

JANE MACEDO POLO

SENESCÊNCIA EM PLANTAS DE *Phaseolus vulgaris* L.

Tese de Mestrado apresentada ao
Instituto de Biologia, Departa-
mento de Fisiologia Vegetal, da
Universidade Estadual de Campi-
nes.

Orientador: Prof. Dr. I.F.M. Válio

1982

P766s

4687/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

ÍNDICE GERAL

	Pág.
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	4
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
1. Cultivo das plantas.....	14
2. Procedimento cirúrgico.....	14
2.1. Plantas bi-ramificadas.....	14
2.2. Plantas enxertadas.....	15
2.3. Determinação dos estádios de desenvolvi- mento dos frutos.....	15
2.4. Eliminação das sementes.....	16
3. Aplicação de reguladores de crescimento.....	16
4. Coleta do material.....	17
5. Dosagem de clorofila.....	17
6. Dosagem de proteína.....	17
7. Análise estatística.....	18
RESULTADOS.....	19
1. Remoção de órgãos reprodutores da planta.....	19
1.1. Efeito da remoção da flor.....	19
1.2. Efeito do estágio de desenvolvimento dos frutos.....	19
1.3. Efeito do número de frutos.....	20
1.4. Efeito do número de sementes.....	21
2. Transmissão do sinal de senescência.....	28
2.1. Plantas bi-ramificadas.....	28
3. Efeito de reguladores de crescimento na senescên- cia.....	29

3.1. Aplicação isolada de reguladores de crescimento.....	34
3.2. Aplicação combinada de reguladores de crescimento.....	35
3.3. Aplicação de 6-BA e CCC em plantas enxertadas.....	45
DISCUSSÃO.....	49
RESUMO.....	61
BIBLIOGRAFIA.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1 - Quantidade de proteína total de folhas de plantas de feijoeiro com remoção de flor e de frutos em diferentes estádios de desenvolvimento.....	24
FIGURA 2 - Quantidade de proteína total de folhas de plantas de feijoeiro mantidas com zero, um, cinco ou dez frutos.....	24
FIGURA 3 - Quantidade de proteína total de folhas de plantas de feijoeiro com frutos com zero, cinco, dez, vinte ou quarenta sementes.....	25
FIGURA 4 - Quantidade de clorofila total de folhas de plantas de feijoeiro com remoção de flor e de frutos em diferentes estádios de desenvolvimento do fruto.....	25
FIGURA 5 - Quantidade de clorofila total de folhas de plantas de feijoeiro mantidas com zero, um, cinco ou dez frutos.....	26
FIGURA 6 - Quantidade de clorofila total de folhas de feijoeiro mantidas com frutos com zero, cinco, dez, vinte ou quarenta sementes.....	27
FIGURA 7 - Quantidade de proteína total de folhas de plantas de feijoeiro bi-ramificadas com ramos mantidos vegetativos ou intactos.....	32
FIGURA 8 - Quantidade de clorofila total de folhas de plantas de feijoeiro bi-ramificadas com ramos mantidos vegetativos ou intactos.....	33
FIGURA 9 - Quantidade de proteína total de folhas de	

feijoeiro intactas com aplicação isolada de reguladores de crescimento.....	39
FIGURA 10 -- Quantidade de proteína total de folhas de plantas de feijoeiro intactas com aplicação combinada de reguladores de crescimento.....	39
FIGURA 11 - Quantidade de proteína total de folhas de plantas de feijoeiro vegetativas com aplicação isolada de reguladores de crescimento...	40
FIGURA 12 - Quantidade de proteína total de folhas de plantas de feijoeiro vegetativas com aplicação combinada de reguladores de crescimento.	40
FIGURA 13 - Quantidade de clorofila total de folhas de plantas de feijoeiro intactas com aplicação isolada de reguladores de crescimento.....	41
FIGURA 14 - Quantidade de clorofila total de folhas de plantas de feijoeiro intactas com aplicação combinada de reguladores de crescimento.....	42
FIGURA 15 - Quantidade de clorofila total de folhas de plantas de feijoeiro vegetativas com aplicação isolada de reguladores de crescimento...	43
FIGURA 16 - Quantidade de clorofila total de folhas de plantas de feijoeiro vegetativas com aplicação combinada de reguladores de crescimento.	44

ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
TABELA 1 - Quantidade de proteína total durante o desenvolvimento da planta.....	22
TABELA 2 - Quantidade de clorofila total durante o desenvolvimento da planta.....	23
TABELA 3 - Quantidade de proteína total durante o desenvolvimento de plantas bi-ramificadas.....	30
TABELA 4 - Quantidade de clorofila total durante o desenvolvimento de plantas bi-ramificadas.....	31
TABELA 5 - Quantidade de proteína total durante o desenvolvimento da planta, com aplicação de GA_3 ; 6-BA; CCC; AIA; ABA ou água.....	37
TABELA 6 - Quantidade de clorofila total durante o desenvolvimento da planta, com aplicação de GA_3 ; 6-BA; AIA; ABA ou água.....	38
TABELA 7 - Quantidade de proteína total durante o desenvolvimento de plantas enxertadas, com aplicação de 6-BA ou CCC ou água.....	47
TABELA 8 - Quantidade de clorofila total em plantas enxertadas com 60 dias de idade, com aplicação de 6-BA ou CCC ou água.....	48

ABREVIATURAS USADAS

6-BA	- 6-benziladenina
CCC	- cloreto 2-cloroetil-trimetil-amônio
ABA	- ácido abscísico
AIA	- ácido indolil-3-acético
GA	- giberelina
DNA	- ácido desoxirribonucleico
RNA	- ácido ribonucleico
DNase	- enzima ácido desoxirribonucleico sintetase
RNase	- enzima ácido ribonucleico sintetase
RUBPcase	- enzima ribulose bifosfato carboxilase

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. I.F.M. Vélío, pela sua valiosa orientação e amizade.

Ao Dr. Antonio S. Pompeo da Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas, pelas sugestões e informações dadas ao longo deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio dado através de Bolsa de Iniciação Científica e Bolsa de Mestrado.

Ao meu querido marido, Marcelo Polo, pelo incentivo, auxílio e compreensão dados no decorrer deste trabalho.

INTRODUÇÃO

Os processos deteriorativos que finalizam a vida funcional de um órgão, organismo ou outra unidade vital, são chamados de senescência.

A senescência em animais geralmente ocorre gradualmente ou então muito rapidamente. O tempo necessário para ocorrer a senescência da planta não é um fator característico, podendo variar com a espécie de planta ou com as condições ambientais.

Em algumas plantas a senescência ocorre logo após a floração e estabelecimento dos frutos, em outras esta sequência não é estabelecida, estando sujeita a uma variação enorme de fatores. Em muitas plantas, as raízes e a parte aérea senesecem em tempos diferentes. As plantas anuais senesecem por inteiro, enquanto que em plantas com bulbos, folhas e flores senescem, mas os produtos fotossintetizados são exportados para o bulbo, que aumenta em volume e permanece vivo para desenvolver novamente na próxima estação de crescimento. Nas perenes, a parte aérea senesce e os aminoácidos acumulados das folhas são estocados no sistema radicular como proteína ressintetizada; as gemas se formam e na estação seguinte se desenvolvem (THIMANN, 1978).

Existem plantas nas quais a senescência não é detectada, como por exemplo árvores frutíferas ou ainda árvores como a sequóia que vivem centenas de anos, não havendo nenhuma indicação real da ocorrência do fenômeno da senescência (THIMANN, 1978).

De todos os fenômenos da senescência, a mais dramática é a senescência monocárpica, onde ocorre degeneração total da planta e morte após a floração e/ou a frutificação.

A senescência monocárpica evoluiu, aparentemente, independente num grande número de grupos taxonômicos, ocorrendo geralmente em plantas anuais e bienuais. Em muitos casos a remoção de flores e frutos pode retardar ou até prevenir a senescência (Molisch, 1938 in LEOPOLD E KRIEDEMANN, 1975). Este autor concluiu que as estruturas reprodutivas carregam nutrientes da parte vegetativa, causando senescência na planta pela falta de nutrientes.

A deficiência nutricional pode ser causada pela drenagem ou desvios de nutrientes da parte vegetativa para as partes reprodutivas. No entanto, existem complicações na interpretação, por exemplo, remoção de flores é notavelmente mais eficiente para o retardamento da senescência do que a remoção de frutos (LEOPOLD E KRIEDEMANN, 1975). Efeito oposto é observado em *Capsicum annuum* L., onde a remoção de flores acelera a senescência foliar (ELIZALDE, SLABNIK E HALL, 1978).

A influência do desenvolvimento dos frutos em feijão, pode ser observada pela comparação nas mudanças do nível de proteínas e clorofila, contidas em folhas de plantas com ou sem frutos (WAREING E SETH, 1967).

Experimentos e observações realizadas há mais de uma década, indicam que outros fatores devem ser responsáveis pela morte de algumas plantas monocárpicas. LEOPOLD, NIEDERBANG - KAMLEN E JANICK (1959) verificaram que plantas masculinas de espécies dióicas, como o espinafre, *Spinacia ole-*

xacea L., mesmo não apresentando desenvolvimento de frutos, mostram o fenômeno típico da senescência. Similarmente, KRIZEK, MC ILRATH E VERGARA (1966) mostraram que plantas de *Xanthium pensylvanicum* que haviam recebido tratamento prévio de dias curtos (indutivo para floração) apresentavam senescência foliar aproximadamente ao mesmo tempo, tendo ou não seus botões florais removidos.

LINDOO E NOODÉN (1976) demonstraram que em soja, cv. Anoka, a retirada de sementes é tão efetiva na prevenção de senescência quanto a remoção do fruto inteiro (retirada de vagens). É na semente que se origina um aviso para a ocorrência da senescência monocárpica em soja (LINDOO E NOODÉN, 1977) e feijão (WAREING E SETH, 1967).

Assim, estudos em soja e em outras plantas monocárpicas, incluindo o espinafre e a pimenta, não sustentam a teoria da drenagem e desvio de nutrientes como sendo um mecanismo primário da senescência monocárpica nestas espécies.

Parecem estar envolvidos também no processo de senescência, reguladores de crescimento, pois, embora o fruto acumule grande quantidade de substâncias, incluindo reguladores de crescimento, estes podem também se translocar do fruto para as partes vegetativas (WALKER E HO, 1977). RICHMOND E LANG (1957) verificaram que citicinininas retardavam a senescência em *Xanthium*; mais tarde, FLETCHER E OSBORNE (1965) verificaram que outras espécies têm a senescência retardada pela aplicação de giberelinas e outras ainda, pelas auxinas (Osborne e Halloway, 1964 in LEOPOLD E KRIEDEMANN, 1975).

Além de experimentos que demonstraram a existência de

crecimento capazes de retardar a senescência, foram feitos outros que indicaram reguladores de crescimento como promotores da senescência, sendo o principal implicado o ácido abscísico (LINDOO E NOODÉN, 1978).

Assim, a senescência é um processo fisiológico bastante complexo, no qual fatores nutricionais e fatores hormonais estão intimamente relacionados. Essa interação parece ser desencadeada pela reprodução (pelo menos nos casos de plantas anuais e bianuais).

OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram o de verificar na senescência de pós-frutificação de uma planta anual, *Phaseolus vulgaris* o efeito da remoção de flores, sementes e frutos em diferentes quantidades e estádios, a mobilidade do sinal da senescência e algumas das possíveis interações entre translocação de nutrientes e reguladores de crescimento envolvidos no processo.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Embora muitas informações a respeito de senescência foliar tenham sido acumuladas durante anos recentes, comparativamente pouca coisa se sabe sobre o processo na planta toda (LEOPOLD, 1975). Plantas monocárpicas são plantas que têm somente uma fase reprodutiva e depois morrem. Estas senescem abrupta e imediatamente após a fase reprodutiva. As causas que levariam as plantas a senescerem durante este período permanecem incertas (DAVIES, PROEBSTING E GIANFAGNA, 1977). Provavelmente, existe uma "senescência programada" ou seja, um controle genético. A ocorrência quase simultânea do amarelecimento de um campo de trigo ou soja no fim do verão mostra que a senescência ocorre não por causa de tamanho ou idade atingidos pela planta e sim por terem incapacitadas suas funções fisiológicas. A soja (*Glycine max*) pode atingir uma idade (superior a um ano) e um tamanho (mais de sete metros) bem acima do normal, se for impedida de entrar na fase reprodutiva. Isto está de acordo com os experimentos de Molisch (1938 *in* LEOPOLD E KRIEDEMANN, 1975), porque a soja é uma planta de dias curtos, cuja floração pode ser prevenida indefinidamente quando mantida em dias longos.

KRIZEK *et al.* (1966) mostraram que *Xanthium pensylvanicum* colocado em dias curtos, tem acelerado seu processo de senescência.

A remoção de vagens jovens pode prevenir a senescência da planta (LEOPOLD, NIEDERGANG-KAMIEN E JANICK, 1959;

WAREING E SETH, 1967; LINDOO E NOODÉN, 1977). A remoção de gemas florais também retarda e até previne a senescência foliar em soja, o que é verificado pela perda de cor verde (HICKS E PENDLETON, 1969). Quando sementes de soja são cuidadosamente removidas do fruto (com um mínimo de lesão da vagem), a senescência é retardada com tanta eficiência como quando os frutos são retirados (NOODÉN *et al.*, 1977).

A senescência apical ocorre em plantas de ervilha (*Pisum sativum* L.) com flores removidas, indicando que a presença de frutos em desenvolvimento, embora promotora, não é essencial para a senescência apical (DAVIES *et al.*, 1977). TAMAS *et al.* (1979), trabalhando com duas cultivares de feijão, evitaram em grande parte, o aborto de frutos jovens quando removeram os frutos mais velhos; além disso, os frutos jovens tiveram reduzida a concentração de ácido abscísico.

O fato de que plantas monocárpicas investem muitos dos seus recursos no crescimento das sementes sugeriu, inicialmente para Molisch, que o desenvolvimento dos frutos funciona como um "sink metabólico" (centro de consumo), com drenagem de nutrientes, particularmente nitrogênio, das partes vegetativas, acabando por matar a planta toda por falta de nutrientes. Mas em 1959, LEOPOLD *et al.* repetiram o experimento de Molisch com uma variedade de espinafre que tinha só flores femininas e plantas só com flores masculinas, e observaram que a remoção das flores adiava a senescência tanto quanto a remoção de flores femininas ou frutos. Este fenômeno é muito variável, e de acordo com LOCKHART E GOTTSCHALL (1961), o crescimento do ápice de

plantas de ervilha cessa seu crescimento ainda que todas as flores e frutos tenham sido removidos ou mesmo que o ápice de uma planta mais velha seja enxertado no de uma planta mais jovem. Estes autores concluíram que há uma senescência do meristema contribuindo para a senescência da planta.

Algumas cultivares de ervilha senescem se as sementes amadurecem na vagem, enquanto que outras da mesma espécie sobrevivem à floração e frutificação (THIMANN, 1978).

Segundo Marx (1968, *in* LEOPOLD E KRIEDEMANN, 1975), a senescência de *Pisum sativum* L. não está relacionada com floração e frutificação e que certas cultivares continuam a crescer ativamente mesmo após o completo desenvolvimento de muitos frutos.

Em soja, existem muitas evidências de que o desenvolvimento da semente pode ser separado da senescência. Em primeiro lugar, a influência do desenvolvimento das sementes não é sistêmico e sim localizado, tendendo ser maior nas adjacências das próprias sementes. Em segundo lugar, é possível conseguir, através do desfolhamento ou retirada dos frutos, plantas cujas folhas e frutos estão bem separados (embora mantida a razão folhas/frutos de plantas intactas) (THIMANN, 1978). Por exemplo, se as plantas tiverem uma simples folha, com um simples cacho de frutos três nós abaixo, elas mostram um desenvolvimento e uma produção normal da semente, mas sem senescência das folhas (LINDOO E NOODÉN, 1976; 1977). Em terceiro lugar, quando o tamanho do centro de consumo (i.e., o número de frutos por planta) é determinado para que não haja aumento do

número de frutos (remoção periódica de frutos), a resposta da senescência já é total, mesmo num centro de consumo pequeno (40 a 50% do máximo de peso seco de semente ou conteúdo de nitrogênio). Se a drenagem de nutrientes fosse causadora da senescência, nós esperaríamos uma relação proporcional entre o tamanho do centro de consumo e a senescência (THIMANN, 1978).

Uma das várias hipóteses para explicação da senescência é a da diminuição da quantidade dos minerais necessários nas folhas (Noodén e Leopold, 1978 *in* SESAY E SHIBLES, 1980; NOODÉN, RUPP E DERMAN, 1978). SESAY E SHIBLES (1980) verificaram que em soja sob condições normais de crescimento, a senescência não está relacionada com as concentrações de nitrogênio, fósforo ou potássio nas folhas.

Algumas enzimas estão relacionadas com a senescência de folhas destacadas ou discos de folhas, como por exemplo a catalase que diminui suas atividades durante o processo de senescência (MARTIN E THIMANN, 1972; PATRA, KAR E MISHRA, 1978).

Dois dos mais óbvios efeitos da senescência em plantas superiores são as degradações da clorofila e da proteína, PATTERSON E MOSS (1979), trabalhando com trigo constatarem uma diminuição no conteúdo de proteína foliar conforme a idade, enquanto que o de clorofila variava conforme o local de extração na folha. MARTIN E THIMANN (1972), verificaram uma diminuição no conteúdo de proteína total em folhas destacadas de *Avena sativa* L. seguida também de uma diminuição no conteúdo de clorofila total. Um aumento correspondente, foi encontrado na quantidade de aminoácidos li-

vres. Segundo MALIK E THIMANN (1980), a fotofosforilação cíclica deve ser a responsável pela manutenção da clorofila e proteínas em folhas de trigo iluminadas, evitando então a senescência. Esses autores supõe a existência de uma relação entre os produtos da fosforilação e a senescência foliar.

Todas essas descobertas indicam a idéia de um centro de consumo e propõe que as sementes agem através de um regulador de crescimento ou sinal de mobilidade limitada na planta (MALIK E BERRIE, 1975; DAVIES *et al.* 1977; LINDOO E NOODÉN, 1977; NOODÉN *et al.* 1978; REID, 1980). Recentemente alguma evidência direta de tal regulador de senescência ou pelo menos um fator transmissível foi descoberto em ervilha. Uma linhagem genética chamada G_2 tem retardada a senescência do ápice em dias curtos (Marx, 1968 *in* LEOPOLD E KRIEDE MANN, 1975). Quando uma outra cultivar que senesce normalmente é enxertado com G_2 , a senescência também se torna sensível a dias curtos (Proebsting *et al.*, 1977 *in* THIMANN, 1978).

LINDOO E NOODÉN (1977), demonstraram através de experimentos com soja que a mobilidade do "sinal de senescência" é limitado, contrastando com a transmissão do estímulo para floração na mesma planta que é translocada movendo-se rapidamente para cima ou para baixo no caule a partir de uma única folha induzida. PRAKASH (1976), trabalhando com *Catharanthus roseus* mostrou a existência da atividade de um "estimulante da abscisão", característico de um fator da senescência. Os reguladores de crescimento parecem estar envolvidos no processo de senescência. RICHMOND E LANG (1957), constataram que a citocinina retardava a senescência em folhas de *Arabidopsis* e a partir daí, durante alguns anos os fisiolo-

gistas acreditaram que a citocinina era o único regulador de crescimento envolvido na senescência. A partir de 1960, tornou-se clara a participação de outros reguladores no processo assim como giberelinas (FLETCHER E OSBORNE, 1965), auxinas (Osborne e Halloway, 1964 *in* LEOPOLD E KRIEDEMANN, 1975), ABA (EVEN-CHEN E ITAI, 1975) e etileno (AHARONI E LIEBERMAN, 1979).

A aplicação de cinetina aumenta e prolonga a fase de síntese de proteína, previne a proteólise e a degradação da clorofila em muitas espécies (RICHMOND E LANG, 1957; OSBORNE, 1967; MANOS E GOLDTWAITE, 1975; Kuraishi, 1968 *in* THIMANN, 1978). NAITO *et al.* (1979), notaram um aumento nos níveis de DNA, RNA e proteína quando trataram folhas intactas de feijoeiro com 6-BA. FLETCHER (1969), mostrou que a atividade da RNAase foi mais alta em folhas de feijoeiro tratadas com 6-BA do que naquelas não tratadas. O acúmulo de aminoácidos no ponto de aplicação de citocininas é tão forte em plantas jovens de feijoeiro que a aplicação de 6-BA na primeira folha trifoliolada promove a senescência na segunda folha trifoliolada, talvez porque a síntese proteica é tão estimulada na primeira folha que a segunda torna-se deficiente em nitrogênio (LEOPOLD E KAWASE, 1964).

WITTENBACK (1977), conseguiu induzir plântulas intactas de trigo (*Triticum aestivum* L.) a vários estádios de senescência, colocando-as no escuro. Os resultados demonstraram o início de um estágio irreversível de senescência no qual ocorre um início de perda de proteína e de clorofila, que precede alterações da permeabilidade da membrana. Aplicações de zeatina retardaram o estabelecimento do estágio

irreversível, retardando marcadamente a senescência foliar.

Em arroz, a senescência é controlada por um balanço entre ABA e citocininas, a qual é induzida por substâncias semelhantes ao ABA, formadas por um "stress" desenvolvido nas folhas, como consequência de um transporte intenso de metabólitos para os grãos (BISWAS E CHOUDHURI, 1980).

As citocininas, zeatina e 6-BA, quando nebulizadas nas folhas, são capazes de retardar, mas não prevenir a senescência de soja com frutos (LINDOO E NOODÉN, 1978).

Juntamente com os reguladores de crescimento, o fitocromo está implicado na participação do fenômeno da senescência. Uma breve irradiação com luz vermelha é tão efetiva quanto a luz branca contínua ou a aplicação de cinetina na suspensão das perdas de clorofila e proteína em tomate e pepino (TUCKER, 1981). Em *Phaseolus vulgaris* e *Cornus alba* o retardamento da senescência não ocorre quando em luz branca, mas curtas exposições a luz vermelha são inefetivas (KENIS E TRIPPI, 1980):

O número de espécies nas quais a senescência é reconhecidamente retardada pelas giberelinas é muito pequeno. Após um trabalho inicial de retardamento do amarelecimento das folhas em algumas espécies de árvores através do tratamento com giberelinas (BRIAN, PETTY E RICHMOND, 1959) e experimentos com folhas isoladas e discos de folhas, estabeleceu-se que as giberelinas poderiam retardar a senescência em três espécies de dicotiledôneas: *Taraxacum* (FLETCHER E OSBORNE, 1966); *Rumex* (WHYTE E LUCKWILL, 1966) e *Trapaecolum* (BEEVERS, 1966). DAVIES *et al.* (1977), aplicaram em ervilhas GA_3 e GA_{20} , conseguindo o retardamento e até prevenção da senescência. A aplicação de GA_9 , AIA, 6-BA ou ABA foi inefe-

tiva. HORTON (1977) demonstrou em *Maianthemum canadense* o retardamento da senescência pela aplicação de giberelinas e citocininas. Neste mesmo trabalho foi verificado o efeito de redução do retardamento da senescência pela aplicação do ABA após o tratamento com giberelina ou citocinina.

O ABA é apontado como um regulador envolvido na senescência, mas os resultados de alguns trabalhos põe em dúvida essa participação, por exemplo, em folhas senescentes de feijoeiro não foram detectadas diferenças significativas no nível total de ABA (OSBORNE, JACKSON E MILBORROW, 1972; COLQUHOUN E HILLMAN, 1975). Em folhas senescentes de feijoeiro o nível de ABA aumenta e depois diminui (EVEN-CHEN E ITAI, 1975). O nível de ABA é altíssimo em soja (LINDOO E NOODÉN, 1978) aumentando mais na presença das sementes (QUEBEDEAUX, SWEETSER E ROWELL, 1976). A aplicação de ABA em folhas de soja promove a senescência foliar em plantas com frutos (SLOGER E CALDWELL, 1970; LINDOO E NOODÉN, 1978), mas não em plantas sem frutos (LINDOO E NOODÉN, 1978).

O mecanismo de indução da senescência foliar está associado à diminuição de reguladores de crescimento (tais como auxinas e citocininas) e isto deve-se grandemente à influência do nível de ABA e etileno. O início da senescência não parece ser rápido e repentino ou iniciado pela mudança no nível de um só regulador, mas parece ser afetado pela ação integrada de todos os reguladores de crescimento participantes de processo. A biossíntese de etileno nas folhas é controlada por reguladores de crescimento, especialmente auxinas (AHARONI E LIEBERMAN, 1979). O etileno está

também envolvido na degradação de clorofila em lâminas foliares e com o processo de abscisão (Burg, 1968 *in* AHARONI E LIEBERMAN, 1979). Em folhas de tabaco foi verificado que o nível endógeno de etileno existente em folhas maduras é suficiente para a indução da senescência (AHARONI E LIEBERMAN, 1979). Os níveis endógenos de AIA (DELA FUENTE E LEOPOLD, 1968), GA (CHIN E BEEVERS, 1970) e citocíninas (Mayak, Halevy e Katz, 1972 *in* AHARONI E LIEBERMAN, 1979), os quais são antagonistas da ação do etileno, declinam antes do início dos sintomas da senescência. Geralmente, a taxa de produção de etileno é muito afetada pelo nível de auxina, a qual age, algumas vezes, sinergisticamente com citocíninas (FUCHS E LIEBERMANN, 1968).

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram usadas plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. goiano precoce, cujas sementes foram fornecidas pela Seção de Leguminosas de Instituto Agrônomo de Campinas.

1. Cultivo das plantas

As sementes foram colocadas para germinar em rolos de papel de filtro, permanecendo em câmaras de germinação em condições controladas de temperatura (25°C). Plântulas com três dias de idade foram transplantadas para vasos plásticos de três litros de capacidade com terra (80%) e matéria orgânica (20%). Os vasos foram mantidos em viveiro à temperatura ambiente, com regas semanais de solução nutritiva de Hoagland a 50%.

2. Procedimento cirúrgico

Em todos os tratamentos as plantas foram mantidas com cinco folhas trifolioladas para melhor manipulação das mesmas.

As plantas vegetativas eram obtidas removendo-se continuamente suas flores, com auxílio de lâmina cortante enquanto que as intactas eram deixadas desenvolver normalmente flores e frutos até o final do seu ciclo de vida. A remoção da flor era feita antes de ocorrer a antese.

2.1. Plantas bi-ramificadas

Para este experimento, as sementes de feijão foram se

mesdas diretamente no canteiro. Quando as plântulas tinham dez dias de idade, seus ápices foram removidos logo acima das folhas primárias, deixando-se então desenvolverem-se os dois ramos axilares designados aqui por ramo A e ramo B.

2.2. Plantas enxertadas

Em cada vaso eram colocadas duas plântulas (designadas por intacta A, intacta B ou vegetativa A, vegetativa B ou somente intacta ou vegetativa) com distância de cinco centímetros uma da outra. Aos trinta dias de idade foi feita uma secção tangencial ao córtex de cada uma das duas plantas de um mesmo vaso e unindo-se então os caules com fita adesiva. Após uma semana estas fitas eram removidas e as plantas permaneciam enxertadas por todo o tratamento. Para sabermos se o enxerto havia se efetivado após o tratamento, foram escolhidas ao acaso plantas enxertadas, onde foram cortados o ápice de uma e a base de outra deixando-se somente uma planta em cada vaso. Essas plantas, que tiveram seu caule cortado, sobreviveram por mais de um mês após o teste mantendo-se túrgidas, o que confirmou plenamente o enxerto feito.

2.3. Determinação dos estádios de desenvolvimento dos frutos

Os diferentes estádios de desenvolvimento dos frutos foram determinados pelas medidas de volume e comprimento. A medida do volume dos frutos foi feita considerando-se o volume de água deslocada (princípio de Arquimedes), usando-se para isto uma proveta graduada. Os frutos, sem serem

destacados, eram mergulhados na água da proveta e o volume deslocado era anotado. O comprimento foi medido com o auxílio de uma régua de escala milimétrica. O fruto foi considerado jovem quando apresentava até $0,2 \text{ cm}^3$ ou 2 cm de comprimento; considerado intermediário quando tinha até 2 cm^3 ou 6 cm de comprimento e considerado adulto quando tinha até 6 cm^3 ou 9 cm de comprimento.

2.4. Eliminação de sementes

Para se verificar o efeito do número de sementes por fruto na senescência, foram colocados tubos plásticos transparentes de 2 cm de comprimento e 4 mm de luz envolvendo os frutos jovens. O fruto se desenvolvia até preencher totalmente a luz do tubo ficando ali comprimido, desta maneira, o desenvolvimento normal dos frutos era interrompido e as sementes abortadas. Para que o desenvolvimento da semente ocorresse, parte do fruto era deixado fora do tubo.

3. Aplicação de reguladores de crescimento

Os reguladores de crescimento testados foram o ácido giberélico (GA_3) e 6-benzil-adenina (6-BA), aplicados na concentração de 10^{-3}M ; o ácido indolil-3-acético (AIA) e o ácido abscísico (ABA) foram aplicados na concentração de 10^{-4}M e cloreto 2-cloroetil-trimetil-amônio (CCC) aplicado na concentração de 10^{-2}M , sendo 100ml em cada planta.

Estas substâncias foram aplicadas antes de ocorrer a antese na planta toda por nebulização a cada dois dias até que os controles intactos estivessem em estágio adiantado de senescência (100 % de folhas amarelas).

No tratamento com aplicação combinada de reguladores de

crescimento, as aplicações eram feitas uma seguida à outra, após um intervalo de tempo variável. A aplicação da substância seguinte era feita quando as folhas já haviam perdido o excesso de umidade deixado pela aplicação anterior.

4. Coleta de material

Para as primeiras dosagens o material foi coletado sempre uma semana após ter ocorrido a ântese. Para as dosagens seguintes o material foi coletado em intervalos de uma semana aproximadamente.

5. Dosagem de clorofila

De cada tratamento foram retirados três discos de 5 mm de diâmetro do folíolo central da quarta folha trifoliolada com um perfurador, correspondendo cada disco a uma amostra. Cada amostra foliar foi colocada num tubo de ensaio, com um ml de metanol absoluto. Os tubos de ensaio contendo as amostras foram tampados e conservados no escuro por 72 horas, processando-se então à leitura das soluções em espectrofotômetro em dois comprimentos de onda, correspondentes aos picos máximos de absorção da clorofila a (663 nm) e clorofila b (645 nm). O conteúdo de clorofila total foi expresso em mg.cm^{-2} (ARNON, 1949).

6. Dosagem de proteína

A dosagem de proteína foi feita pelo método de "Dye-binding" (BRADFORD, 1976), adaptado, processando-se da seguinte maneira: foram retirados cinco discos de 5 mm de diâmetro do folíolo central da quarta folha trifoliolada com

um perfurador. As amostras foram colocadas em almoferiz e maceradas em NaOH 0,1 M com o auxílio de um pistilo. Este material foi diluído em 3 ml de NaOH 0,1M e colocado em tubos de ensaio sendo centrifugado durante dez minutos a 2000 rpm. O sobrenadante foi então colocado em novo tubo de ensaio e o precipitado foi novamente diluído, agora em 2 ml de NaOH 0,1M e também centrifugado da mesma maneira. O novo sobrenadante foi colocado juntamente com o anterior. Deste total foram retirados 0,2 ml e colocados em outro tubo de ensaio ao qual foram adicionados 0,3 ml de NaOH 0,1M e 5 ml de reagente Brilliant Blue G-250. Após dois minutos a solução foi lida em espectrofotômetro a 595 nm. Os resultados obtidos em absorvância foram expressos em mg.cm^{-2} , usando-se uma solução padrão de albumina na concentração de 1 mg/ml.

7. Análise estatística

Nos resultados da última dosagem de cada experimento foi feita a análise de variância e calculada a DMS (diferença mínima significativa) ao nível de 5%. A análise estatística foi feita com os valores obtidos de três repetições.

RESULTADOS

1. Remoção de órgãos reprodutores da planta

O material para a extração de proteína e clorofila foi retirado conforme descrito anteriormente e em três idades diferentes do feijoeiro: 35, 43 e 50 dias.

1.1. Efeito da remoção da flor

Procurou-se verificar se em feijoeiro a remoção da flor retardava a senescência. A planta era deixada sem flores e sem frutos (planta vegetativa) assim permanecendo até o final do experimento.

Os resultados deste experimento são mostrados nas tabelas 1 e 2 e figuras 1 e 4.

O tratamento da remoção da flor (planta vegetativa) foi efetivo no retardamento da senescência, aumentando significativamente o conteúdo de proteína em relação aos tratamentos de remoção de frutos como demonstrou o teste estatístico. Em relação ao controle intacto (planta com dez frutos) foi também observado um aumento significativo. A quantidade de clorofila das plantas vegetativas foi significativamente diferente dos tratamentos de remoção de frutos adultos e do controle intacto.

1.2. Efeito do estágio de desenvolvimento dos frutos

Após a determinação de três estádios diferentes de desenvolvimento dos frutos de feijoeiro, passou-se ao tratamento que era constituído de plantas com remoção de frutos

jovens, permanecendo somente com flores, plantas com remoção de frutos intermediários permanecendo com flores e frutos jovens e plantas com remoção de frutos adultos permanecendo com flores, frutos jovens e frutos intermediários.

De acordo com os resultados mostrados na tabela 1 e figura 1, a quantidade final de proteína é igual em plantas com retirada de frutos jovens e plantas com retirada de frutos intermediários, havendo diferença significativa entre estas e as plantas onde foram retirados os frutos adultos. A remoção de frutos adultos quando comparados com o controle intacto foi suficiente para retardar a senescência (pelo menos em parte) enquanto que a remoção de frutos jovens e intermediários interrompe o processo (tabela 1).

O conteúdo de clorofila ficou bastante diminuído em plantas com remoção de frutos adultos, havendo diferença significativa entre estas e aquelas com frutos jovens ou intermediários removidos (tabela 2 e figura 4). O controle intacto (com dez frutos) apresentou diferença significativa dos tratamentos de remoção de frutos intermediários e de adultos.

1.3. Efeito do número de frutos

Para se verificar o efeito do número de frutos na senescência foi montado um experimento com plantas sem nenhum, com um, com cinco e com dez frutos (planta intacta).

Os resultados obtidos mostram que plantas sem nenhum (com remoção de frutos jovens) ou com apenas um fruto se comportam da mesma maneira, mantendo o conteúdo de proteína (tabela 1 e figura 2) e clorofila (tabela 2 e figura 5). A

análise estatística mostrou que não houve diferença significativa entre plantas sem nenhum e com um fruto. As plantas com cinco frutos e com dez também não apresentam diferença significativa entre si, porém diferem daquelas sem nenhum ou com um fruto. Nas plantas com cinco ou com dez frutos ocorreu uma queda acentuada nos conteúdos de proteína e clorofila e consequente promoção da senescência.

1.4. Efeito do número de sementes

Para este experimento, foi provocado o aborto das sementes como já foi explicado anteriormente, permanecendo todos os frutos. Foram deixadas plantas sem nenhuma; com cinco; com dez; com vinte e com quarenta sementes.

Os resultados obtidos são apresentados nas tabelas 1 e 2 e figuras 3 e 6.

Não houve diferença significativa entre o tratamento de plantas sem nenhuma semente e aquele onde as plantas permaneciam com cinco sementes, neste caso a quantidade de clorofila foi mantida alta e de proteína constante com relação à dosagem inicial. Estas plantas são significativamente diferentes das plantas com dez, vinte e quarenta sementes. Em plantas com dez e vinte sementes ocorre uma diminuição tanto na quantidade de clorofila quanto na de proteína, não havendo diferença significativa entre estes dois tratamentos. Com relação às plantas que permaneceram com quarenta sementes, a diminuição nas quantidades de proteína e clorofila foi muito mais acentuada aos 50 dias, quando comparamos com a diminuição promovida pelas plantas com dez e vinte sementes, atingindo, em apenas sete dias, níveis muito baixos de

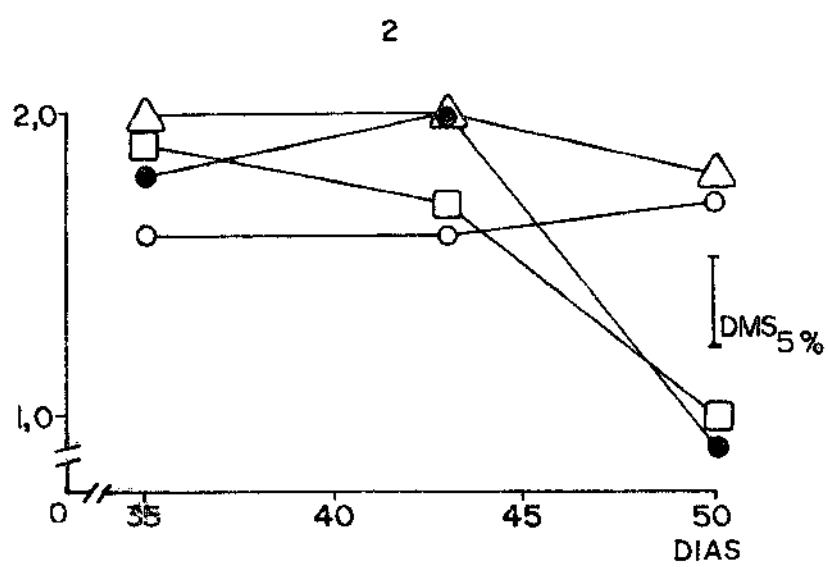
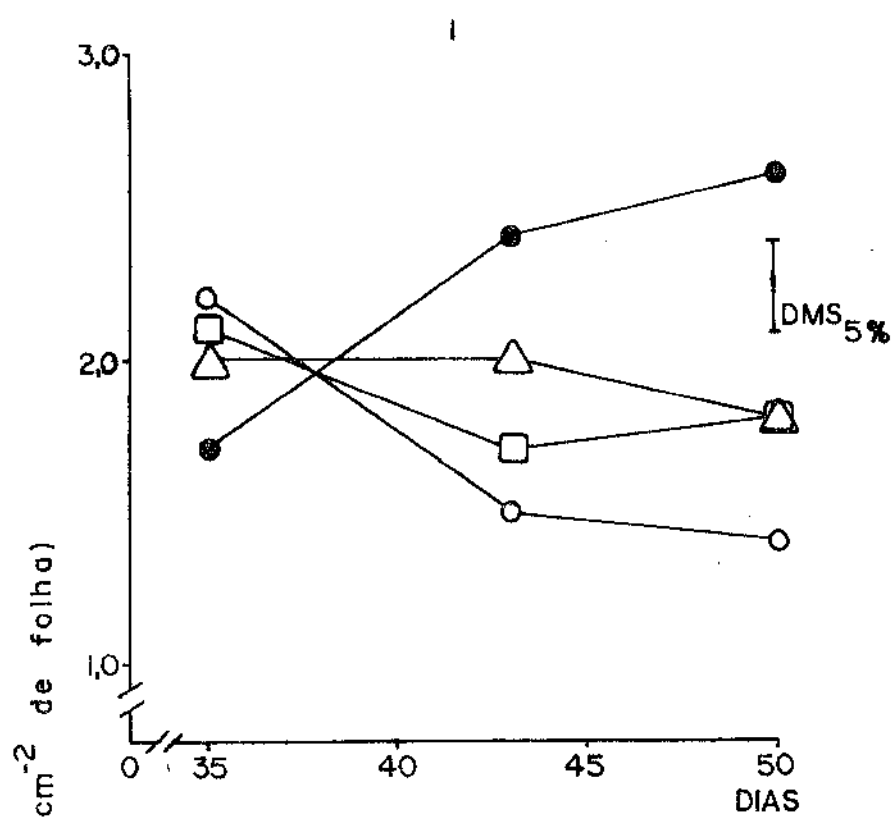
Tabela 1 - Quantidade de proteína total durante o desenvolvimento da planta. Valores médios de três repetições.

Tratamentos	Proteína das folhas(mg.cm ⁻²)		
	Idade (dias)		
	35	43	50
Remoção de flor (vegetativa)	1,69	2,39	2,62
Remoção de frutos jovens	2,00	1,96	1,78
Remoção de frutos intermediários	2,11	1,70	1,80
Remoção de frutos adultos	2,25	1,55	1,36
Um fruto	1,63	1,63	1,71
Cinco frutos	1,90	1,69	1,01
Dez frutos (intacta)	1,80	1,96	0,89
Sem sementes	1,65	1,88	1,90
Cinco sementes	1,77	1,96	1,98
Dez sementes	1,57	1,84	1,36
Vinte sementes	1,94	1,71	1,45
Quarenta sementes	1,59	2,00	0,95
DMS 5%			0,29

Tabela 2 - Quantidade de clorofila total durante o desenvolvimento da planta. Valores médios de três repetições.

Tratamentos	Clorofila das folhas (10^{-2}mg.cm^{-2})		
	Idade (dias)		
	35	43	50
Remoção de flor (vegetativa)	3,03	3,07	2,78
Remoção de frutos jovens	3,26	3,01	2,62
Remoção de frutos intermediários	3,03	2,62	2,64
Remoção de frutos adultos	3,20	2,75	1,60
Um fruto	3,28	2,45	2,43
Cinco frutos	3,73	2,51	1,30
Dez frutos (intacta)	3,38	2,86	0,83
Sem sementes	3,31	3,17	2,71
Cinco sementes	3,19	3,49	2,62
Dez sementes	3,50	3,19	2,37
Vinte sementes	3,65	3,27	2,16
Quarenta sementes	3,56	3,47	0,86
DMS 5%			0,53

FIGURAS



FIGURAS

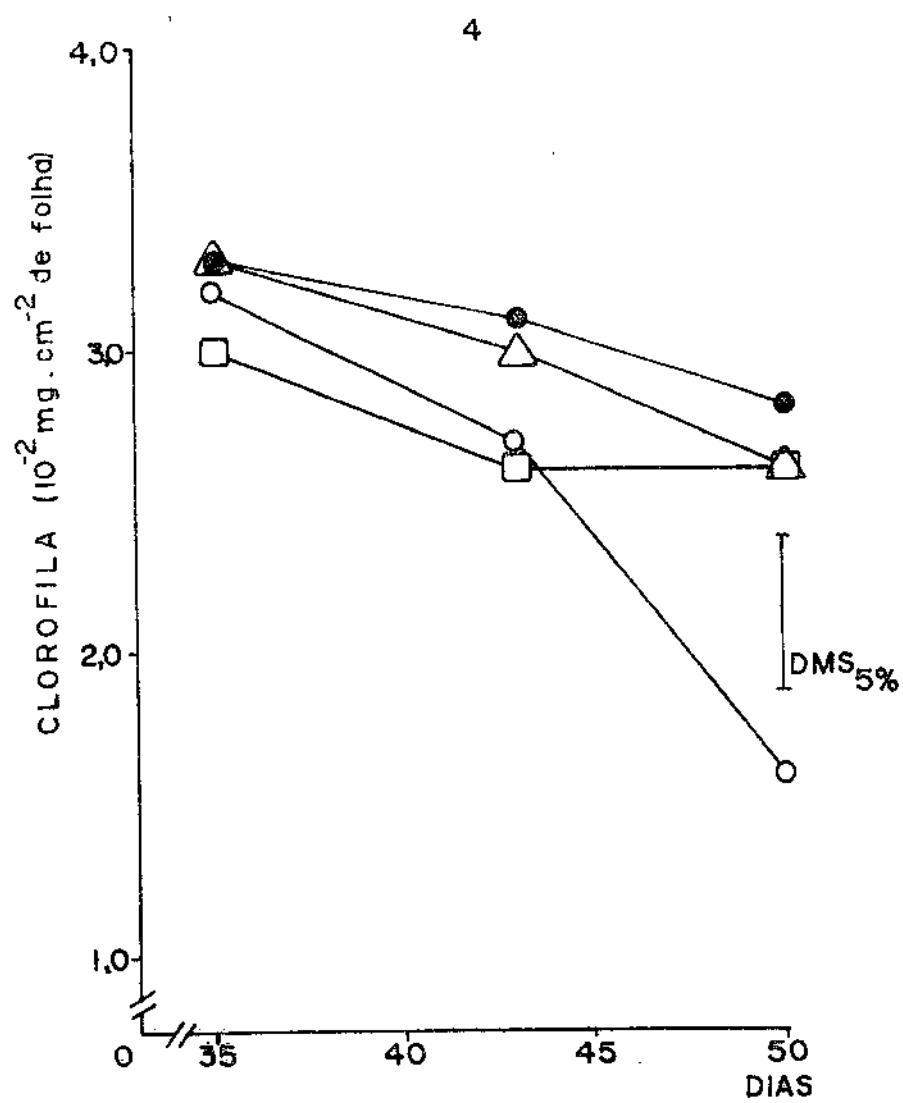
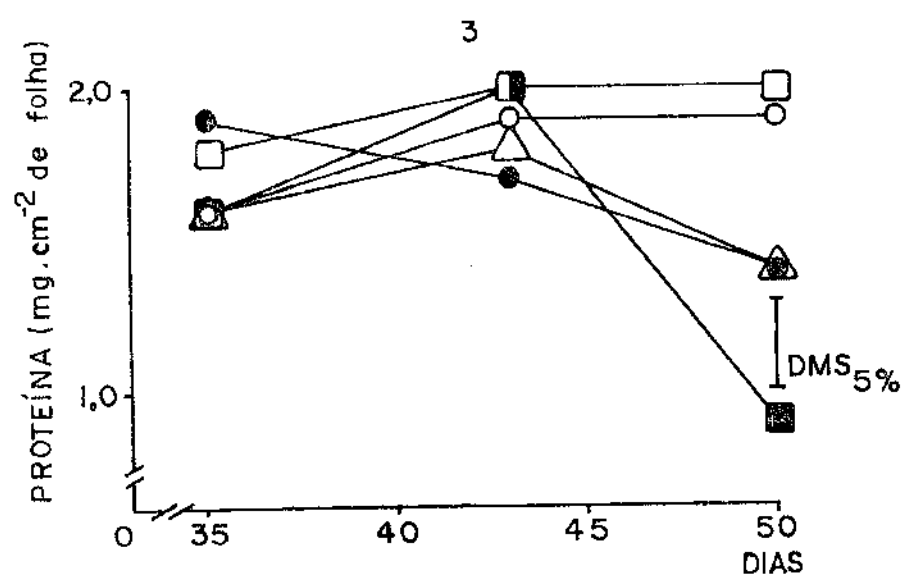


FIGURA 5

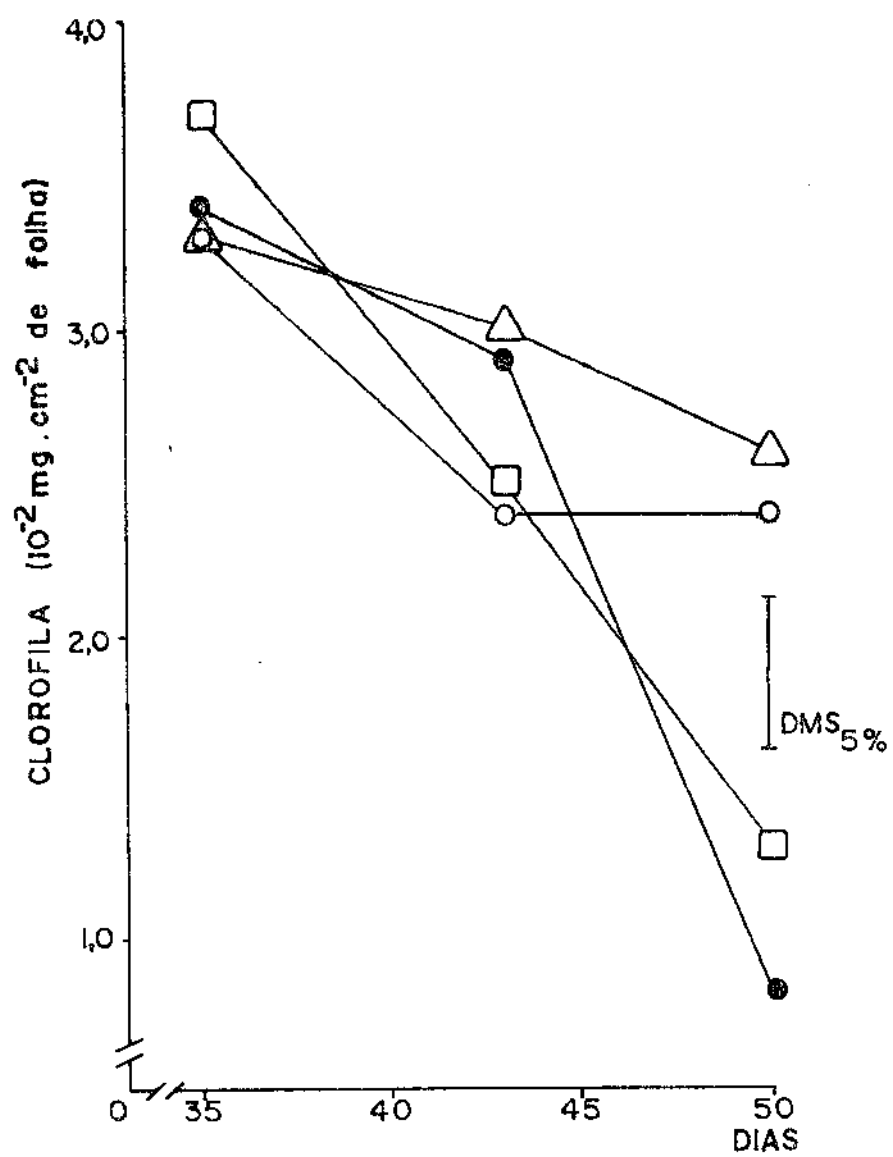
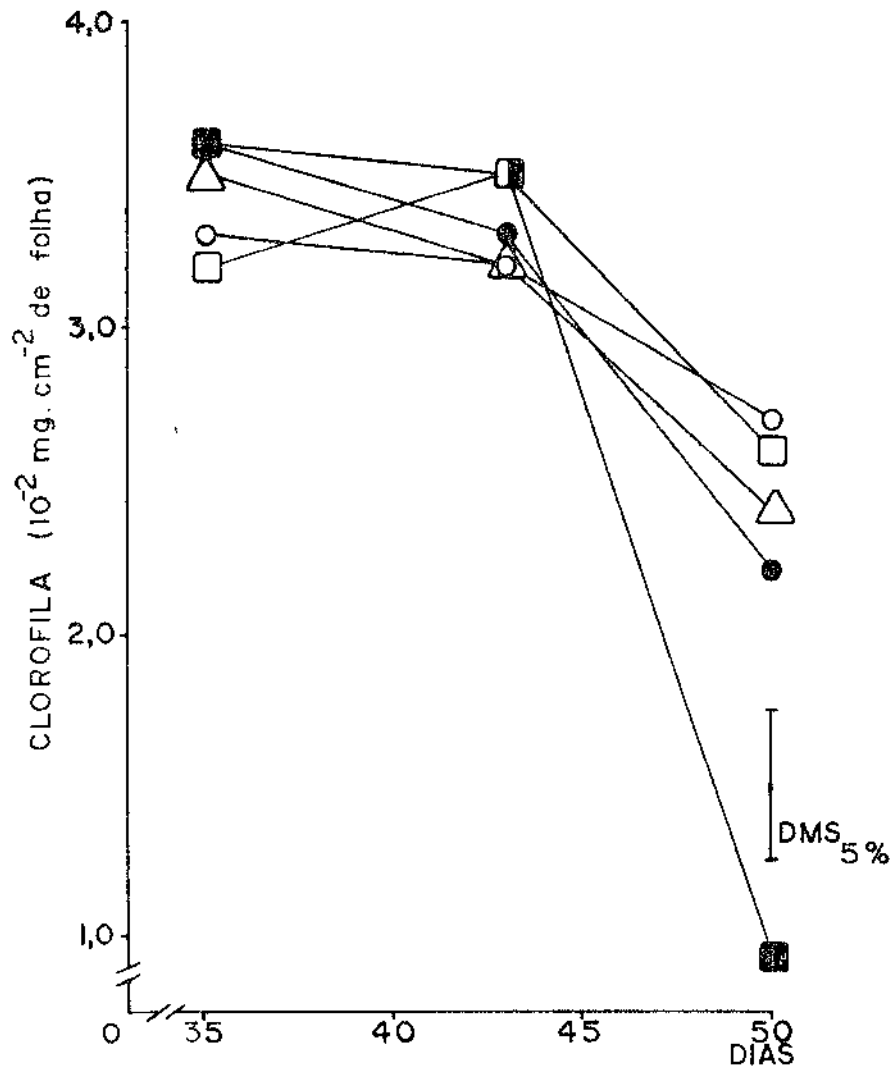


FIGURA 6



proteína e clorofila e consequentemente senescendo rapidamente (tabelas 1 e 2 e figuras 3 e 6).

Quando comparamos as figuras 2 e 3, notamos que as plantas que permaneceram com 40 sementes mostram um comportamento semelhante às aquelas que tinham dez frutos (plantas intactas), o que pode também ser visto na tabela 1 e 2 e figuras 6 e 5 respectivamente.

Verificamos que plantas com até cinco sementes tiveram os mesmos níveis de clorofila e proteína aos 50 dias, daquelas com nenhum ou com um fruto (tabelas 1 e 2).

2. Transmissão do sinal de senescência

Para determinar a mobilidade do sinal de senescência, foram feitos dois tipos de experimento; plantas bi-ramificadas (2.1) e plantas enxertadas (3.3.).

2.1. Plantas bi-ramificadas

As plantas bi-ramificadas consistiam de dois ramos aproximadamente iguais, cuja metodologia foi descrita anteriormente.

Para este experimento foram usados três tipos de plantas: um com os dois ramos vegetativos (ramo A e ramo B); outro com os dois ramos intactos (ramo A e ramo B) e outro ainda com um ramo intacto e outro vegetativo.

Foram feitas dosagens de proteína e de clorofila nos feijoeiros em três diferentes idades: 50, 67 e 74 dias.

Os resultados obtidos são apresentados nas tabelas 3 e 4 e figuras 7 e 8.

Podemos notar pelos resultados que o nível de proteína

em plantas vegetativas (ramos A e B vegetativos) com 74 dias de idade foi bem alto quando comparado com a primeira dosagem feita aos 50 dias de idade (tabela 3 e figura 7). A quantidade de clorofila se manteve até o final do experimento (tabela 4 e figura 8). Em plantas intactas ocorreu uma queda acentuada no conteúdo de proteína e clorofila na última dosagem realizada (74 dias).

Verificamos também que não houve diferença significativa entre os ramos A e B de uma planta vegetativa ou de uma planta intacta.

As plantas que possuíam um ramo intacto e um ramo vegetativo mostraram que a quantidade de clorofila aos 74 dias de idade para o ramo vegetativo é igual aos ramos A e B de uma planta intacta (tabela 4 e figura 8). Em termos de quantidade de proteína, o ramo intacto confirmou os resultados da dosagem de clorofila, porém, o ramo vegetativo mostrou uma diferença significativa em relação aos ramos A e B de uma planta vegetativa, com um nível final de proteína bem baixo, embora tenha permanecido constante durante os três períodos de dosagem.

De acordo com a análise estatística, o ramo intacto é diferente do ramo vegetativo e plantas vegetativas são diferentes de plantas intactas.

3. Efeito de reguladores de crescimento na senescência

Foram testados alguns reguladores de crescimento que se conhecidamente retardam ou aceleram a senescência.

As plantas foram mantidas vegetativas ou intactas com aplicação isolada ou combinada de reguladores de crescimento.

Tabela 3 - Quantidade de proteína total durante o desenvolvimento de plantas bi-ramificadas. Valores médios de três repetições.

Tratamentos	Proteína das folhas(mg.cm ⁻²)		
	Idade (dias)		
	50	67	74
Plantas intactas			
ramo A	2,37	1,67	1,44
ramo B	1,98	2,08	1,53
Plantas vegetativas			
ramo A	2,54	3,24	3,28
ramo B	2,27	2,70	3,36
Planta intacta e vegetativa			
ramo intacto	2,39	1,80	1,55
ramo vegetativo	1,92	1,77	1,90
DMS 5%			0,39

Tabela 4 - Quantidade de clorofila total durante o desenvolvimento de plantas bi-ramificadas. Valores médios de três repetições.

Tratamentos	Clorofila das folhas (10^{-2}mg.cm^{-2})		
	Idade (dias)		
	50	67	74
Plantas intactas			
ramo A	2,80	2,78	1,43
ramo B	2,82	2,19	1,31
Plantas vegetativas			
ramo A	2,89	3,13	2,77
ramo B	3,10	3,31	2,86
Planta intacta e vegetativa			
ramo intacto	2,89	1,93	1,76
ramo vegetativo	2,75	2,55	2,77
DMS 5%			0,53

FIGURA 7

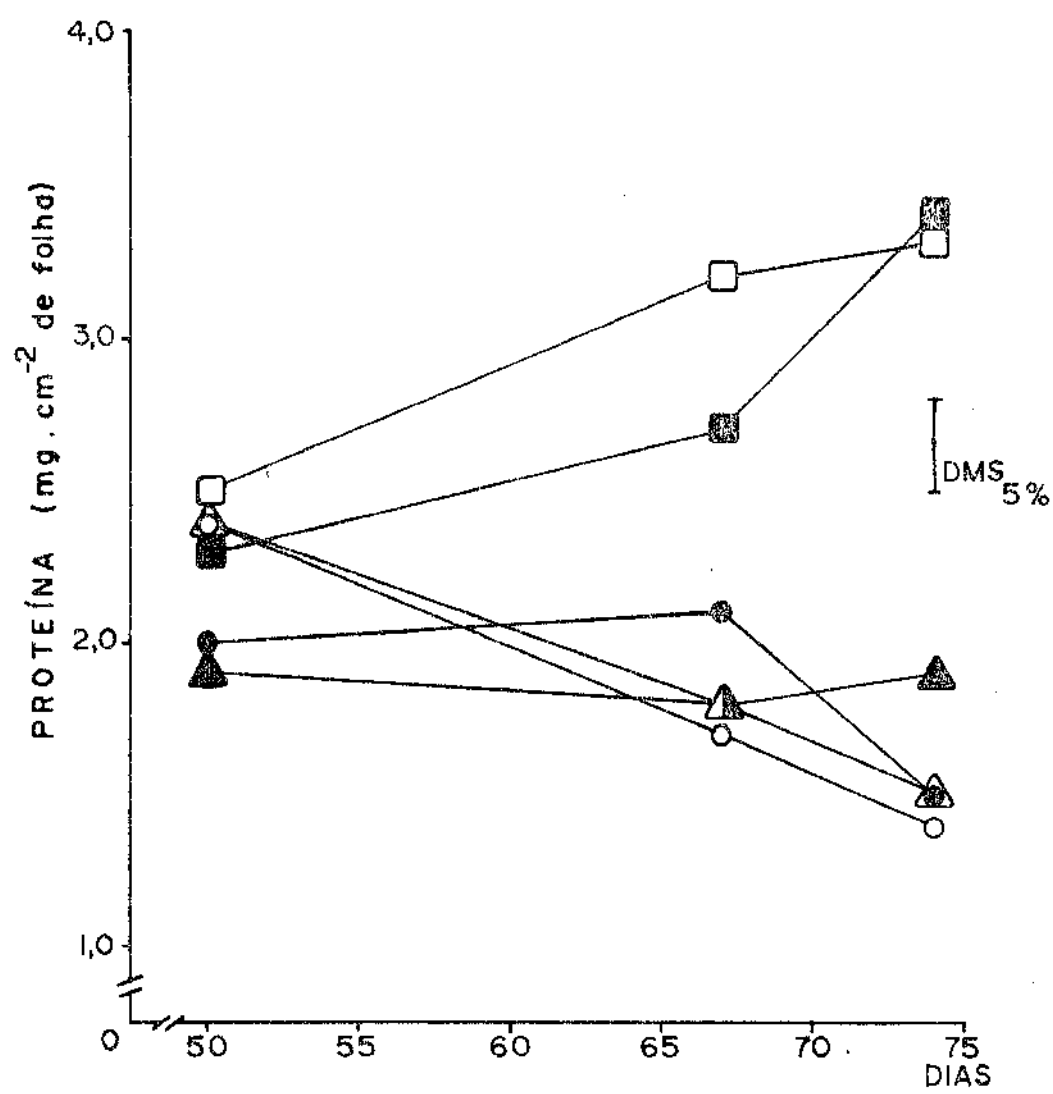
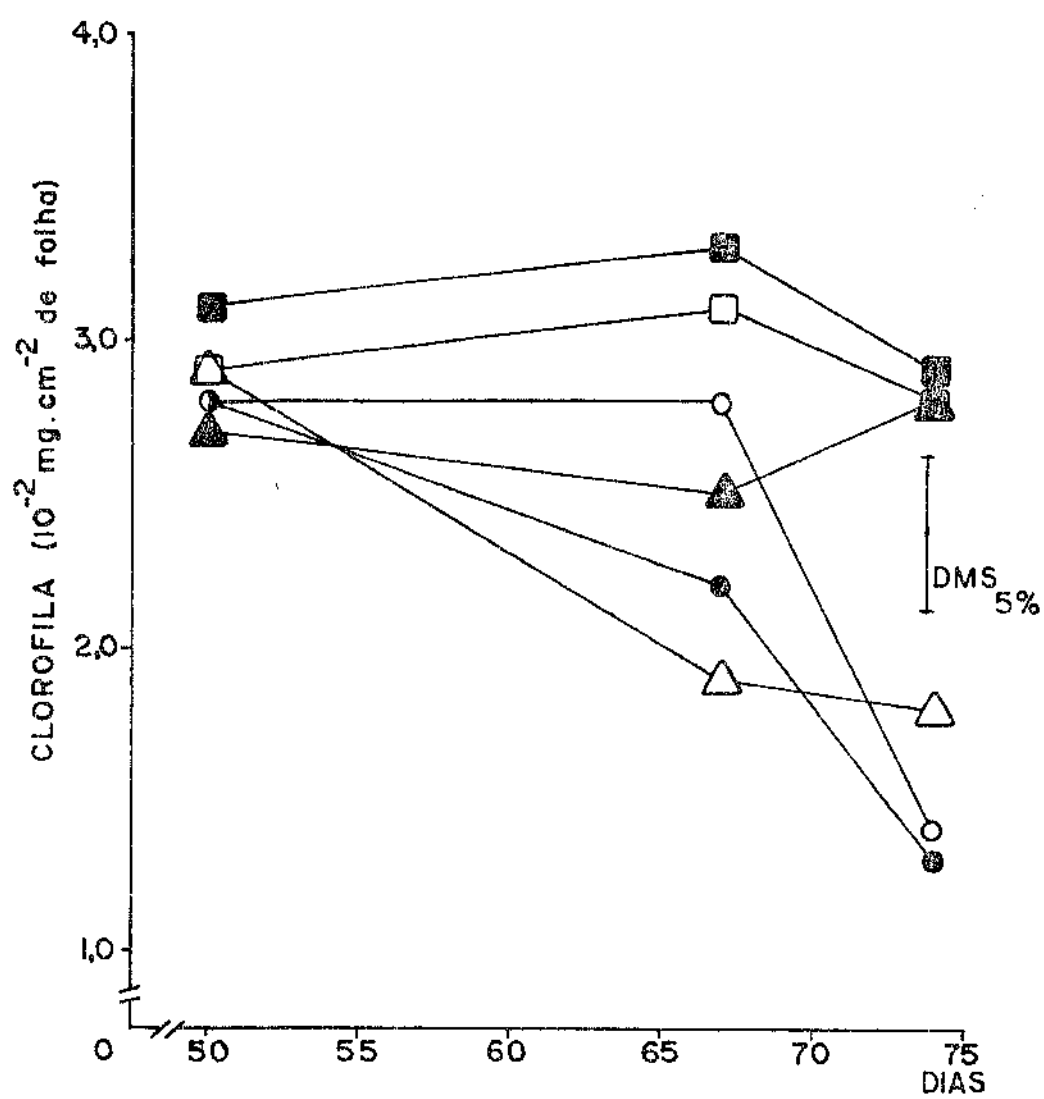


FIGURA 8



3.1. Aplicação isolada de reguladores de crescimento

Durante os tratamentos de aplicação isolada de reguladores de crescimento, foram obtidos os resultados mostrados nas tabelas 5 e 6 e figuras 9, 11, 13 e 15.

A aplicação de 6-BA de acordo com as tabelas 5 e 6 e figuras 9, 11, 13 e 15, promoveu um aumento significativo nos conteúdos de proteína e de clorofila em plantas vegetativas e intactas em relação aos seus respectivos controles. O 6-BA, quando aplicado isoladamente manteve bem alto o nível de clorofila foliar (sendo bem maior que em plantas controle), apesar da queda verificada nas figuras 13 e 15. Em plantas intactas o 6-BA manteve alta a quantidade de proteína em relação ao seu controle, o mesmo acontecendo nas plantas vegetativas, embora não tão acentuadamente.

Da mesma maneira que o 6-BA, o CCC mostrou-se um retardador da senescência quando comparado ao controle, pois manteve altos os níveis de proteína em plantas intactas e vegetativas, não sendo estatisticamente significativo o aumento no nível de clorofila verificado em plantas vegetativas (figura 15).

A aplicação de AIA não teve efeito, mostrando-se este regulador inefetivo quanto à senescência em feijoeiro, não tendo diferença significativa do controle.

O regulador de crescimento GA_3 acelerou a senescência foliar, embora tenha sido praticamente inefetivo no processo de senescência da planta toda. As plantas tratadas com este regulador tomaram um aspecto característico: ao redor de 60 dias de idade as folhas começaram a amarelecer e abscidaram. A partir daí surgiram novas folhas e flores (fo -

lhas estas muito menores que aquelas consideradas normais). Também as flores novas sofreram abscisão antes mesmo de ocorrer a antese. Nos tratamentos com GA_3 , em plantas vegetativas, o valor de proteína mostrado na tabela 5 e 6 foi significativamente diferente de todos os outros tratamentos com aplicação isolada, inclusive o controle; em plantas intactas, o conteúdo de proteína e clorofila difere dos tratamentos com 6-BA e CCC sendo semelhante ao controle (tabelas 5 e 6). Convém também notar que GA_3 e CCC têm diferença significativa entre si em todos os tratamentos com aplicação isolada de reguladores de crescimento.

A aplicação de ABA não teve diferença significativa em relação ao controle (exceto em plantas intactas, ver tabela 6), embora tenha ocorrido uma leve tendência a acelerar a senescência em plantas intactas e retardar em plantas vegetativas.

3.2. Aplicação combinada de reguladores de crescimento

Durante os tratamentos de aplicação combinada de reguladores de crescimento, foram obtidos os resultados mostrados nas tabelas 5 e 6 e figuras 10, 12, 14 e 16.

Como o 6-BA e o CCC mostraram-se retardadores da senescência quando aplicados isoladamente, tentou-se verificar se a aplicação combinada destes reguladores apresentaria um efeito somatório dos efeitos isolados. Pelos resultados podemos observar que o esperado não ocorreu. Em plantas intactas (figura 10 e 14) embora com diferença significativa do controle, o nível de proteína e clorofila não foi maior que nos demais tratamentos combinados e em plantas vegetativas

esse nível foi semelhante ao do controle, tendo diferença significativa dos tratamentos combinados ABA + CCC e ABA + 6-BA + CCC quanto ao nível de proteína (figura 12), ou ainda, como vemos na figura 16, quando foi aplicado 6-BA + CCC a quantidade de clorofila total em plantas vegetativas foi semelhante a do controle, enquanto que em todos os demais tratamentos combinados o aumento da quantidade de clorofila foi significativo.

A aplicação combinada de ABA + CCC resultou num aumento significativo do conteúdo de clorofila de plantas vegetativas com relação ao controle. Nestas mesmas plantas o nível proteico foi mantido, não apresentando diferença do controle (figura 12). Em plantas intactas os níveis de proteína e clorofila não diferiram dos do controle (figuras 10 e 14 respectivamente).

ABA quando combinado ao 6-BA não interferiu no efeito causado pela aplicação de 6-BA, pois, ocorreu um aumento significativo (em relação ao controle) no conteúdo de proteína em plantas intactas (figura 10) e no de clorofila em plantas intactas e vegetativas (figuras 14 e 16). Em plantas vegetativas ocorreu uma manutenção na quantidade de proteína sendo semelhante aos demais tratamentos combinados (figura 12).

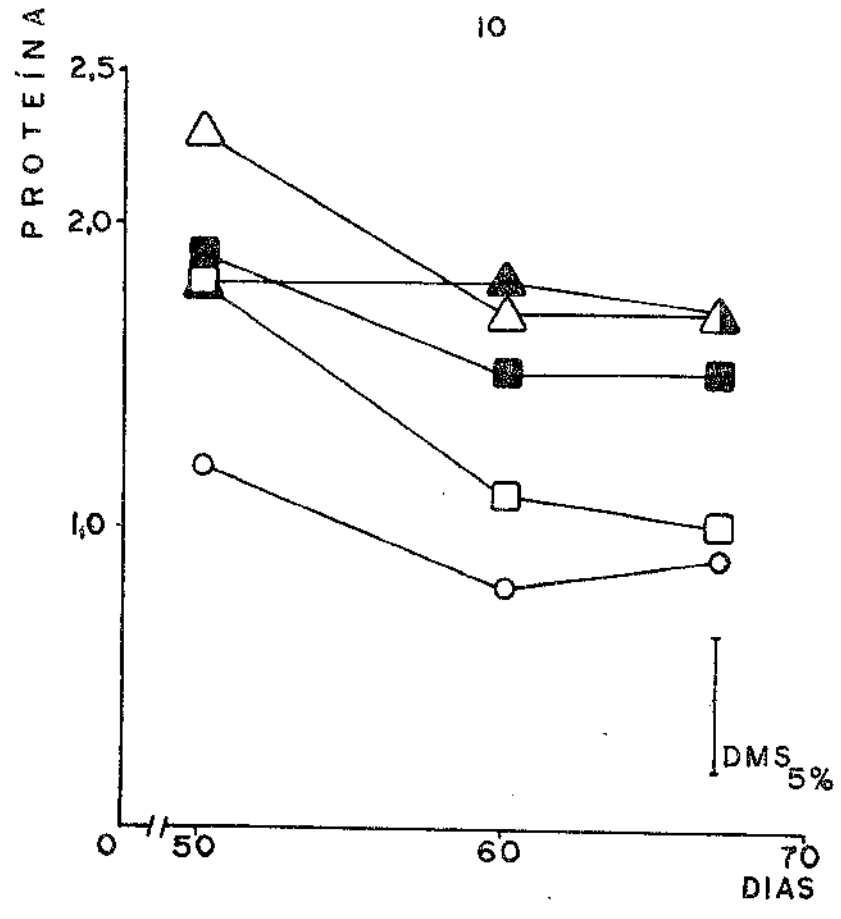
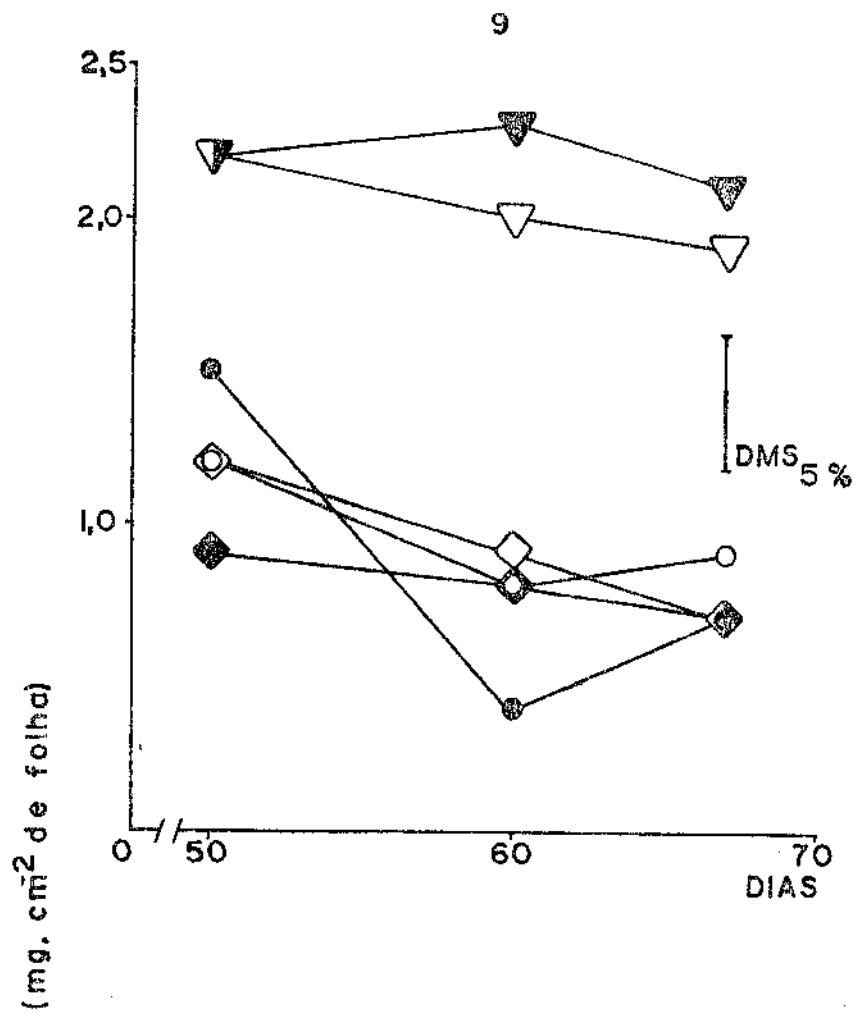
Quando reunimos e aplicamos os três reguladores de crescimento ABA + 6-BA + CCC verificamos que em plantas vegetativas o nível de proteína é mantido alto em relação ao controle. Nas plantas intactas houve diferença significativa entre o controle e o tratamento com ABA + 6-BA + CCC (figura 10), embora no tratamento isolado com 6-BA os resulta-

Tabela 5 - Quantidade de proteína total durante o desenvolvimento da planta, com aplicação de $GA_3(10^{-3}M)$; $6-BA(10^{-3}M)$; $CCC(10^{-2}M)$; $AIA(10^{-4}M)$; $ABA(10^{-4}M)$ ou água (controle). Valores médios de três repetições.

Tratamentos	Proteína das folhas($mg.cm^{-2}$)		
	Idade (dias)		
	50	60	67
Intactas com água (controle)	1,18	0,85	0,87
Vegetativas com água (controle)	1,72	1,57	1,81
Intactas com GA_3	0,86	0,81	0,72
Vegetativas com GA_3	1,11	0,79	0,79
Intactas com $6-BA$	2,17	1,96	1,90
Vegetativas com $6-BA$	2,14	2,39	2,39
Intactas com ABA	1,49	0,45	0,66
Vegetativas com ABA	2,00	1,71	2,25
Intactas com CCC	2,25	2,31	2,13
Vegetativas com CCC	2,42	2,17	2,33
Intactas com AIA	1,21	0,87	0,74
Vegetativas com AIA	1,43	1,32	1,75
Intactas com ABA+ $6-BA$	1,84	1,79	1,67
Vegetativas com ABA+ $6-BA$	2,23	1,90	2,11
Intactas com ABA+CCC	1,78	1,07	0,99
Vegetativas com ABA+CCC	2,44	2,08	2,23
Intactas com $6-BA$ +CCC	1,88	1,53	1,46
Vegetativas com $6-BA$ +CCC	2,15	1,78	1,73
Intactas com ABA+ $6-BA$ +CCC	2,31	1,70	1,81
Vegetativas com ABA+ $6-BA$ +CCC	2,35	2,31	2,48
DMS 5%			0,46

Tabela 6 - Quantidade de clorofila total durante o desenvolvimento da planta, com aplicação de $GA_3(10^{-3}M)$; 6-BA($10^{-3}M$); CCC($10^{-2}M$); AIA($10^{-4}M$); ABA($10^{-4}M$) ou água (controle). Valores médios de três repetições.

Tratamentos	Clorofila das folhas($10^{-2}mg.cm^{-2}$)		
	Idade (dias)		
	50	60	67
Intactas com água (controle)	3,41	1,21	1,24
Vegetativas com água (controle)	3,16	2,77	2,06
Intactas com GA_3	2,18	1,69	1,00
Vegetativas com GA_3	2,32	1,61	1,23
Intactas com 6-BA	4,72	4,03	3,07
Vegetativas com 6-BA	4,41	3,47	3,40
Intactas com ABA	2,56	0,52	0,35
Vegetativas com ABA	2,80	2,29	2,60
Intactas com CCC	3,50	3,45	3,01
Vegetativas com CCC	3,08	3,11	2,60
Intactas com AIA	2,47	1,89	1,22
Vegetativas com AIA	2,98	2,86	2,75
Intactas com ABA+6-BA	3,81	2,92	2,47
Vegetativas com ABA+6-BA	3,41	3,81	3,29
Intactas com ABA+CCC	3,15	1,91	1,61
Vegetativas com ABA+CCC	3,50	4,20	3,96
Intactas com 6-BA+CCC	3,06	2,70	2,51
Vegetativas com 6-BA+CCC	3,46	3,29	2,67
Intactas com ABA+6-BA+CCC	3,47	3,12	2,56
Vegetativas com ABA+6-BA+CCC	3,76	4,27	3,44
DMS 5%			0,97



FIGURAS

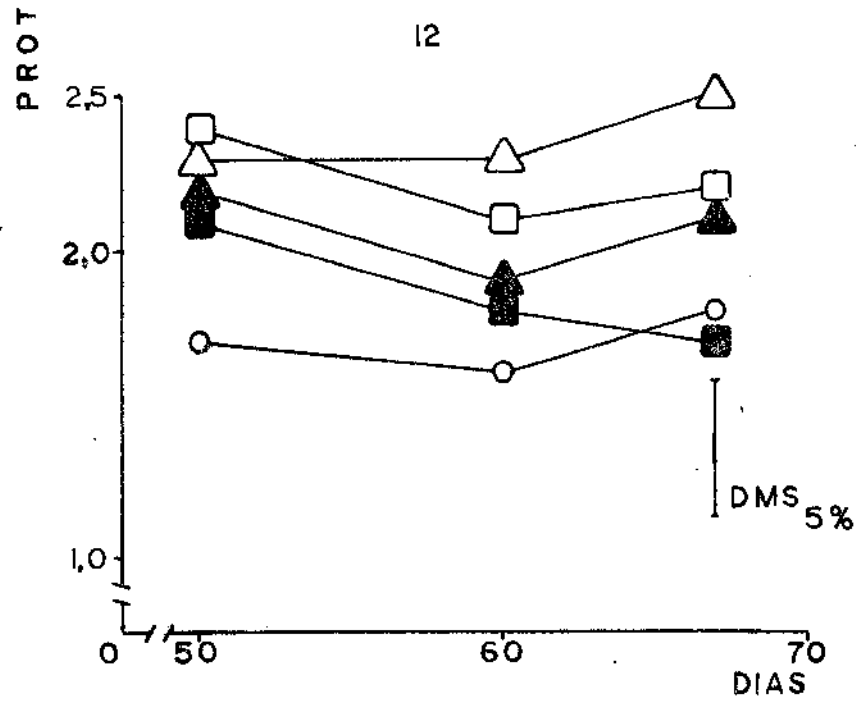
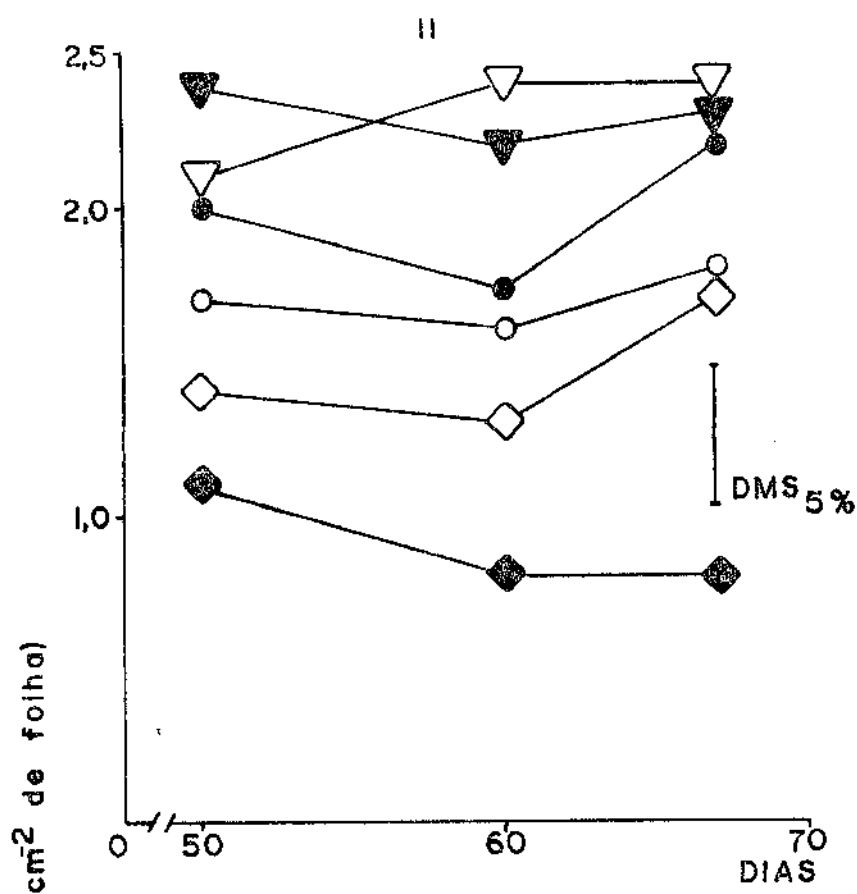


FIGURA 13

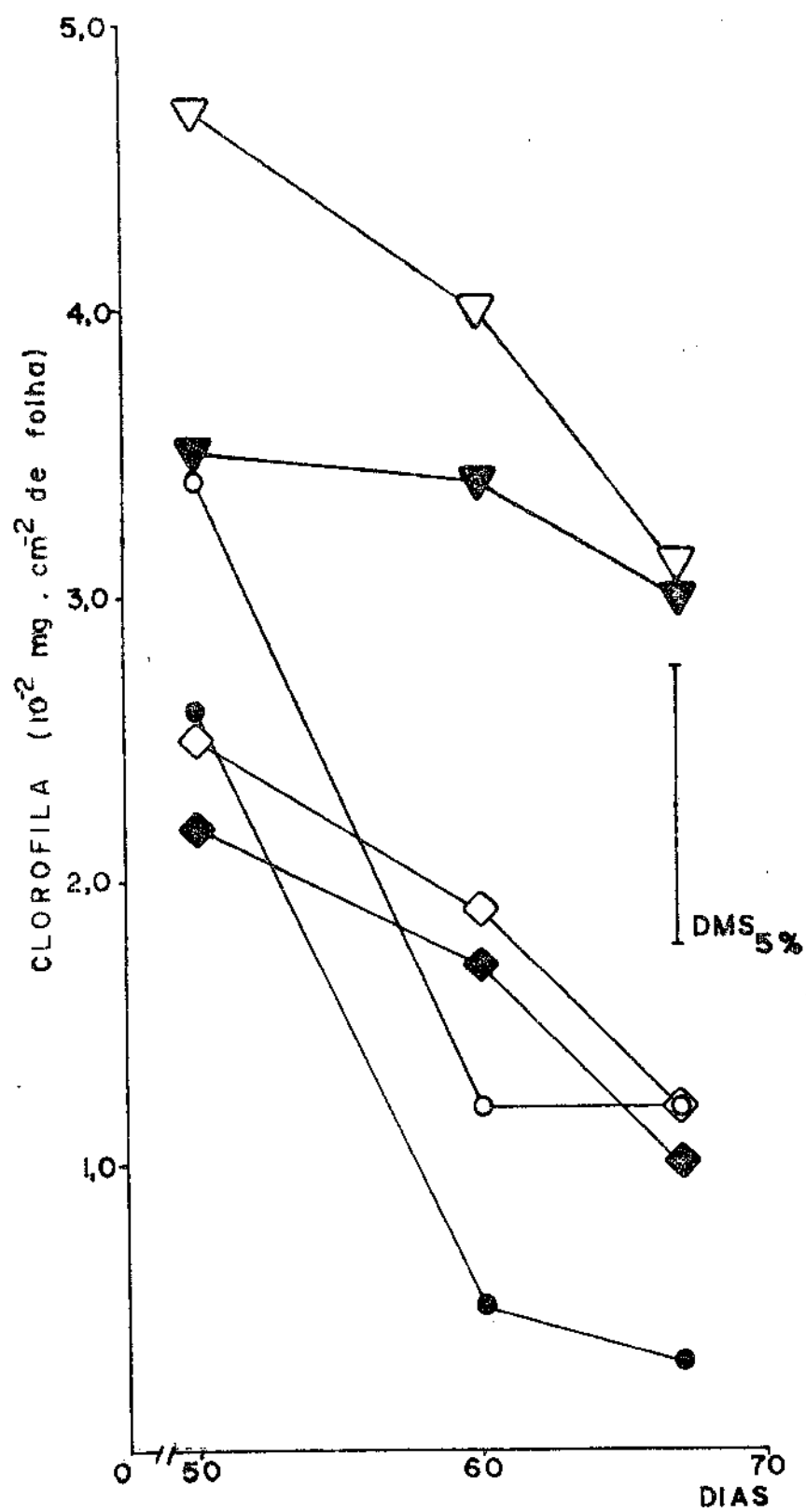


FIGURA 14

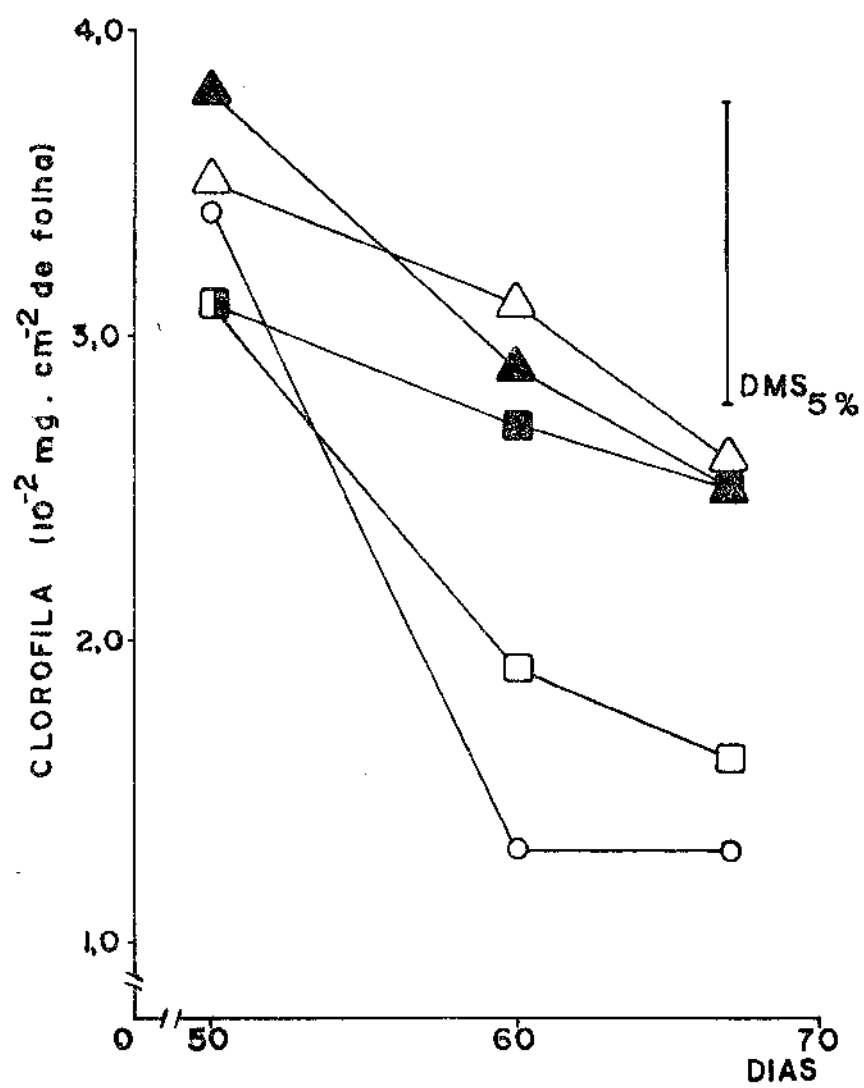


FIGURA 15

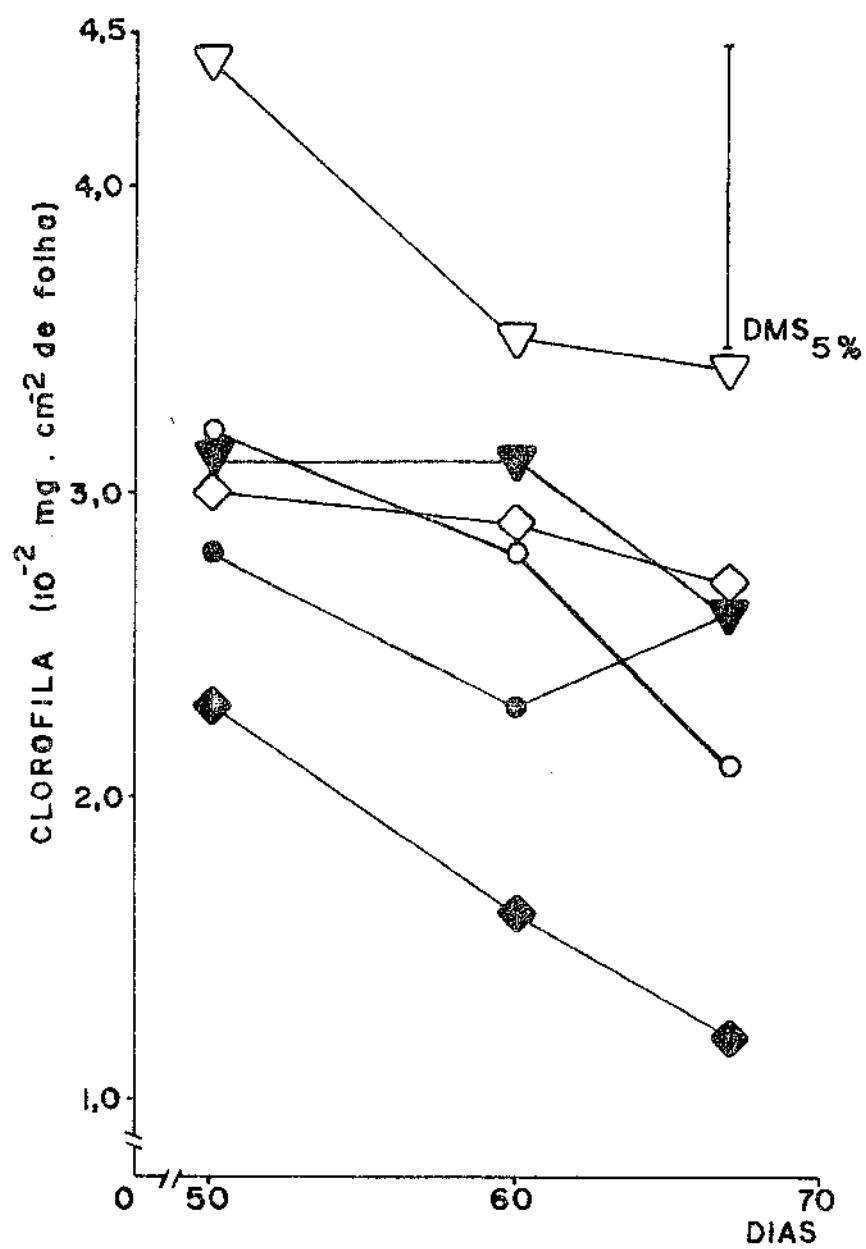
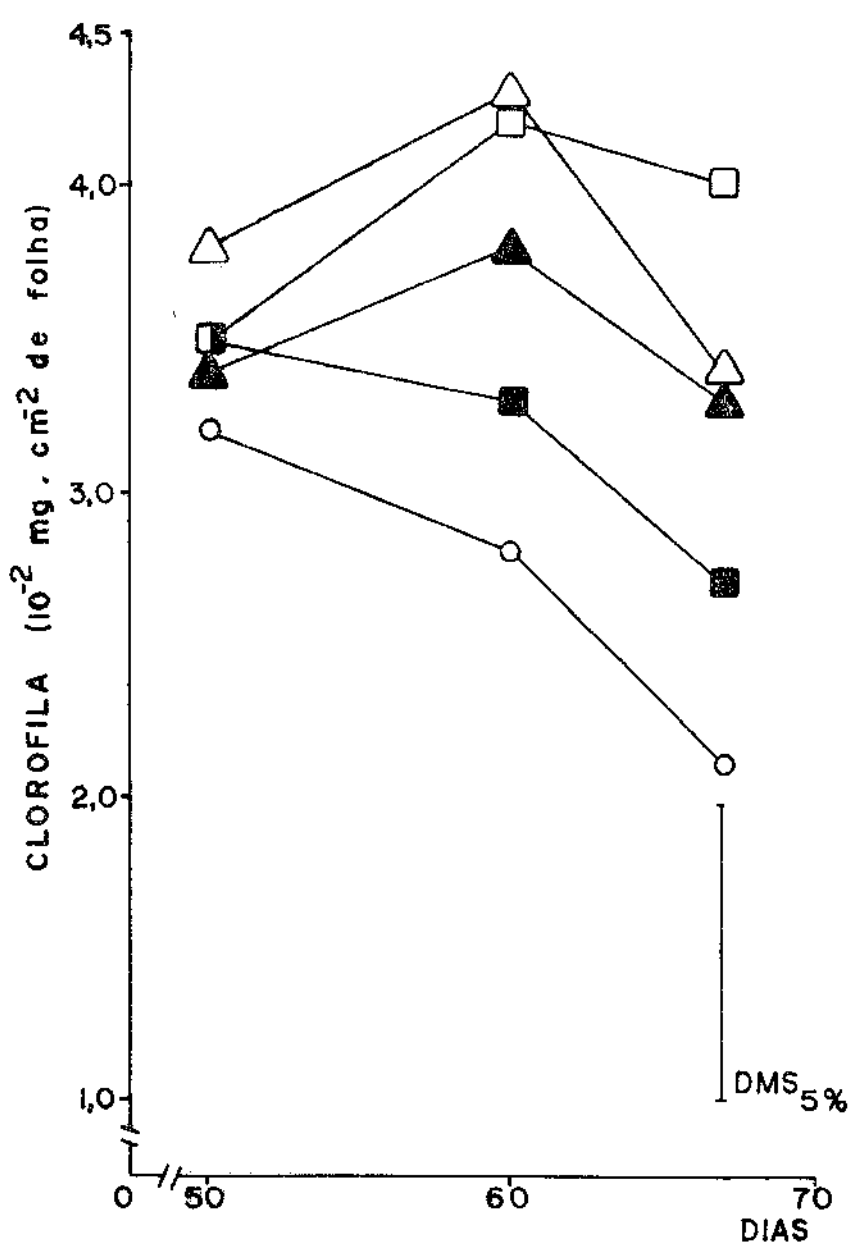


FIGURA 16



dos tenham sido semelhantes. Em termos de quantidade de clorofila, o tratamento combinado dos três reguladores em plantas intactas (figura 14) apresentou resultados semelhantes à aqueles níveis de proteína, também em plantas intactas (figura 10). Em plantas vegetativas também houve diferença entre o controle e a aplicação combinada de ABA + 6-BA + CCC, no entanto, este tratamento teve semelhança com os demais tratamentos combinados.

3.3. Aplicação de 6-BA e CCC em plantas enxertadas

Este teste foi montado para verificar a mobilidade do sinal da senescência com a aplicação dos reguladores de crescimento 6-BA e CCC.

As plantas enxertadas, logo ao aparecimento do primeiro botão floral (por volta do vigésimo dia), foram divididas em lotes por três tratamentos:

- 1 - planta intacta A e B com aplicação de 6-BA, CCC ou água;
- 2 - planta vegetativa A e B com aplicação de 6-BA, CCC ou água;
- 3 - planta intacta e planta vegetativa ambas com aplicação de 6-BA, CCC ou água.

A aplicação dos reguladores foi feita como descrita anteriormente.

O material para extração foi retirado aos 40 e 60 dias de idade para proteína e somente aos 60 dias para clorofila. Os resultados obtidos são apresentados nas tabelas 7 e 8. Verificamos que a quantidade de proteína de plantas com 60 dias (tabela 7) foi bastante aumentada quando da aplicação de 6-BA ou CCC em relação ao controle, em plantas intactas, sendo que em alguns casos essa quantidade foi dobrada. Em se tra

tando de plantas vegetativas não importa o tratamento, o nível de proteína não mostra diferença entre os três tratamentos (6-BA, CCC e controle). Quando comparamos plantas intactas com plantas vegetativas, verificamos que a quantidade de proteína é significativamente maior nas vegetativas (enxertadas entre si), o que também acontece entre plantas A e B vegetativas (enxertadas entre si) em relação às plantas A e B intactas (enxertadas entre si).

Os dados da tabela 7 nos mostram também que não houve diferença significativa entre plantas A e B (intactas ou vegetativas) enquanto que existiu uma diferença marcadamente significativa entre plantas intactas e vegetativas.

A análise estatística não indicou diferença significativa entre os tratamentos sendo portanto a aplicação de 6-BA ou de CCC igual ao controle. Entretanto, os dados mostram que há uma tendência a plantas vegetativas (2,20) diferirem das intactas (0,66) (tabela 8). Neste caso, os dados da dosagem de clorofila confirmam aqueles obtidos pela dosagem de proteína, mostrando que em plantas enxertadas cada planta responde diferentemente à senescência, conforme o tratamento.

Tabela 7 - Quantidade de proteína total durante o desenvolvimento de plantas enxertadas com aplicação de 6-BA ($10^{-3}M$) ou CCC ($10^{-2}M$) ou água (controle). Valores médios de três repetições.

Tratamentos		Proteína das folhas ($mg.cm^{-2}$)					
		Idade (dias)					
		40			60		
		6-BA	CCC	água	6-BA	CCC	água
Plantas intactas	A	0,89	1,44	1,09	0,97	0,85	0,45
	B	0,79	1,01	1,07	0,69	0,56	0,35
Plantas vegetativas	A	1,16	0,41	1,75	1,16	1,16	1,24
	B	1,01	0,83	1,16	1,43	1,55	1,10
Planta intacta		1,12	0,78	0,82	0,44	0,75	0,19
Planta vegetativa		1,07	0,56	1,24	0,97	0,93	1,12
DMS 5%							0,35

Tabela 8 - Quantidade de clorofila total de plantas enxertadas com 60 dias de idade, com aplicação de 6-BA($10^{-3}M$) ou CCC ($10^{-2}M$) ou água (controle). Valores médios de três repetições.

Tratamentos		Clorofila das folhas($10^{-2}mg.cm^{-2}$)		
		6-BA	CCC	água
Plantas intactas	A	1,35	1,61	1,05
	B	1,06	1,65	1,32
Plantas vegetativas	A	2,68	2,84	2,04
	B	2,29	2,68	2,33
Planta intacta		1,05	1,19	0,66
Planta vegetativa		1,65	2,18	2,20

DISCUSSÃO

A remoção de flores e frutos jovens em plantas de *Phaseolus vulgaris* cv. goiano precoce preveniu a senescência (vide tabelas 1 e 2). Estes resultados são concordantes com aqueles obtidos em soja (HICKS E PENDLETON, 1969; LEOPOLD *et al.* 1959; LINDOO E NODDÉN, 1977), em arroz (BISWAS E CHOUDHURI, 1980) e em ervilha (MALIK E BERRIE, 1975). A remoção de flores foi mais efetiva do que a de frutos, aumentando o conteúdo de proteína, embora a senescência fosse prevenida nos dois casos. MALIK E BERRIE (1975) removeram, também, os frutos de soja e verificaram que o início da senescência era retardado e não prevenido completamente. O estímulo da senescência vindo do fruto, translocou-se através da planta promovendo a senescência em folhas, gemas e raízes. Esta conclusão vem da observação quanto ao padrão de senescência em folhas de ervilha, onde as folhas mais próximas aos frutos senescem primeiro (MALIK E BERRIE, 1975). Segundo estes mesmos autores, a senescência foliar é considerada o principal fator e a principal indicação da senescência na planta toda.

Plantas cujos frutos em estágio adulto foram removidos, senesceram ao mesmo tempo que o controle. Tal fato foi também observado em soja por LINDOO E NODDÉN (1977), e estes pesquisadores sugeriram que em alguma fase do crescimento do fruto é iniciada a senescência monocárpica. Embora em muitas espécies anuais, o início da senescência possa ser retardado com a remoção de flores ou frutos, existem plantas

como a ervilha, que senescem mesmo na ausência de flores e frutos em desenvolvimento (REID, 1980; DAVIES *et al.* 1977).

LEOPOLD *et al.* (1959) sugeriram que um estímulo especial da senescência estaria envolvido na determinação da capacidade da planta em continuar a crescer continuamente. Se este estímulo fosse produzido, a planta senesceria e morreria. Pode ser que em plantas perenes o estímulo da senescência, que é bastante efetivo nas anuais, resultasse não em morte, mas no desenvolvimento da dormência (MALIK E BERRIE, 1975).

Pelos resultados pudemos também concluir que o número de frutos é importante na iniciação da senescência, pois, plantas mantidas sem frutos ou com apenas um fruto, se comportam igualmente, retardando a senescência, enquanto que aquelas com cinco frutos ou mais, provocam rápida senescência com um declínio nos níveis de clorofila e proteína. Estes resultados tiveram complementação com aqueles observados nos experimentos de eliminação de sementes, onde plantas com zero a cinco sementes (número médio presente em um fruto) não apresentaram senescência, enquanto que aquelas que permaneceram com dez sementes ou mais senesceram no mesmo período que o controle. A eliminação de sementes também foi feita em ervilha (LOCKHART E GOTTSCHALL, 1961), feijão (WAREING E SETH, 1967) e soja (LINDOO E NOODÉN, 1977) com iguais resultados.

Segundo NOODÉN *et al.* (1977) o acúmulo de nutrientes pelas sementes é independente da influência das sementes na senescência. Da mesma forma, MALIK E BERRIE (1975) sugerem que as sementes produzem um estímulo para senescência ao in

vés de exercerem um efeito através da drenagem de nutrientes ou reguladores de crescimento. De qualquer maneira, parece que a senescência em plantas anuais é iniciada pela presença de sementes em desenvolvimento. Isto não quer dizer que outros fatores não tenham importância (WAREING E SETH, 1967). KRIZEK *et al.* (1966), demonstraram que plantas de *Xanthium* com flores removidas ou não, quando recebem tratamento prévio de dias curtos senescem ao mesmo tempo. Além do fator fotoperiódico, a senescência também é influenciada pelo tratamento com nutrientes em altos níveis, especialmente o nitrogênio (Williams, 1936 *in* LEOPOLD E KRIEDEMANN, 1975), embora SESAY E SHIBLES (1979) contestem a relação entre senescência e baixas concentrações de nitrogênio, fósforo ou potássio em plantas sob condições normais de crescimento.

Em folhas destacadas é bem conhecido que o processo de senescência é caracterizado pela degradação da clorofila, da proteína e do RNA (Shaw, Bhattacharya e Quick, 1965 *in* BISWAS E CHOUDHURI, 1980) com um concomitante aumento nas atividades de certas enzimas hidrolíticas (MARTIN E THIMANN, 1972) e uma diminuição na atividade da catalase (KAR E MISHRA, 1976).

Durante o período de crescimento da semente, o amido, a clorofila, o nitrogênio total e a proteína solúvel nas folhas diminui. A remoção de vagens em soja previne a senescência ainda que o amido, a clorofila e o nitrogênio tenham seus níveis reduzidos a menos de 50% (OKATAN, KAHANAK E NOODÉN, 1977).

NOODÉN *et al.* (1978) sumarizam em quatro categorias ou hipóteses os trabalhos encontrados na literatura relaciona-

dos com a influência do desenvolvimento da semente na senescência: 1- o que pode ser denominado de hipótese do mecanismo endógeno, sugere que as plantas têm um período de vida limitado, terminando durante o estágio de desenvolvimento dos frutos. Então, assume-se a existência deste mecanismo endógeno que determina o início da senescência e que pode ser independente das atividades de desenvolvimento dos frutos; 2- a hipótese do desvio de nutrientes, a qual propõe que o desenvolvimento dos frutos induz a senescência porque desviam das folhas os nutrientes e reguladores de crescimento produzidos na raiz; 3- a hipótese da drenagem de nutrientes baseada na redistribuição de nutrientes das folhas durante o desenvolvimento do fruto de soja (Konno, 1977 *in* SESAY E SHIBLES, 1980) e no fato de que a remoção de flores ou de frutos em desenvolvimento retarda a senescência em muitas plantas monocárpicas (incluindo o feijão, WAREING E SETH, 1967), sugere que o desenvolvimento dos frutos induz a senescência por drenagem de minerais das folhas e de outros órgãos vegetativos; 4- a hipótese hormonal, a qual propõe a produção de um "fator de senescência" (FS) pelos frutos. Este FS translocaria até às folhas onde acionaria a senescência, resultando na morte da planta.

Alguns trabalhos foram realizados com respeito à hipótese do "fator de senescência": em *Catharanthus* (PRAKASH, 1976) e em soja (LINDOO E NOODÉN, 1977).

Pelos resultados dos experimentos de mobilidade do sinal de senescência não podemos concluir que houve passagem de sinal. O nível de proteína em ramos vegetativos é bem menor do que em plantas vegetativas nos ramos A e B (tabela 3).

No entanto, isto não é suficiente para se concluir que exista transmissão de sinal uma vez que esse nível permaneceu constante nos ramos vegetativos ($1,90 \text{ mg.cm}^{-2}$) enquanto que o dos ramos intactos diminuiu ($1,55 \text{ mg.cm}^{-2}$).

A quantidade de clorofila de folhas de plantas vegetativas bi-ramificadas foi igual à dos ramos vegetativos (tabela 4), indicando que estes ramos se desenvolveram independentemente dos ramos intactos, não demonstrando haver passagem do sinal de senescência (vide figura 8). O mesmo fato foi demonstrado em plantas enxertadas, quanto às quantidades de proteína e de clorofila (vide tabelas 7 e 8). Talvez não exista mesmo uma passagem de sinal ou então, os parâmetros usados (degradação de clorofila e proteína) não tenham a sensibilidade suficiente para detectar tal processo, o ideal seria um estudo a nível de membrana de cloroplasto para se chegar a uma conclusão.

Os resultados confirmam, em parte, aqueles observados em soja por LINDOO E NOODÉN (1977), onde o sinal produzido pelos frutos numa região da planta induziu pouca ou nenhuma senescência nas partes restantes e naquela em que ocorreu foi perto dos nós onde estavam localizados os frutos. Segundo estes autores, a mobilidade do sinal da senescência em soja, contrasta com a transmissão do estímulo da floração por toda a planta, que se move rapidamente em qualquer direção no caule, ainda que esse estímulo parta de uma só folha. As numerosas observações relacionam o desenvolvimento da flor e do fruto com uma diminuição do crescimento da raiz, a qual pode ser prevenida com a remoção de flores e frutos. Este fato sugere a possibilidade de que o desenvol-

vimento das estruturas reprodutivas poderia induzir senescência através de um efeito das raízes (Noodén e Leopold , 1977 *in* LINDOO E NOODÉN, 1977). Esta idéia é sustentada pela tão conhecida dependência das partes aéreas de minerais das raízes e provavelmente também de certos compostos orgânicos, tais como citocininas (LINDOO E NOODÉN, 1977). Ainda esses dois autores afirmam que em soja (e estendemos essa afirmação para o feijão) não se aplica a teoria de que frutos em desenvolvimento agem nas raízes provocando uma alteração que ao retornar às partes aéreas causam senescência. Se esta teoria fosse verdadeira, não só o ramo com frutos senesceria, mas também aquele sem frutos e flores. Outra hipótese que envolve raízes na senescência e que não se aplica a soja e feijoeiro, sugere que substâncias da raiz, as quais são necessárias para a manutenção da folha, são dirigidas para os frutos durante o crescimento destes, causando senescência (LINDOO E NOODÉN, 1977). Se isto fosse verdadeiro, ramos ou plantas vegetativas, tanto em plantas bi-rami-ficadas quanto nas enxertadas, senesceriam logo após a senescência dos ramos intactos, o que não aconteceu. Além disso, as folhas possuem cloroplastos funcionais, com capacidade de fotossintetizar e transportar estes fotossintetizados para o caule. Mesmo uma folha não funcional é capaz de contribuir com material para o caule, com resultado de autólise (Hopkinson, 1966 *in* MALIK E BERRIE, 1975). Tanto quanto exportação de materiais que sustentam a atividade metabólica no caule, há a possibilidade de que a folha produza inibidores como o ABA (CHIN E BEEVERS, 1970) ou o "fator de senescência" (OSBORNE, JACKSON E MILBORROW, 1972). Estes pes-

quisadores demonstraram em feijão que o ABA e o "FS" são duas substâncias diferentes.

Avaliando as hipóteses da atuação de sementes na senescência, NOODÉN *et al.* (1978) concluíram que, embora o desvio e a drenagem de nutrientes possam estar envolvidos na senescência monocárpica de soja, parece improvável que o desenvolvimento das sementes exerça tão marcante influência, simplesmente pelo funcionamento de um centro de consumo passivo. Não importa se é um mecanismo ou a combinação dos mecanismos envolvidos, pelo menos um fato é notório: a senescência é acompanhada da diminuição da síntese proteica ou aumento da degradação de proteína ou ambos (BEEVERS, 1976 ; WOOLHOUSE, 1978).

Com o conhecimento de que reguladores de crescimento têm a capacidade de direcionar os movimentos dos nutrientes dentro das plantas e que sementes em desenvolvimento possuem grandes quantidades de reguladores de crescimento, parece possível que a indução da senescência durante o desenvolvimento do fruto envolva um regulador direcionador do transporte de nutrientes das folhas e outras partes da planta para os frutos (WAREING E SETH, 1967). Tal regulador direcionador parece ser específico para cada espécie.

Em feijoeiro a aplicação isolada de 6-BA resultou num aumento significativo dos níveis de proteína e clorofila, embora o efeito no conteúdo de clorofila tenha sido mais pronunciado. O 6-BA retarda a senescência em feijoeiro (vide tabelas 5 e 6). Na maioria das espécies que apresenta senescência, as citocininas são efetivas no retardamento desta, podendo, às vezes, até prevenir a senescência. Também em soja o tratamento com 6-BA, por nebulização das folhas, retar

dou a senescência (LINDOO E NOODÉN, 1978). A aplicação exógena de 6-BA, zeatina e cinetina, retardaram a senescência em plântulas de trigo, mantendo as quantidades de clorofila e proteína (WITTENBACH, 1977). A maioria dos trabalhos sugere que as citocininas retardam a senescência por inibição da degradação da proteína (Kuraishi, 1968 *in* LEOPOLD E KRIEDEMANN, 1975). WITTENBACH (1977) sugere que as citocininas mantêm a capacidade de restabelecer as proteínas pela inibição da degradação destas (MARTIN E THIMANN, 1972) ou pela estabilização dos componentes da síntese proteica (Berridge, Ralph e Letham, 1972 WITTENBACH, 1977) ou aumento desta síntese (OSBORNE, 1962). Tavares e Kende (1970 MARTIN E THIMANN, 1972) concluíram que o aumento do conteúdo de proteína de folhas de milho tratadas com 6-BA foi devido não a um aumento de síntese, mas sim pelo impedimento da degradação pelo 6-BA.

O retardamento da senescência pela aplicação de citocininas em plantas intactas de feijoeiro está associado a um grande número de mudanças bioquímicas e fisiológicas (ADEDIPE, HUNT E FLETCHER, 1971). A intensificação, pela aplicação de 6-BA, das atividades da DNase, RNase e protease com o aumento da quantidade de substratos do material correspondente, sugerem que o 6-BA pode estimular a síntese e a decomposição destes materiais. Em folhas intactas, o 6-BA aumenta a atividade da hidrolase e o nível de aminoácidos, provavelmente devido à capacidade das citocininas em atrair compostos nitrogenados de outras partes da planta e reter os aminoácidos formados nas folhas (Mothes e Engelbrecht, 1961 *in* NAITO *et al.* 1979).

A aplicação isolada de GA_3 acelerou a senescência foli

ar em feijoeiro. Embora a diferença entre plantas vegetativas tratadas com GA_3 e o controle seja altamente significativa, podemos notar pelas figuras 9 e 11 que o nível de proteína em plantas intactas com GA_3 é praticamente o mesmo que nas vegetativas também tratadas. Parece que o GA_3 mantém um certo nível de clorofila ou proteína não importando qual o tipo de planta. Estes resultados não confirmam aqueles encontrados em muitas espécies como *Rumex* (MANDS E GOLDTHWAITE, 1975), *Musa cavendishii* (WHYTE E LUCKWILL, 1966), *Phaseolus* (com aumento da RUBPcase) (TREHARNE *et al.*, 1970) e *Taraxacum megallorhizon* (BACK E RICHMOND, 1971). Em outras espécies não teve efeito (FLETCHER E OSBORNE, 1965; WITTENBACH, 1977). BEEVERS (1966) verificou que em plantas de *Nasturtium* tratadas com GA ocorreu uma diminuição na quantidade de ácidos nucleicos, RNA e DNA, embora tenha sido menor que a normalmente encontrada em plantas senescentes. Estas plantas tiveram a senescência retardada, ainda que por um certo período de tempo. Existem duas hipóteses para explicar o ocorrido: talvez a concentração usada tenha sido alta o suficiente para queimar as folhas provocando a senescência e abscisão, uma vez que menores concentrações foram inefetivas; pode ser ainda que o GA acelere realmente a senescência na cultivar usada neste trabalho, como já foi verificado em soja, onde as diferentes cultivares respondem de diferentes maneiras (SLOGER E CALDWELL, 1970).

O tratamento com CCC aplicado isoladamente (vide figuras 9, 11, 13 e 15) demonstrou que este regulador é efetivo no retardamento da senescência em feijoeiro. Mantém altos os níveis de clorofila e proteína. Aqui ficou patente seu anta

gonismo ao GA, não só em termos de aspecto de planta, mas também quanto à resposta à senescência. Quando combinamos o CCC com o 6-BA não tivemos a intensificação da resposta verificada quando da aplicação isolada destes reguladores, não mostrando diferença significativa do controle em plantas vegetativas, embora com níveis de clorofila e proteína mais altos em plantas intactas.

O tratamento com AIA (vide figuras 9, 11, 13 e 15) não teve efeito na senescência. Estes resultados não confirmam aqueles obtidos por WAREING E SETH (1967) também em feijoeiro que, ao substituírem as sementes por uma mistura de lanolina e AIA, demonstraram que a senescência era retardada nestas plantas. Em outras plantas o AIA não teve efeito (NOODÉN *et al.*, 1979; FLETCHER E OSBORNE, 1965). O modo de aplicação do regulador não explica as diferentes respostas do feijoeiro, pois em soja as sementes também foram substituídas por lanolina e AIA e a senescência não foi retardada.

A aplicação de ABA mostrou uma tendência de retardamento da senescência em plantas vegetativas e de aceleração em plantas intactas. Tais resultados foram encontrados também por LINDOO E NOODÉN (1978) em soja. Segundo estes autores, a diferença da resposta de plantas com frutos e sem frutos não parece ser devido a diferenças de absorção do regulador de crescimento. Possivelmente o ABA não pode induzir a senescência por si só, somente acelera o processo. Foi notado um aumento na atividade de substâncias semelhantes ao ABA em extratos de folhas e caules de plantas que haviam começado a senescer, o que também confirma a idéia de que o ABA participa da senescência; mas sozinho é inefetivo para

iniciar o fenômeno (LINDOO E NUDDÉN, 1978).

QUEBEDEAUX *et al.* (1976) verificou que as sementes contêm um alto nível de ABA no período anterior à senescência. O ABA das folhas poderia vir das sementes, embora elas mesmas seriam capazes de o sintetizar (MILBORROW, 1974).

A combinação de ABA com 6-BA (vide figuras 10, 12, 14 e 16) teve efeito no retardamento da senescência, assim como ocorreu quando foram combinados 6-BA e CCC, mesmo em plantas intactas, mostrando que a ação do 6-BA não foi mascarada pelo ABA. Quando o ABA foi combinado ao CCC esse efeito causado pelo ABA em plantas intactas não foi revertido pelo CCC.

Está sendo aceito por alguns pesquisadores a hipótese de que o balanço citocinina-ABA controla a senescência da planta toda (Addicott e Lyon, 1969 *in* BISWAS E CHOUDHURI, 1980). O retardamento da senescência em arroz pelo tratamento de cinetina pode ser explicado pelo fato de que citocininas podem reverter o efeito promotor da senescência do ABA (EVEN-CHEN E ITAI, 1975; EL-ANTABLY, WAREING E HILLMAN, 1977). Existem numerosos trabalhos sugerindo que o ABA seja o responsável pelo controle da senescência (QUEBEDEAUX *et al.*, 1976) e em outros é indicado o etileno (MAYAK E HALEVY, 1972).

AHARDNI E LIEBERMAN (1979) sugerem que o nível de etileno endógeno é suficiente para induzir a senescência se outros fatores o permitirem, tais como: níveis endógenos de AIA (DELA FUENTE E LEOPOLD, 1968), GA (CHIN E BEEVERS, 1970; FUCHS E LIEBERMAN, 1968) e citocininas (Mayak, Halevy e Kätz, 1972 *in* AHARDNI E LIEBERMAN, 1979), os quais são antagonistas da ação do etileno.

É evidente que existe o envolvimento de reguladores de

crescimento no fenômeno da senescência. Certamente alterações bioquímicas como a degradação de clorofila, proteína ou ácidos nucleicos, queda da atividade enzimática ou ainda alterações estruturais como a deterioração de membranas e organelas, são somente consequências e não causas do processo. Vários pesquisadores implicam os reguladores de crescimento na senescência. Muitas vezes estes reguladores atuam diferentemente em diversas espécies de plantas. Pode ser que o mecanismo responsável pelo início da senescência seja um balanço entre reguladores. Este balanço deve ser específico para cada espécie, dependendo da sensibilidade da planta. A sensibilidade é dada em última análise, pela sua carga genética. É provável que mesmo plantas da mesma espécie, porém de variedades ou cultivares diferentes, apresentem respostas diferentes a um mesmo estímulo. Como as respostas dependem da ação de enzimas específicas e a síntese destas enzimas é dada pela instrução do DNA, certamente uma pequena variação genética é suficiente para que haja uma diferença quanto à resposta fisiológica.

RESUMO

Plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. goiano precoce, plantadas em vasos, foram submetidas a vários tratamentos de remoção de órgãos reprodutores e de aplicação de reguladores de crescimento. Também foram feitos testes com plantas bi-ramificadas e com plantas enxertadas. A detecção da senescência foi feita pela dosagem colorimétrica de clorofila e proteína de discos foliares.

Foi verificado que a remoção de flores retardava a senescência, aumentando significativamente os conteúdos de proteína e clorofila, quando comparado com plantas mantidas intactas. Também a remoção de flores foi mais efetiva na prevenção da senescência do que a remoção de frutos.

A idade do fruto também interfere na senescência. Plantas mantidas somente com frutos jovens senescem mais tardiamente do que as mantidas com frutos adultos.

A quantidade de frutos mantida por planta também afeta a senescência, acelerando-a quando foram mantidos cinco ou dez frutos por planta. Fato semelhante ocorre quando da remoção de sementes, havendo um retardamento da senescência à medida que diminui o número de sementes por planta.

O sinal da senescência parece não passar de um ramo a outro nas plantas bi-ramificadas, onde um ramo permaneceu intacto enquanto o outro permaneceu vegetativo. Também nas plantas enxertadas, tal fato não ficou evidente.

A aplicação isolada de reguladores de crescimento, por nebulização, mostrou que enquanto o CCC e o 6-BA agem como

retardadores da senescência, o GA_3 acelera o processo de senescência foliar e o AIA é inefetivo. O ABA tende a retardar o processo de senescência em plantas vegetativas, acelerando-o em plantas intactas. Já a aplicação combinada de ABA, CCC e 6-BA ou ABA e CCC ou CCC e 6-BA, retarda a senescência da mesma maneira que a aplicação isolada de 6-BA e CCC.

BIBLIOGRAFIA

- ADEDIPE, N.O., L.A. HUNT, R.A. FLETCHER, 1971. Effects of benzyladenine on photosynthesis, growth and senescence of the bean plant. *Physiol. Plant.* 25: 151-153.
- AHARONI, N., M. LIEBERMAN, 1979. Patterns of ethylene production in senescing leaves. *Plant Physiol.* 64: 796-800.
- AHARONI, N., J.D. ANDERSON, M. LIEBERMAN, 1979. Production and action of ethylene in senescence leaf discs. *Plant Physiol.* 64: 805-809.
- ARNON, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts.. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24(1): 1-15.
- BACK, A., A.E. RICHMOND, 1971. Interrelations between gibberellin acid, cytokinins and abscisic acid in retarding leaf senescence. *Physiol. Plant.* 24: 76-79.
- BEEVERS, L., 1966. Effect of gibberellic acid on the senescence of leaf discs of *Nasturtium (Tropaeolum majus)*. *Plant Physiol.* 41: 1074-1078.
- BISWAS, A.K., M.A. CHODHURI, 1980. Mechanism of monocarpic senescence in rice. *Plant Physiol.* 65: 340-345.
- BRADFORD, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - Dye-Binding. *An. Bioch.* 72: 248-254.
- BRIAN, P.W., J.H.P. PETTY, P.T. RICHMOND, 1959. Effects of gibberellic acid on development of autumn colour and leaf-fall of deciduous woody plants. *Nature.* 183: 58-59.

- CHIN, T.Y., L.BEEVERS, 1970. Changes in endogenous growth regulators in *Nasturtium* leaves during senescence. *Planta* (Berl.) 92: 178-188.
- COLQUHOUN, A.J., J.R.HILLMAN, 1975. Endogenous abscisic acid and the senescence of leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *Z. Pflanzenphysiol.* 76: 326-332.
- DAVIES, P.J., W.M.PROEBSTING, T.J.GIANFAGNA, 1977. Hormonal relationships in whole plant senescence. *In* Plant Growth Regulation, ed. P.E.Pilet, pp 273-280. Springer Verlag, Berlin.
- DELA FUENTE, R.K., A.C.LEOPOLD, 1968. Senescence processes in leaf abscission. *Plant Physiol.* 43: 1496-1502.
- EL-ANTABLY, H.M.M., P.F.WAREING, J.HILLMAN, 1977. Some physiological responses to d,l-abscisin (dormin.). *Planta.* 73: 74-90.
- ELIZALDE, M.M.B. de, E.SLABNIK, A.HALL, 1978. Senescência foliar en plantas desflorecidas de *Capsicum annuum* L. 7ª reunion y 2º Simp. Lat. Americ. de Fisiol. Veg.
- EVEN-CHEN, Z., C.ITAI, 1975. The role of abscisic acid in senescence of detached tobacco leaves. *Physiol. Plant.* 34: 97-100.
- FLETCHER, R.A., 1969. Retardation of leaf senescence by benzyladenine in intact beans plants. *Planta.* 89: 1-8.
- FLETCHER, R.A., D.J.OSBORNE, 1965. Regulation of protein and nucleic acid synthesis by gibberellin during leaf senescence. *Nature.* 207: 1176-1177.
- FLETCHER, R.A., D.J.OSBORNE, 1966. A simple bioassay for gibberellic acid. *Nature.* 211: 743-744.
- FUCHS, Y., M.LIEBERMAN, 1968. Effects of kinetin, IAA and gibberellin on ethylene production, and their interactions in growth seedlings. *Plant Physiol.* 43:2029-2036.

- HICKS, D.R., J.W. PENDLETON, 1969. Effect of floral bud removal on performance of soybeans. Crop. Sci. 9: 435-437.
- HORTON, R.F., 1977. Leaf senescence in *Maianthemum canadense*: the effect of cytokinins and gibberellin. Can. J. Bot. 55: 2272-2274.
- KAR, M., D. MISHRA, 1976. Catalase, peroxidase, polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiol. 57: 315-319.
- KENIS, J.D., V.S. TRIPPI, 1980. Regulacion de la abscision en *Phaseolus vulgaris*. IV. Participacion del fitocromo y su interaccion con la edad de los tejidos. Phytom. 39: 153-159.
- KRIZEK, D.T., W.I. MCILRATH, B.S. VERGARA, 1966. Photoperiodic induction of senescence in *Xanthium* plants. Science. 151: 95-96.
- LEOPOLD, A.C., 1975. Aging, senescence and turn-over in plants. BioScience. 25: 659-662.
- LEOPOLD, A.C., M. KAWASE, 1964. Benzyladenine effects on bean leaf growth and senescence. Amer. J. Bot. 51: 294-298.
- LEOPOLD, A.C., P.E. KRIEDEMANN, 1975. Plant, Growth and Development. Mc Graw-Hill Co. Nova Iorque.
- LEOPOLD, A.C., E. NIEDERGANG-KAMIEN, J. JANICK, 1959. Experimental of plant senescence. Plant Physiol. 34: 570-573.
- LINDOO, S.J., L.D. NOODÉN, 1976. The interrelation of fruit development and leaf senescence in "anoka" soybeans. Bot. Gaz. 137 (3): 218-233.
- LINDOO, S.J., L.D. NOODÉN, 1977. Studies on the behavior of the senescence signal in anoka soybeans. Plant Physiol. 59: 1136-1140.

- LINDOO, S.J., L.D. NODDÉN, 1978. Correlation of cytokinins and abscisic acid with monocarpic senescence in soybeans.. Plant and Cell Physiol. 19 (6): 997-1006.
- LOCKHART, J.A., V. GOTTSCHALL, 1961. Fruit induced and apical senescence in *Pisum sativum* L. Plant Physiol. 36:389-398.
- MALIK, N.S.A., A.M.M. BERRIE, 1975. Correlative effects of fruits and leaves in senescence of pea plants. Planta. 124: 169-175.
- MALIK, N.S.A., K.V. THIMANN, 1980. Metabolism of oat leaves during senescence. Plant Physiol. 65: 885-888.
- MANOS, P.J., J. GOLDTHWAITE, 1975. A kinetic analysis of the effects of gibberellic acid, zeatin and abscisic acid on leaf tissue senescence in *Rumex*. Plant Physiol. 55: 192-198.
- MARTIN, C., K.V. THIMANN, 1972. The role of protein synthesis in the senescence of leaves. Plant Physiol. 49: 64-71.
- MAYAK, S., A.H. HALEVY, 1972. Interrelationships of ethylene and abscisic acid in the control of rose petal senescence. Plant Physiol. 50: 341-346.
- MILBORROW, B.V., 1974. The chemistry and physiology of abscisic acid. Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 259-307.
- NAITO, K., A. HADA, H. SUZUKI, H. TSUJI, 1979. The effect of benzyladenine on changes in nuclease and protease activities in intact bean leaves during ageing. Physiol. Plant. 46: 50-53.
- NODDÉN, L.D., D.C. RUPP, B.D. DERMAN, 1978. Separation of seed development from monocarpic senescence in soybeans. Nature. 271: 354-356.
- NODDÉN, L.D., D.C. RUPP, B.D. DERMAN, G.M. KAHANAK, 1977. Nutrient drain and diversion in relation to foliar senescence. Plant Physiol. 59: 5-112.

- OKATAN, Y., G.M. KAHANAK, L.D. NOODÉN, 1977. Interrelation of seed development and foliar senescence in "anoka" soybeans. *Plant Physiol.* 59: 5-112.
- OSBORNE, D.J., 1962. Effect of kinetin on protein and nucleic acid metabolism in *Xanthium* leaves during senescence. *Plant Physiol.* 37: 595-602.
- OSBORNE, D.J., 1967. Hormonal regulation of leaf senescence /in Woolhouse, H.W. (ed.). *Aspects of the Biology of Ageing. Symposia of the Society for Experimental Biology.* 21: 179-213.
- OSBORNE, D.J., M.B. JACKSON, B.V. MILEBORROW, 1972. Physiological properties of abscission accelerator from senescent leaves. *Nature (New Biol.)* 240: 98-101.
- PATRA, H.K., M. KAR, D. MISHRA, 1978. Catalase activity in leaves and cotyledons during plant development and senescence. *Bioch. Physiol. Pflanzen.* 172: 385-390.
- PATTERSON, T.G., D.N. MOSS, 1979. Senescence in field-grown wheat. *Crop Science.* 19 (5): 635-640.
- PRAKASH, G., 1976. A senescence factor and foliar abscission in *Catharanthus roseus*. *Ann. Bot.* 40: 537-541.
- QUEBEDEAUX, B., P.B. SWEETSER, J.C. ROWELL, 1976. Abscissic acid levels in soybean reproductive structures during development. *Plant Physiol.* 58: 363-366.
- REID, J.B., 1980. Apical senescence in *Pisum*: a direct or indirect role for the flowering genes? *Ann. Bot.* 45: 195-201.
- RICHMOND, A., A. LANG, 1957. Effect of kinetin on protein content and survival of detached *Xanthium* leaves. *Science.* 125: 650-651.

- SESAY, A., R. SHIBLES, 1980. Mineral depletion and leaf senescence in soya bean as influenced by foliar nutrient application during seed filling. *Ann. Bot.* 45: 47-55.
- SLOGER, C., B. E. CALDWELL, 1970. Response of cultivars of soy bean to synthetic abscisic acid. *Plant Physiol.* 45: 634-635.
- TAMAS, I. A., D. H. WALLACE, P. M. LUDFORD, J. L. OZBUN, 1979. Effect of older fruits on abortion and abscisic acid concentration of younger fruits in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiol.* 64: 620-622.
- THIMANN, K. V., 1978. Senescence. *Bot. Mag. Tokyo Special Issue.* 1: 19-43.
- TREHARNE, K. J., J. L. STODDART, Y. PUGHE, K. PARANJOTHY, P. F. WAREING, 1970. Effects of gibberellin and cytokinins on the activity of Photosynthetic enzymes and plastid ribosomal RNA synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. *Nature.* 228: 129-131.
- TUCKER, D. J., 1981. Phytochrome regulation of leaf senescence in cucumber and tomato. *Plant Sci. Let.* 20: 103-108.
- WALKER, A. J., L. C. HO, 1977. Effects of fruit temperature on carbon metabolism and the rate translocation. *Ann. Bot.* 41 (174): 825-832.
- WAREING, P. F., A. K. SETH, 1967. Hormone-directed transport of metabolites and its possible role in plant senescence. *J. Exp. Bot.* 54 (18): 65-77.
- WHYTE, P., L. C. LUCKWILL, 1966. A sensitive bioassay for gibberellins based on retardation of leaf senescence in *Rumex obtusifolius*. *Nature.* 210: 1360.

WITTENBACH, U.A., 1977. Induced senescence of intact wheat seedlings and its reverseability. *Plant Physiol.* 59: 1039-1042.

WOOLHOUSE, J.W., 1978. Senescence process in the life cycle of flowering plants. *BioScience*. 28: 25-30.