia de germinação, sob 14h de luz e temperatura constante de 25°C, as plântulas já apresentavam os primeiros sinais de espessamento da região do hipocótilo, sendo detectado no local, grãos de amido, indicando iniciação da tuberização.

Embora a indução e a iniciação da tuberização estejam intimamente ligados, são processos fisiologicamente diferentes (VREUGDENHIL & STRUIK, 1989). Indução é a mudança nos níveis de um ou mais fitormônios. Como resultado, novos órgãos ou partes da planta podem ser iniciados, mas outras várias características da

planta também podem mudar, como o ângulo da folha e o alongamento dos entrenós (VREUGDENHIL & STRUIK, 1989). Entretanto, indução e iniciação são difíceis de serem separadas experimentalmente, assim no presente estudo a iniciação foi detectada pela formação de grãos de amido na região hipocótilo, que é a região onde inicia o espessamento. OBATA-SASAMOTO & SUZUKI (1979a), utilizaram a deposição de amido como uma característica bioquímica na investigação do mecanismo de diferenciação de tubérculos de *Solanum tuberosum*. Nesta mesma espécie STEWARD et al. (1981) observaram que no desenvolvimento de tubérculos, a divisão celular, o alargamento das células e a deposição de amido ocorrem muito cedo durante sua iniciação, porém a ordem destas mudanças não foi estabelecida. DUNCAN & EWING (1984) estudando as mudanças anatômicas em estacas de *Solanum tuberosum* estabeleceram que a deposição de amido e a mitose são as primeiras mudanças detectáveis anatomicamente, associadas com a iniciação da tuberização. OBATA-SASAMOTO & SUZUKI (1979), utilizaram a deposição de amido como uma característica bioquímica na investigação do mecanismo de diferenciação.

No estudo do processo de tuberização muitos fatores como fotoperíodo, temperatura, nutrição e substâncias reguladoras de crescimento têm sido indicados como responsáveis pelo controle da indução da tuberização.

No presente estudo o fotoperíodo teve efeitos significativos no desenvolvimento de plântulas de *Sinningea allagophylla*. O fotoperíodo de 18h promoveu a tuberização, o que foi detectado pelo aumento do diâmetro do hipocótilo e pela presença de grãos de amido. Já o fotoperíodo de 8h inibiu a tuberização; houve também diminuição do peso fresco e seco da plântula, quando comparada com as plântulas crescendo sob 18h de luz. A altura da plântula foi promovida em fotoperíodo de 8h apesar de não ter ocorrido um aumento concomitante no número de pares de folhas. Apesar do fotoperíodo crítico para a tuberização de *S. allagophylla* não ter sido determinado, aparentemente ela se comporta como uma planta de dia longo para a tuberização. Frequentemente, fotoperíodo curto induz a tuberização, como em *Solanum tuberosum* (EWING, 1978). Em *Achimenes*, uma *Gesneriaceae*



nativa do México ao Brasil, os fotoperíodos longos (16h) aumentaram a altura, o peso de matéria seca, o número de flores e aceleraram a antese, enquanto que fotoperíodos curtos (8h), dependendo do cultivar, aumentava o número de rizomas (VHALOS, 1990a). Apesar da tuberização na maioria das espécies cultivadas ser induzida por fotoperíodos curtos, a tuberização de *S. allagophylla* em fotoperíodos longos está coerente com as condições ambientais encontradas pela semente no momento da dispersão no campo, que ocorre nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro. Este período é úmido e portanto favorável a germinação da semente, que ocorre após 7 dias de embebição sob condições controladas. Neste período o fotoperíodo é longo (14h de luz corresponde ao maior fotoperíodo para a latitude 23°29 Sul) condição favorável a tuberização, que é observada após 21 dias após a germinação, garantindo assim, o estabelecimento da espécie.

No entanto, quando as sementes foram semeadas diretamente nos vasos no mês de abril (fotoperíodo de 11,5h) ocorreu tuberização. Também, em um experimento não apresentado, quando plântulas que não apresentavam qualquer sinal de tuberização mantidas por 28 dias em câmara de crescimento sob 8h de luz foram transferidas para a casa de vegetação, sem controle de temperatura e com intensidade luminosa 10 vezes maior ( $305 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{seg}$ ) que a intensidade luminosa das câmaras de crescimento, as plântulas rapidamente apresentaram um aumento no diâmetro do hipocótilo e grãos de amido na região de espessamento. Uma condição desfavorável à fotossíntese, como a baixa intensidade luminosa, poderia ter afetado a formação do órgão subterrâneo espessado nas plântulas de *S. allagophylla*, como ocorre em *Solanum tuberosum* onde a tuberização dependente da acumulação de fotoassimilados nos tecidos de reserva do tubérculo (OBATA-SASAMOTO & SUZUKI, 1979a)

Quando as plântulas de *S. allagophylla* cresceram sob 8h de luz, complementadas por 10h de baixa intensidade, houve inibição no desenvolvimento geral da plântula, o peso da matéria fresca e seca e o número de pares de folhas foram menores quando comparados com as plântulas mantidas sob 18h de luz de

intensidade luminosa mais alta. Os valores de peso fresco e seco obtidos em plântulas crescidas sob 8h mais 10h de luz de baixa intensidade foram comparáveis aos obtidos em experimentos em que as plântulas eram crescidas sob 8h de luz, entretanto ocorreu formação de amido. Nas plântulas mantidas sob 8h de luz mais 10h de baixa intensidade apesar do diâmetro do hipocótilo não ter se alterado 42 dias após a germinação haviam grãos de amido nesta região, indicando que provavelmente houve apenas um atraso na tuberização. Infelizmente a metodologia de estudo utilizado para plântulas de *S. allagophylla* foi inadequada para períodos mais longos do que 42 dias, não tendo sido possível acompanhar o crescimento destas plântulas a fim de verificar se o espessamento do hipocótilo ocorreria. Provavelmente a diminuição na formação de fotoassimilados quando em baixa intensidade luminosa e o fotoperíodo de 8h são fatores independentes no processo de tuberização da espécie. Observação semelhante foi feita em *Achimenes*, onde o peso seco de rizomas e o número de flores aumentou com o fotoperíodo de 16h de luz quando comparado com o fotoperíodo de 8h, porém o autor não estabeleceu se o efeito da luz sobre o peso seco do rizoma e o número de flores foi devido a duração do período de luz ou pela quantidade de energia dada a planta, já que esta varia proporcionalmente com o comprimento do dia (VLAHOS, 1990b). Por fim, quando as plântulas de *S. allagophylla* cresceram em câmara de crescimento com fotoperíodo de 8h e temperatura constante de 25°C, porém sob irradiância de  $79 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , o dobro da intensidade das câmaras Forma Scientific onde até então tinham sido desenvolvidos os ensaios, não houve deposição de grãos de amido ou espessamento do hipocótilo, confirmando o efeito inibitório do fotoperíodo de 8h de luz sobre a tuberização da espécie.

Uma outra possibilidade que explicaria a tuberização das plântulas sob 8h de luz quando transferidas para casa de vegetação sob igual fotoperíodo, é o efeito da temperatura. A indução da tuberização também é controlada pela variação de temperatura. Em *Achimenes* o peso de matéria seca dos rizomas aumentava com o aumento da temperatura de 17 para 21°C, porém ao mesmo tempo, havia uma diminuição do número de rizomas (VLAHOS,

1990a). Em *Solanum tuberosum* o aumento da temperatura inibiu a fotossíntese (WINKLER, 1971), a indução da tuberização (GAWSRONSKA et al. 1984), e o desenvolvimento do tubérculo (KRAUSS & MARSCHNER, 1984). Todos os ensaios com plântulas de *S. allagophylla* feitos em câmara de crescimento foram à temperatura constante de 25°C. Quando as plântulas foram transferidas para casa de vegetação sob fotoperíodo de 8h, as plântulas ficaram sujeitas às variações diurnas/noturnas de temperatura, o que poderia induzir a tuberização. O termoperíodo 22/14°C (6/6h) também favoreceu a iniciação e o aumento da matéria seca de tubérculos de *Solanum tuberosum*, não afetando o peso da matéria seca no caule ou raízes (CAO & TIBBITTS, 1992).

Em *S. allagophylla*, o fotoperíodo também teve efeito sobre o desenvolvimento da planta a partir dos 4 meses de idade até a entrada de dormência do órgão subterrâneo espessado. Fotoperíodo de 18h promoveu o crescimento do tubérculo, o que foi observado no diâmetro, volume e peso da matéria seca, quando comparado com o fotoperíodo de 8h. A altura das plantas foi maior devido ao alongamento dos entrenós, porém este aumento se refletiu no peso da matéria seca da parte aérea, que foi maior nas plantas sob fotoperíodo de 18h. Em *Calathea allouia* (Marantaceae), uma espécie tropical que apresenta rizomas e raízes tuberosas o fotoperíodo longo (20h) promoveu maior desenvolvimento da parte aérea pela promoção da brotação das gemas (BUENO, 1989). Promoção no número total de folhas, área foliar e peso da matéria seca por fotoperíodos longos também foi observado em *Stevia rebaudiana* (METIVIER & VIANA, 1979), em milho (TOLLEMAR & HUNTER, 1983; RUSSEL & STUBER, 1983) e *Pachyrrhizus tuberosus* (ALVARENGA & VALIO, 1989).

Em plantas de *S. allagophylla* o fotoperíodo longo atrasou a senescência e perda da parte aérea e conseqüentemente a entrada da dormência do órgão subterrâneo espessado.

A razão peso do órgão subterrâneo espessado/planta toda, em plantas de *S. allagophylla* sob 8h e 18h foi semelhante ao longo do tempo, o que concorda com as dosagens do conteúdo de amido do órgão subterrâneo espessado que foi igual nos diferentes tratamentos. Porém o conteúdo de açúcar solúvel foi menor

naqueles órgãos sob 18h de luz. Provavelmente o carboidrato solúvel estaria sendo consumido para o desenvolvimento maior da parte aérea. Segundo SMITH (1968) tratamentos que aumentam a fixação de carbono pela fotossíntese, como por exemplo, alta irradiância ou fotoperíodos longos, também levam a uma maior acumulação e formação de polímeros maiores, o que foi confirmado para rizóforos de *Vernonia herbácea*, onde houve um aumento no conteúdo de frutanos e um aumento no seu grau de polimerização, no período de verão, quando o fotoperíodo é mais longo (MACHADO DE CARVALHO & DIETRICH, 1993). Variações no conteúdo de carboidratos de reserva de órgãos subterrâneos em espécies de cerrado, foram também observadas em *Viguiera discolor*, onde ocorre diminuição dos oligossacarídeos durante as fases de floração e frutificação (ISEJIMA & FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993).

Quando se usam estacas de folhas de *S. allagophylla* foram utilizadas no estudo do efeito do período na tuberação obteve-se uma porcentagem maior de tuberação naquelas que se originavam de plantas sob 18h de luz, mesmo quando as estacas foram transferidas para 8 h de luz, embora neste caso a porcentagem de tuberação tenha sido menor. Estacas que se originaram de plantas mantidas sob 8h de luz ou transferidas para este fotoperíodo tubericavam. Aparentemente houve um efeito promotor do fotoperíodo de 18h na tuberação das estacas de forma gradativa. De maneira inversa, em *Solanum tuberosum*, estacas sob fotoperíodo longo (16h) só formavam tubérculos se as plantas de origem recebiam fotoperíodos mais curtos do que o fotoperíodo crítico (EWING, 1987). O efeito do fotoperíodo sobre a tuberação pode ser modulador. Assim em *Callathea allouia* raízes tuberosas foram formadas tanto em fotoperíodos longos como curtos, porém fotoperíodos curtos anteciparam o processo (BUENO, 1989). Em *Cyperus rotundus* fotoperíodos curtos favoreceram a tuberação e o fotoperíodo teve efeito quantitativo (ALEIXO, 1975).

Quando o fotoperíodo foi testado em explantes de *S. allagophylla* crescendo em cultura "in vitro", sob 18h de luz houve crescimento da parte aérea mais acentuado quando comparado aos crescendo sob 8h de luz. CHARLES & ROSSINGOL (1992),

estudando o crescimento de *Solanum tuberosum* "in vitro" observaram que fotoperíodos mais longos (12h) ativaram o crescimento, aumentaram a área foliar; outros fatores que retardaram a tuberização em *Solanum tuberosum* foram: maiores concentrações de nitrogênio (meio MS) baixa intensidade luminosa e lâmpadas fluorescentes brancas. Já em explantes de *S. allagophylla* cultivados "in vitro", sob fotoperíodo longo e baixas concentrações de nitrogênio (18h/B5), houve tuberização. Determinar qual dos dois fatores foi responsável pela tuberização é difícil em vista da forte interação entre fotoperíodo e suprimento de nitrogênio.

Já está bem estabelecido que os níveis endógenos de GAs variam em muitas plantas sob diferentes condições fotoperiódicas (DIGBY & WAREING, 1966). Em *Solanum tuberosum* a aplicação de GA<sub>3</sub> nas folhas inibiu a tuberização mesmo sob condições indutoras de fotoperíodo (EWING, 1985). Quando expostos a fotoperíodos curtos, fotoperíodo promotor da tuberização nesta espécie, os cloroplastos de folhas de *Solanum andigena* continham menos substâncias com atividade giberelínica do que os expostos a fotoperíodos longos (RAILTON & WAREING, 1973).

Em plântulas de *S. allagophylla* a aplicação de GA<sub>3</sub> no substrato promoveu o crescimento em altura porém inibiu o espessamento do hipocótilo e a formação de grãos de amido. Apesar desse aumento em altura nas plântulas tratadas com GA<sub>3</sub>, as plântulas controle tiveram um peso de matéria seca maior. Em estolões de *Solanum tuberosum* GA<sub>3</sub> inibiu a formação de tubérculos e a deposição de amido (LOWELL & BOTH, 1967). Esses autores, baseados na aplicação de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> sugeriram que o tratamento com GA<sub>3</sub> aumentava a atividade metabólica na região apical do caule, o qual se tornava um dreno, competindo com os tubérculos já iniciados. Em *S. allagophylla* o efeito inibidor causado por GA<sub>3</sub> foi revertido quando suas aplicações não foram feitas semanalmente. A aplicação de CCC inibiu o crescimento em altura e promoveu o espessamento do hipocótilo nas plântulas, comprovando o efeito inibitório na tuberização desta espécie de substâncias com atividade giberelínica. Em raízes de estacas de *Solanum tuberosum* os níveis endógenos de GAs livres decresceram

significativamente após aplicação de CCC (GUINAZÚ et al., 1988).

No presente trabalho também foi feita aplicação de GA<sub>3</sub> em estacas de folhas, em explantes cultivados "in vitro" e na planta adulta. Quando a aplicação foi feita em estacas, GA<sub>3</sub> inibiu a tuberização mas houve formação de calos. Em cultura "in vitro", nos meios contendo este regulador de crescimento os explantes desenvolveram folhas alongadas e finas. Quando GA<sub>3</sub> foi aplicado no ápice caulinar das plantas de *S. allagophylla* já tuberizadas, teve efeito sobre o crescimento do caule ocorrendo um alongamento dos entrenós, porém não houve qualquer efeito inibidor sobre o desenvolvimento do tubérculo. Quando comparou-se a razão peso do órgão subterrâneo espessado/planta toda em plantas tratadas com 3 e 4 meses de idade, observou-se que os menores valores foram nas plantas tratadas aos 3 meses de idade. Talvez o efeito de GA<sub>3</sub> sobre o crescimento do órgão subterrâneo espessado seja maior em plantas mais jovens. CCC também apresentou maior efeito em plantas jovens sendo que a razão peso do órgão subterrâneo espessado/planta toda foi maior que a do controle.

Inibidores de crescimento como CCC e Paclobutrazol foram aplicados após a indução da tuberização em *Solanum tuberosum*, causando um decréscimo do crescimento da parte aérea e aumento da matéria seca do tubérculo pela mobilização de assimilados e nutrientes para o tubérculo (DYSON, 1965). Paclobutrazol teve efeito inibidor no desenvolvimento geral da planta de *S. allagophylla*, o que foi detectado pelo diâmetro e peso da matéria seca da parte aérea e subterrânea, porém as quantidades de amido no órgão subterrâneo espessado foram comparáveis ao do controle. Em *Solanum tuberosum*, Paclobutrazol aumentou o peso da matéria seca dos tubérculos e o conteúdo de clorofila das folhas, aumentando em 60% a razão tubérculo/ parte aérea, que é acompanhada por um decréscimo nos níveis de açúcares nas folhas (BALAMANI & POOVAIAH, 1985).

Outra classe de fitormônios envolvida no processo de tuberização é a das citocininas. O efeito promotor de BA no desenvolvimento de plântulas de *S. allagophylla* foi observado apenas no espessamento do hipocótilo, porém a altura e o peso da

matéria fresca e seca da plântula foram inibidos. Em plantas já tuberizadas com 4 meses de idade a aplicação de BA promoveu a necrose das folhas, um efeito inesperado, já que as citocininas são conhecidas por inibir a senescência em folhas destacadas, tanto na luz como no escuro (THIMAN, 1980). Em folhas (NIELSEN, 1990) e frutos (NIELSEN et al., 1991) de pimenta (*Capsicum annum*), citocininas regularam a alocação de carbono. A distribuição espacial de zeatina e zeatina-ribosídeo em folhas de pimenta indica um envolvimento direto no processo de expansão ou na habilidade dos tecidos em reter metabólitos essenciais ao crescimento da planta (ULVSKOV, et al., 1992). Em ensaios no campo com *Solanum tuberosum*, OKAZAWA (1969) demonstrou o rápido aumento da atividade citocinínica em tubérculos jovens. Segundo vários autores a função das citocininas na tuberização e no crescimento do tubérculo consiste na regulação da divisão celular, formando um novo dreno de assimilação (OKAZAWA, 1969; PALMER & SMITH, 1969). SATTELMACHER & MARSCHNER (1978a), relacionaram indução da tuberização em estolões de *Solanum tuberosum* crescendo "in vitro", com a presença de níveis endógenos de citocininas, quando o meio de cultura não continha nitrogênio. Além das variações na atividade citocinínica, os autores observaram mudanças qualitativas no espectro de absorvância de citocininas relacionando zeatina-ribosídeo com o processo de crescimento do tubérculo. Em cultura "in vitro" de *S. allagophylla* com 2 meses de idade BA promoveu a tuberização. Em cultura "in vitro" de estolões de *Solanum tuberosum* a tuberização ocorre após 25 dias somente se o meio for suprido de citocininas e sacarose (EWING, 1987). Apesar do envolvimento das citocininas na tuberização vários autores não a consideram como o fator único na formação de tubérculos. KUMAR & WAREING (1972) observaram que a aplicação de citocininas na ponta do estolão de *Solanum tuberosum*, sob dias longos não causou tuberização, mas converteu estolões em folhas. TIZIO & BIAIN (1973) trabalhando com a mesma espécie obtiveram que além de cinetina, BA e ANA agiram de forma similar, inibindo ou estimulando a tuberização de acordo com a concentração empregada. Certamente o crescimento do tubérculo envolve divisão celular, a qual é promovida por citocininas nos

tecidos meristemáticos de várias espécies (WILKINS, 1985).

As auxinas tem sido usadas na agricultura como promotoras de tuberização. A prática agrícola de pulverização de 2,4D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) em plantações de batata (BRISTOL et al., 1981) tem sido de importância econômica, devido ao aumento de tamanho do tubérculo (NELSON & NYLUND, 1963) e da produtividade (WORT, 1965). KUMAR & WAREING (1974) trabalhando com estacas de *Solanum andigena* observaram que a aplicação de AIA e 6-furfuril amino purina causava pequena estimulação no crescimento do tubérculo em baixas concentrações, porém em altas concentrações o processo era inibido. Em plântulas de *S. allagophylla* a aplicação de AIA não teve efeito sobre a tuberização. Quando AIB foi aplicado em estacas de folhas de *S. allagophylla* houve promoção do enraizamento, porém houve um atraso na tuberização. Segundo MANGAT et al. (1984) quando *Solanum tuberosum* foi cultivado "in vitro" em meio contendo 2,4D houve um <sup>crescimento</sup> aumento do tamanho, do peso fresco e do conteúdo de amido nos tubérculos formados, porém quando as concentrações de 2,4D foram altas os efeitos foram drásticos afetando negativamente a produção e a deposição do amido no tubérculo.

Neste trabalho o uso de plantas adultas para o estudo da tuberização de *S. allagophylla* mostrou-se inadequado, pois nenhum efeito sobre o crescimento do tubérculo foi observado nos diferentes tratamentos. Porém plântulas e estacas de folhas mostraram-se sistemas simples e que responderam aos tratamentos efetuados. No caso de estacas que possuíam apenas uma folha e gema axilar, havia apenas um ponto de crescimento e desenvolvimento do tubérculo e somente uma folha para a indução fotoperiódica. GREGORY (1956) foi o primeiro pesquisador a demonstrar o potencial de estacas de folhas de *S. tuberosum* como um ensaio para indução da tuberização. Mais recentemente a técnica com estacas foi aprimorada no estudo do efeito do fotoperíodo (EWING, 1985) e do metabolismo de carboidratos (SHERMAN & EWING, 1983) na tuberização. Em *S. allagophylla* as estacas de folhas com gemas também foram um material interessante para a propagação vegetativa, porém houve dificuldades técnicas no controle da oxidação das folhas, o que levou à morte dos



tecidos. A adição de cisteína, um antioxidante, inibiu a oxidação das folhas no controle, porém não inibiu a oxidação das estacas tratadas com BA. A presença da gema axilar pareceu ser primordial para a tuberização destas estacas.

Em *Solanum tuberosum* o crescimento do tubérculo a partir de gemas axilares parece ser similar anatomicamente (DUNCAN & EWING, 1984) e bioquimicamente (PAIVA et al., 1983) ao tubérculo formado na planta intacta, que da mesma forma que as estacas estão sob os mesmos fatores de controle de indução. Em *S. allagophylla*, estacas de gema apical com folhas também tuberizaram. A presença da gema apical pode promover a tuberização em estacas induzidas de *Solanum tuberosum* (KAHN et al., 1983), embora haja evidências que sob condições não indutivas a tuberização é favorecida pela excisão da gema apical (HAMMES & BEYERS, 1973; MENZEL, 1981). PEREIRA & VALID (1984) trabalhando com estacas de gema apical de *Solanum tuberosum* obtiveram tuberização se elas fossem tratadas por períodos longos de fotoperíodo curto (25 dias curtos). Os autores acima citados sugeriram que altos níveis de GAs nas folhas em expansão da região apical poderiam inibir a tuberização. Outra possibilidade apresentada, seria que estas folhas não totalmente expandidas não estariam aptas para receber o tratamento fotoperiódico.

Outra observação feita no estudo da tuberização em estacas de *S. allagophylla*, foi a de que estacas mais jovens tuberizavam mais facilmente do que estacas mais velhas. KAHN et al., (1983) trabalhando com estacas de *Solanum tuberosum* observaram tuberização tanto em folhas jovens como velhas, porém as folhas mais jovens eram mais efetivas por unidade de área foliar. Folhas isoladas de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) podem formar tubérculos a partir de raízes neoformadas na base do pecíolo precedido por um rápido aumento do peso da matéria seca do limbo foliar devido à acumulação de fotoassimilados (SILTHACHAKR et al., 1982). Os autores observaram que quando a superfície foliar era reduzida por excisão, ocorria um atraso na tuberização, efeito semelhante ao de pequenas folhas jovens, provavelmente por não possuírem superfície assimilatória suficiente para que houvesse tuberização.

Não houve nenhuma evidência de que etileno esteja envolvido no processo de tuberização de *S. allagophylla* desde que CEPA aplicado a planta adulta inibiu o crescimento da parte aérea, avaliado através da redução na altura e do peso da matéria seca, como também do órgão subterrâneo espessado avaliado através do seu diâmetro e do seu volume. Efeito inibitório do etileno sobre a tuberização também foi observado em outras espécies; como por exemplo em estacas de folhas de *Dahlia*, onde durante a iniciação da tuberização nas estacas controle observou-se uma diminuição dos níveis endógenos de etileno (BIRAN et al., 1972). CATCHPOLE & HILLMAN (1969) sugerem que a inibição da tuberização em estolões de *Solanum tuberosum* causada pelo CEPA ocorreu devido a inibição da acumulação de amido nas gemas axilares.

Além do fotoperíodo e de reguladores de crescimento, fatores nutricionais podem alterar o processo de tuberização. Plântulas de *S. allagophylla* tiveram sua tuberização intensificada em substrato pobre em nitrogênio, nesta condições o diâmetro do hipocótilo e o peso da matéria seca da plântula foram maiores em plântulas com 42 dias de idade crescendo em terra de cerrado. Tem sido enfatizado que nitrato frequentemente possui um papel no controle de processos que envolvam formação de estruturas dormentes como na formação de bulbos de cebola (TREWAVAS, 1983); assim altos níveis de nitrogênio evitaram a iniciação de bulbos quando sob fotoperíodo não indutivo, porém sob fotoperíodos longos o suprimento de nitrogênio não teve qualquer efeito (SCULLY et al., 1945). Em condições de campo o cultivo de cebola com alta densidade populacional, provoca o esgotamento de nitrogênio no solo mais rapidamente, havendo promoção da formação de bulbos (MONDAL et al., 1986). No presente trabalho em explantes de *S. allagophylla* cultivados "in vitro" em meio de cultura contendo baixas concentrações de nitrogênio, houve um aumento de área foliar, apesar de não ter sido observado aumento concomitante do peso da matéria seca; houve também aumento no peso da matéria seca das raízes. Após 180 dias 30% dos explantes em meio B5 e fotoperíodo de 18h, haviam tuberizado. O demora na tuberização sugere um efeito indireto das baixas concentrações de nitrogênio, através do aumento dos

níveis endógenos de citocininas, já que segundo SITTON et al. (1967), o local de síntese deste fitormônio é nas raízes. VON MELTZER (1992) relacionou os níveis de nitrogênio e o conteúdo de sacarose no meio, concluindo que para ocorrer tuberização era necessário um decréscimo de nitrogênio no meio e que sacarose de 4% diminuía o efeito inibitório da tuberização que ocorre em altas concentrações de nitrogênio.

Como em outras espécies que apresentam órgãos de reserva, as mudanças morfológicas e fisiológicas que ocorrem durante o crescimento de *S. allagophylla*, também foram afetadas por condições ambientais como fotoperíodo e suprimento de nitrogênio, ou pela aplicação exógena de substâncias reguladoras de crescimento. Está claro que GA<sub>3</sub> inibe a tuberização da espécie estudada e BA promove o espessamento do hipocótilo, ambos afetando os processos iniciais de tuberização ainda quando plântula, já que essas substâncias reguladoras de crescimento não afetaram o crescimento do órgão subterrâneo espessado em plantas adultas. Com certeza para *S. allagophylla* não existe um fator único de tuberização, na verdade os fatores ambientais devem interagir, alterando os níveis endógenos dos fitohormônios e o balanço entre inibidores e promotores é que deve desencadear as mudanças morfológicas e fisiológicas para a formação do órgão subterrâneo espessado. A rápida germinação e tuberização se mostraram como um efetivo mecanismo de adaptação às condições adversas que as plantas jovens de *Sinningea allagophylla* encontram no seu habitat natural do cerrado.

## 5. RESUMO

Muitas das plantas herbáceas perenes do cerrado apresentam órgãos subterrâneos espessados que se mantêm dormentes durante o período de seca e de frio. Assim para estas espécies o processo de formação destes órgãos subterrâneos garante a sobrevivência da planta. A indução e iniciação do órgão subterrâneo muitas vezes está na dependência de fatores ambientais. Os fatores mais estudados são o fotoperíodo, temperatura e o suprimento de nitrogênio.

Sementes de *S. allagophylla* germinam prontamente, sendo que após 21 dias há sinais visíveis de tuberização, como o aumento do diâmetro do hipocótilo e a presença de grãos de amido nesta região. Fotoperíodo de 18h, baixos níveis de nitrogênio no substrato e aplicação de benziladenina são promotores da tuberização, enquanto que fotoperíodo de 8h e aplicação de ácido giberélico são inibidores deste processo.

Estaca de folha é um material interessante para o estudo da tuberização de *S. allagophylla*. O fotoperíodo de 18h é promotor apesar de também ocorrer tuberização em menor proporção nas estacas mantidas em fotoperíodo de 8h. A presença da gema axilar ou apical é primordial para a formação do órgão subterrâneo espessado, sugerindo que estes locais contenham um fator indutor da tuberização. Porém, quando apenas as gemas axilares são mantidas em cultura "in vitro" em meio MS a tuberização só ocorre se o meio de cultura contiver benziladenina.

Não há promoção do crescimento do órgão subterrâneo espessado quando reguladores de crescimento são aplicados em plantas já tuberizadas ou quando mantidas em fotoperíodos de 8 ou 18h. Efeito promotor sobre o crescimento da parte aérea e inibidor sobre os níveis de carboidratos do tubérculo ocorrem quando ácido giberélico é aplicado na gema apical, sugerindo uma alocação de fotoassimilados para a parte aérea em detrimento do órgão subterrâneo espessado.

Os dados sugerem que em *S. allagophylla*, provavelmente, o balanço entre inibidores e promotores controla o processo de tuberização na plântula; assim os níveis endógenos de giberelinas seriam baixos e a presença de um promotor desencadeada por uma condição indutiva seria necessária para ocorrer a tuberização no início do desenvolvimento da plântula.

## 6. LITERATURA CITADA

- ALEIXO, F.D. (1975). Floração e brotação de tubérculos de *Cyperus rotundus* L. Tese de Mestrado, São Paulo. Escola Paulista de Medicina. p.
- ALVARENGA, A.A. & VÁLID I.F.M. (1989). Influence of temperature and photoperiod on flowering and tuberous root formation of *Pachyrrhizus tuberosus*. Ann. Bot. 64 : 411-414.
- ALVEY, N.G. (1965). The effect of temperature on two tuberous *Solanum* species. Eur. Potato J. 8: 1-13.
- BALAMANI, V. & PODOVAIAH, B.W. (1985). Retardation of shoot growth and promotion of tuber growth of potato plants by paclobutrazol. Amer. Potato J. 62 : 363-369.
- BATUTIS, E.J. & EWING, E.E. (1982). Far red reversal of red light effect during long night induction of potato (*S. tuberosum* L.). Plant Physiol. 69 : 672-674.
- BIRAN, I., GUR, I. & HALEVY A.H. (1972). The relationship between exogenous levels of ethylene and tuberization in dahlias. Physiol. Plant. 27 : 226-230.
- BOOTH, A. & LOWELL, P.H. (1972). The effect of pretreatment with gibberellic acid on the distribution of photosynthate in intact and disbudded plants of *S. tuberosum*. New Phytol. 71 : 795-804.
- BRISTOL, D.W., NELSON, D.C. & COOK, L.W. (1981). Residues and dissipation of 2,4-D and 2,4-DCP in potato tubers. Amer. Potato J. 58 : 143-151.

- BUENO, C.R. (1989). Controle ambiental e ação de reguladores de crescimento no desenvolvimento de plantas de arí (Calathea allouia (Aubl.)Lindl.. Tese de Doutorado. Campinas. Universidade Estadual de Campinas. 226p.
- BURT, R.L. (1964). Influence of short periods of low temperature on tuber initiation in the potato. Eur. Potato J., 7 :197-207.
- CAO, W. & TIBBITS, T.W. (1992). Temperature cycling periods affect growth and tuberization in potatoes under continuous irradiation. Hort Science 27: 344-345.
- CATCHPOLE, A.H. & HILLMAN J. (1969). Effect of ethylene on tuber initiation in *S. tuberosum* L. Nature 223: 1387.
- CHAILAKHYAN, M.Kh. (1985). Hormonal regulation of reproductive development in higher plants. Biol. Plantarum. 27 : 292-302.
- CHAPMAN, H.W. (1958). Tuberization in the potato plant. Physiol. Plant. 11: 215-224.
- CHARLES, G.L. & ROSSIGNOL, M. (1992). Environmental effects on potato plants "in vitro". J. Plant Physiol. 139: 708-713.
- CHAUTEMS, a. (1993). Gesneriaceae. Flora del Paraguay. 22 : 7-39.
- CHU, E.P. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. (1991). Native and exotic species of *Dioscorea* used as food in Brazil. Economic Botany 45: 467-479.
- COUTINHO, L.M. (1976). Contribuição ao conhecimento do papel ecológico das queimadas na floração de espécies do cerrado. Tese de Livre-Docência. Inst. de Biociências. Univers. Est. São Paulo. 173p.

- DIETRICH, S.M.C. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. (1986). Carboidratos de reserva em plantas superiores e sua importância para o homem. Revista da Academia Colombiana de Ciências Exatas Físicas y Naturales 61 :65-71.
- DIGBY, J. & WAREING, P.F. (1966). The relationship between endogenous hormone levels in the plant and seasonal aspects of cambial activity. J. Exp. Bot. 30 : 607-622.
- DODDS, J.H. & ROBERTS, L.W. (1982). Experiments in plant tissue culture. Cambridge University Press. 178pp.
- DUNCAN, D.A. & EWING, E.E. (1984). Initial anatomical changes associated with tuber formation on single-node potato (*Solanum tuberosum* L.) cuttings. Ann. Bot. 53: 607-610.
- DYSON, P.W. (1965). Effects of gibberellic acid and (2-chloroethyl-trimethylammonium chloride on potato growth and development. J. Sci. Food Agric. 16 : 542-549.
- EITEN, G. (1971). The cerrado vegetation of Brazil. The Botanical Rev. 38: 201-341.
- EL-ANTABLY, H. M. M.; WAREING, P. F. & HILLMANN, J. (1967). Some physiological responses to d,l-abscisin (dormin). Planta 73 :74-90.
- ESASHI, Y. (1961). Studies on the formation and sprouting of aerial tubers in *Begonia evansiana* Andr.. V. Antagonistic action of long days to short days response. Plant Cell Physiol. 2: 117-127.
- ESAU, K. (1976). Anatomia das plantas com sementes. São Paulo, E. Blucher.



- EWING, E.E. (1978). Shoot, stolon, and tuber formation on potato (*Solanum tuberosum* L.) cuttings in response to photoperiod. Plant Physiol. **61** : 348-353.
- EWING, E.E. (1985). Cuttings as simplified models of the potato plant. In: Potato physiology (P.H. Li, ed., London. Academic Press, London. p.154-199.
- EWING, E.E. (1987). 14. The role of hormones in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization. In: Plant hormones and their role in plant growth and development. (P.J. Davies & N. Martinus eds). Publishers Dordrecht/Boston/Lancaster 681 p.
- FERRI, M.G. (1969). Plantas do Brasil- Espécies do cerrado. (Ed. Edgard Blucher Ltda), 239p.
- FIGUEIREDO, P.S. (1993). Efeito de fatores ambientais na dormência do xilopódio de *Gomphrena prostata* Mart. Tese de Doutorado, Campinas. Universidade Estadual de Campinas. 96p.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; DIETRICH, S.M.C.; CHU, E.P.; MACHADO de CARVALHO, M.A.; VIEIRA, C.C.J. & GRAZIANO, S.T.T. (1986). Reserve carbohydrates in underground organs of native Brazilian plants. Revista brasil. Bot. **9** : 159-166.
- GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A. & OJIMA, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exptl. Cell Res. **50** : 151-158.
- GARCIA-TORRES, L. & GOMES-CAMPO, C. (1973). In vitro tuberization of potato sprouts as effect by ethrel and gibberellic acid. Potato Res. **16** : 73-79.

- GAWRONSKA, H.; DWELLE, R.B.; PAVEK, J.J. & ROWE, P. (1984). Partitioning of photo-assimilates by four potato clones. Crop Science 24 : 1031-1036.
- GREGORY, L.E. (1956). Some factors for tuberization of potato. Ann. Bot. 41 : 281-288.
- GUINÁZÚ, M.; ABDALA, G. & TIZIO, R. (1988). Effect of free and conjugated gibberellins on roots of potato cuttings treated with CCC [(2chloroethyl) trimethylammonium chloride] in relation to tuber formation. J. Plant Physiol. 132: 725-730.
- HADDAD, C.R.B. (1991). Efeito do fogo na floração de *Lantana montevidensis* (Briq.), uma planta de cerrado. Tese de Doutorado, Campinas. Universidade Estadual de Campinas, 97p.
- HAMMES, P.S. & BEYERS, E.A. (1973). Localization of the photoperiodic perception in potatoes. Potato Res. 16 : 68-72.
- HAMNER, K.C. & LONG, E. M. (1939). Localization of photoperiodic perception in *Helianthus tuberosus*. Bot Gaz. 101 : 81-90
- HANNAPEL, D.J.; MILLER, J.C., Jr. ; PARK, W.D. (1985). Regulation of potato tuber protein accumulation by gibberellic acid. Plant Physiol. 78 : 700-703.
- HANNAPEL, D. J. (1991). Characterisation of the early events of potato tuber development. Physiol. Plant 83 : 568-573.
- HANSTEIN, J. PHILL. (1948). Gesneriaceae In: Flora Brasiliensis (von Martius, K.F.P.ed). 3 p.356, pl.60.
- HARBONE, J.B. (1973). Phytochemical methods. London. (Chapman & Hall eds). 278p.

- HARTMANN, H.T. & KESTER, D.E. (1968). Plant propagation-principles and practices. New Jersey. Prentice-Hall, INC.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. (1938). The water culture method for growing plants without soil. Univ. Calif. Agric. Expt. Stn. Circ., p.347.
- ISEJIMA, E.M. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. (1993). Fructan variations in tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae): the influence of phenology. Plant Cell Physiol. 34: 723-727.
- JENKINS, J.M. (1954). Some effects of different daylengths and temperature upon bulb formation in shallots. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 64: 311-314.
- JOHANSEN, D.A. (1940). Plant microtechnique. New York. McGraw-Hill Book Co. Inc.523p.
- KAHN, B.A.; EWING, E.E. & SENESAC, A.H. (1983). Effects of leaf age, leaf area, and other factors on tuberization of cuttings from induced potato (*Solanum tuberosum*) shoots. Can. J. Bot. 61 : 3193-3201.
- KODA, Y. (1982). Changes in levels of butanol and water-soluble cytokinins during the life cycle of potato tubers. Plant Cell Physiol. 23 : 843-849
- KOSIER, T. & DESBOROUGH, S.L. (1981). Isolation of some predominate tuber proteins of potato. Plant Physiol. 67: 92-101

- KRAUSS, A. (1978). Tuberization and abscisic acid content in *Solanum tuberosum* as affected by nitrogen nutrition. Potato Res. 21 : 183-193.
- KRAUSS, A. & MARSCHNER, H. (1982). Influence of nitrogen nutrition daylength and temperature on contents of gibberellic and abscisic acid on tuberization in potato plants. Potato Res. 25 : 13-21.
- KRAUSS, A. & MARSCHNER, H. (1984). Growth rate and carbohydrate metabolism of potato tubers exposed to high temperatures. Potato Res. 27 : 297-303.
- KUMAR, D. & WAREING, P.F. (1972). Factors controlling stolon development in potato plant. New Phytol. 71 : 639 -647.
- KUMAR, D. & WAREING, P. F. (1974). Studies on tuberization of *Solanum andigena*. II. Growth hormones and tuberization. New Phytol. 73 : 833-840.
- LABOURIAU, L.G. (1966). Revisão da situação da ecologia vegetal nos cerrados. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 38 (S): 5-38.
- LABOURIAU, L.G.; VÁLIO, I.F.M. & HERINGER, E.P. (1964). Sobre o sistema reprodutivo de plantas do cerrado. An. Acad. brasil. Ci. 36 : 449-464.
- LEOPOLD, A.C. & KRIEDMANN, P.E. (1975). Plant growth and development. London. McGraw-Hill, Inc.. 545p.

- LEVY, D. (1986). Tuber yield and tuber quality of several potato cultivars as affected by seasonal high temperatures and by water deficit in a semiarid environment. Potato Research 29 : 95-107.
- LOVELL, P.H. & BOOTH A. (1967). Effects of gibberellic acid on growth, tuber formation and carbohydrate distribution in *Solanum tuberosum*. New Phytol. 66 : 525-537.
- MACHADO DE CARVALHO, M.A. & DIETRICH S.M.C. (1993). Variation in fructan content in the underground of *Vernonia herbacea* (Vell) Rusby. at different phenological phases. New Phytol. 123: 735-740.
- MCCREADY, R.M.; TUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V. & OWENS, H.S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. Anal. Chem. 22 : 1156-1158.
- McKEE, J.M.T. & MORRIS, G.E.L. (1986). Effects of gibberellic acid and chlormequat chloride on the proportion of phloem and xylem parenchyma in the storage root of carrot (*Daucus carota* L.). Plant Growth Regul. 4: 203-211.
- McKEE, J.M.T.; THOMAS, T.H. & HOLE, C.C. (1984). Growth regulator effects on storage root development in carrot. Plant Growth Regulation 2 : 359-369.
- MANGAT, B.S.; KERSON, G. & WALLACE, D. (1984). The effect of 2,4D on tuberization and starch content of potato tubers produced on stem segments cultured in vitro. Am. Potato J. 61 : 355-361.

- MANTOVANI, W. & MARTINS, F.R. (1988). Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji-Guaçu, Estado de São Paulo. Revta brasil. Bot. **11** : 101-112.
- MARES, D. J.; MARSCHNER, H. & KRAUSS, A. (1981). Effect of gibberellic acid on growth and carbohydrate metabolism of developing tubers of potato (*Solanum tuberosum*). Physiol. Plant. **52** : 267-274.
- MARSDEN-RAY, M.P.F. (1958). Formation of Jerusalem artichoke tubers in sterile culture. Nature **181**: 1480-1482.
- MARTIN, C.; VERNAY, R. & PAYNOT, N. (1982). Photopériodisme, tubérisation, floraison et phénolamides. Physiologie Végétale **295** : 565-568.
- MARTIN-TANGUY, J. (1985). The occurrence and possible function of hydroxycinnamoyl acid amides in plants Plant Growth Regul. **3** : 381-399.
- MAUK, C. S. & LANGILLE, A. R. (1978). Physiology of tuberization in *Solanum tuberosum* L. Plant Physiol. **62** : 438-442.
- MEDINA, E. (1982). Physiological ecology of neotropical savanna plants. In: Ecology of tropical Savannas (B.J. Huntley & B.M. Walker, eds.) Berlin, Springer-Verlag.
- MELIS, R.J.M. & VAN STADEN, J. (1984). Tuberization and hormones. Z. Pflanzenphysiol **133** : 271-283.
- MENZEL, C.M. (1981). Tuberization in potato at high temperatures : promotion by disbudding. Ann. Bot. **47** : 727-733.

- MENZEL, C.M. (1983a). Tuberization in potato at high temperatures: interaction between shoot and root temperature. Ann. Bot. 52 : 58-69.
- MENZEL, C.M. (1983b). Tuberization in potato at high temperatures, gibberellin content and transport from buds. Ann. Bot. 52 : 697-702.
- MENZEL, C.M. (1985). Tuberization in potato at high temperatures: responses to exogenous gibberellin, cytokinin and ethylene. Potato Res. 28 : 263-266.
- MERCIER, C. (1985). Biosynthesis and accumulation of polysaccharides in seeds and tubers. Physiol. Vég. 23 : 231-242.
- METIVIER, J. & VIANA, A.M. (1979). The effect of long and short daylength, proteins, sugars and stevioside in leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. J. Exp. Bot. 30 : 1211-1222.
- MIDMORE, D. J. (1984). Potato in the hot tropics. I. Soil temperature effects on emergence, plant development and yield. Field Crop Research 8 : 255-271.
- MINGO-CASTEL, A.M.; SMITH, D.S.E. & KUMAMOTO, J. (1976). Studies on the carbon dioxide promotion and ethylene inhibition of tuberization in potato explants cultured in vitro. Plant Physiol 57 : 480-485.
- MONDAL, M.F.; BREWSTER, J.L.; MORRIS, G.E.L. & BUTTER, H.A. (1986). Bulb development in onion (*Allium cepa* L.). I. Effects of plant density and sowing date in field conditions. Ann. Bot. 58 : 187-195.

- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. **15** : 473-497.
- NELSON, D.C. & NYLUND, R.E. (1963). Influence of 2,4D on uniformity and specific gravity of potatoes. Am. Potato J. **40** : 391-395.
- NIELSEN, T.H. (1990). Enzymology of the carbohydrate metabolism during leaf development in sweet pepper. (Abstr)Physiol. Plant **79** : 749.
- NIELSEN, T.H.; SKJAERBAEK, H.C. & KARTSEN, P.K. (1991). Carbohydrate metabolism during fruit development in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. Physiol. Plant., **82** : 311-319.
- NITSCH, J.B. (1965). Existence d'un stimulus photopériodique non spécifique capable de provoquer la tubérisation chez *Helianthus tuberosus* L. Bull. Soc. Bot. Fr., **112**: 333-340.
- NITSCH, J.B. (1966). Photopériodisme et tubérisation. Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég. **12** : 233-246.
- OBATA-SASAMOTO, H. & SUZUKI, H. (1979a). Activities of enzymes relating to starch synthesis and endogenous levels of growth regulators during tuberization of isolated potato stolons cultured "in vitro". Z. Pflanzenphysiol **95** : 69-75.
- OBATA-SASAMOTO, H. & SUZUKI, H. (1979b). Activities of enzymes relating to starch synthesis and endogenous levels of growth regulators in potato stolon tips during tuberization. Physiol. Plant., **45** : 320-324.



- OKAZAWA, Y. (1969). Physiological significance of endogenous cytokinins occurrence in potato tubers during their developmental period. Proc. Crop Sci. Soc. Jpn. 39 : 171-175.
- OKAZAWA, Y. & CHAPMAN, H.W. (1962). Regulation of tuber formation in the potato plant. Physiol. Plant 15 : 413-419.
- PAIVA, E. ; LISTER,, R.M.; PARK, W.D. (1983). Induction and accumulation of major tuber protins of potato in stems and petioles. Plant Physiol. 71 : 161-168.
- PALMER, C.E. & SMITH, O.E. (1969). Cytokinin and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum* L. Nature 221: 279-280.
- PARK, W.D.; BLACKWOOD,C.; MIGNERY,G.A.;HERODSON,.A. & LISTER, R.M. (1983). Analysis of heterogeneity of the 40.000 molecular wheight tuber glycoprotein of potatoes by immunological methods and by NH<sub>2</sub>-terminal sequence analysis. Plant Physiol. 71 : 156-160
- PARK, W.D.; HANNAPEL, D.G.; MIGNERY, G.A. & PIKAARD, C.S. (1985). Molecular approaches to the study of the major tuber proteins. In: *Potato Physiol.* Orlando. (P.H.L.,ed.) 586p.
- PEREIRA, M. F. A. & VÁLIO, I. F. M. (1984). Gibberellic acid and the inhibition of aerial tuberization in *S. tuberosum* L. Plant Growth Regul. 2 : 41-47.
- PONT-LEZICA, R. F. (1970). Evolution des substances de type gibbérellines chez la pomme de terre pendant la tubérisation, in relation avec la longueur du jour et la température. Potato Research 13 : 323-331.

- QUARRIE, S.A. (1982). Droopy, a wilted mutant of potato deficient in abscisic acid. Plant Cell Environ. **5** : 23-26.
- RAILTON, I.D. & WAREING, P.F. (1973). Effects of daylength on endogenous gibberellins in leaves of *Solanum andigena* L. Changes in levels of free acidic, gibberellin-like substances. Physiol. Plant **28** : 88-94.
- RATTER, J.A.; RICHARDS, P.W.; ARGENT, G. & GIFFORD, D.R. (1973). Observation of the vegetation of northeastern Mato Grosso: I. The woody vegetation types of the Xavantina-Cachimbo Expedition area. Philosophical transactions of the Royal Society. **266**: 449-492.
- RAWITSCHER, F. (1946). Troncos subterrâneos de plantas brasileiras. An. Acad. Bras. de Ciências **18** : 261-280.
- RAWITSCHER, F. (1948). The water economy of the vegetation of the campos cerrados in southern Brazil. J. Ecol. **36** : 237-268.
- REIS, A.C.S. (1971). Climatologia dos cerrados. In: III simpósio sobre o cerrado. (M.G., FERRI, ed.). São Paulo. EDUSP. p 15-24
- REYNOLDS, M.P. & EWING, E.E. (1989). Effects of high air and soil temperature stress on growth and tuberization in *Solanum tuberosum*. Ann. Bot. **64** : 241-247.
- RIZZINI, C.T. (1965). Experimental studies on seedling development of cerrado woody plants. Ann. Missouri Bot. Gard. **52** : 410-426.
- RIZZINI, C.T. (1979). Tratado de fitogeografia do Brasil. Aspectos sociológicos e florísticos. São Paulo. HUCITERC, Ltda e EDUSP. 374p.

- RIZZINI, C.T. & HERINGER, E.P. (1961). Underground organs of plants of some southern Brazilian savannas, with special reference to the xylopodium. Phyton 17 : 105-124.
- RIZZINI, C.T. & HERINGER, E.P. (1962). Studies on the underground organs of trees and shrubs from some southern Brazilian savannas. Ann. Acad. brasil. C. , 34 : 235-247.
- RUSSEL, W.K. & STUBER, C.W. (1983). Effects of photoperiod and temperatures on the duration of vegetative growth in maize. Crop Sci. 23 : 847-850.
- SATTELMACHER, B. & MARSCHNER, H. (1978a). Nitrogen nutrition and cytokinin activity in *Solanum tuberosum*. Phyysiol. Plant. 42 : 185-189.
- SATTELMACHER, B. & MARSCHNER, H. (1978b). Cytokinin activity in stolons and tubers of *Solanum tuberosum* during the period of tuberization. Physiol. Plant. 44: 69-72.
- SATTELMACHER, B. & MARSCHNER, H. (1978c). Relation between nitrogen nutrition, cytokinin activity and tuberization in *Solanum tuberosum* Physiol. Plant. 44 : 65-68.
- SCULLY, N.J.; PARKER, M.W. & BORTHWICH, H.A. (1945). Interaction of nitrogen nutrition and photoperiod as expressed in bulbing and flower-stalk development of onion. Bot. Gaz. 107 : 52-61.
- SELF, G.K. (1989). Studies of xylopodium formation and early seedling growth in *Kielmeyera coriacea* Mart. .Ph.D. Thesis, Edinburgh. University of Edinburg. 220 p.

- SHILTACHAKR, D.; ROSSIGNOL, L.; ROSSIGNOL, M. & NOZERAN, R. (1982). Rôle des différents territoires foliaires dans le phénomène de la tubérisation chez la patate douce. Can. J. Bot. **60** : 2659-2664.
- SILVEIRA, N.J.E. (1991). Flórula fanerogâmica da Reserva Biológica do Ibicuí-Mirim, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil: Gesneriaceae. Iheringia, sér. Bot. **41** : 169-172.
- SIMPSON, K. (1962). Effects of soil moisture tension and fertilizer on the yield, growth and phosphorus uptake of potatoes. J. Sci. Food Agric. **13** : 236-248.
- SITTON, D.A.; ITAI, C. & KENDE, H. (1967). Decreased cytokinin production in the roots as a factor in shoot senescence. Planta **73** : 296-300.
- SMITH, D. (1968). Carbohydrates in grasses. IV. Influence of temperature on the sugar and fructosan composition in timothy plant parts at anthesis. Crop Sci. **8** : 331-334.
- SNEDECOR, G.W. (1962). Statistical methods. Iowa. Iowa State University Press. 534p.
- SNIR, I. & VESSLER, B. (1975). The influence of growth retardant CCC on endogenous gibberellin in cucumber seedlings. Planta. **125** : 73-75.
- SWAIN, T. & HILLIS, W.E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus doméstica* L. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food Agric. **10** : 63-68.

- STEWART, F.C.; MORENO, V. & ROCA, W.M. (1981). Growth, form and composition of potato plants as affected by environment. Ann. Bot. **48** : 1-45.
- TAYLOR, M. A., DAVIES, H.V. & SCOBIE, L.A. (1991). Molecular changes associated with tuberization in *Solanum tuberosum*. Differential expression of alfa-tubulin isotypes. Physiol. Plant **81** : 244-250.
- TAYLOR, M. A.; ARIF, S.A.M.; PEARCE, S.R.; DAVIES, H.V.; KUMAR A. & GEORGE, L.A. (1992). Differential expression and sequence analysis of ribosomal protein genes induced in stolon tips of potato (*Solanum tuberosum* L.) during the early stages of tuberization. Plant Physiol. **100** : 1171-1176.
- THIMANN, K.V. (1980). The senescence of leaves In: Senescence in plants. (K.V. Thimann, ed.) Boca, Raton. CRC Press Inc. p.85-115.
- TIZIO, R. (1964). Action de l'acid gibberellique sur la tuberisation de la pomme de la terre. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. **259**: 1187-1190.
- TIZIO, R. (1969). Action du CCC [chlorure de (2-chloroéthyl) triméthyl-ammonium] sur la tubérisation de la pomme de terre. Eur. Potato J. **12** 3-7.
- TIZIO, R. (1971). Action et rôle probable de certaines gibberellines (A<sub>1</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>7</sub>, A<sub>9</sub> et A<sub>13</sub>) sur la croissance des estolons et la tuberisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). Potato Res. **14**: 193:204.
- TIZIO, R. & BIAIN, m.m. (1973). Are cytokinnins the specific factors for tuber formation in potato plant? Phyton **31**: 3-13.

- TOLLEMAR, M. & HUNTER, R.B. (1983). A photoperiod and temperature sensitive period for leaf number of maize. Crop Sci. 23 : 457-460.
- TREWAIVAS, A.J. (1983). Is plant development regulated by changes in the concentration of growth substances or by changes in the sensitivity to growth substances? Sensitivity is the regulation factor. Trends in Biochemical Sciences 8 : 354-357.
- ULVSKOV, P.; NIELSEN, T.H.; SEIDEN, P. & MARCUSSEN, J. (1992). Cytokinins and leaf development in sweet pepper. (*Capsicum annuum*). I. Spatial distribution of endogenous cytokinins in relation to leaf growth. Planta 188 : 70-77.
- VINCE-PRUE, D. (1975). Photoperiodism in plants. London. McGraw-Hill Book Company Ltd. 444 p.
- VLAHOS, J.C. (1990a). Daylength influences growth and development of *Achimenes* cultivars. Hort Science 25: 1595-1596.
- VLAHOS, J.C. (1990b). Temperature and irradiance influence growth and development of three cultivars of *Achimenes*. Hort Science 25: 1597-1598.
- VON MELTZER, H. (1992). The effect of nitrogen and saccharose on tuberization in vitro. Biol Plant 34: 219-222.
- VREUGDENHIL, D. & STRUIK, P.C. (1989). An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*). Physiol Plant. 75 : 525-531.

- WAREING, P.F. & JENNINGS, A.M.V. (1980). The hormonal control of tuberization in potato. In: Plant Growth Substances. (F.Skoog ed.) Berlin. Springer/Verlag .p 293-300
- WHEELER, R.; HANNAPEL, D.J. & TIBITTS, T.W. (1988). Comparison of axillary bud growth and patatin accumulation in potato leaf cuttings as assays for tuber induction. Ann. Botany 62 : 25-30.
- WHETMORE, R.H. & RIER, J.P. (1963). Experimental induction of vascular tissues in callus of angiosperms. Amer. J. Bot. 51 : 189-199.
- WILKINS, M.B. (1985). Advanced plant physiology. London. Pitman Publishing Inc. 514p.
- WINKLER, E. (1971). Potato cultivation in Tyrol. II. Photosynthetic efficiency and respiration in different potato varieties. Potato Res. 14 : 1-18.
- WOOLLEY, D.J. & WAREING, P.F. (1972). Environmental effects on endogenous cytokinins and gibberellin levels in *Solanum tuberosum*. New Phytol. 71: 1015-1025.
- WORT, D.J. (1965). Increased tuber yield of Pontiac potatoes resulting from the foliar application of 2,4-D mineral dusts. Am. Potato J. 42 :90-96.
- YELENOVSKY, G. & GUY, C.L. (1977). Carbohydrate accumulation in leaves and stems of "Valencia" orange at progressively colder temperatures. Bot. Gaz. 138 : 13-17.

YEMM, E. W. & WILLIS, A. J. (1954). The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. Biochem. J. 57 : 508-514