

CLAUDIA REGINA BAPTISTA HADDAD

CRESCIMENTO CORRELATIVO EM PLANTAS DE *PHASEOLUS VULGARIS* L.

Este exemplar corresponde a Relação final
na Tese defendida pela Sra. Cláudia
R. B. Haddad e aprovada pela
Comissão Julgadora.

22/5/84

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

Orientador: Prof. Dr. Ivany Ferraz Marques Válio

Campinas

1984

À minha mãe e à memória do meu pai
Aos tios José e Salma (meus segundos pais)
Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Ivany Ferraz Marques Válio, pela compreensão, amizade e ânimo nos momentos difíceis.

À amiga Rosane Nisenbaunn e Sebastião de Amorim, do Laboratório de Estatística da UNICAMP, pela orientação da parte estatística deste trabalho.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e à CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior), pelas bolsas concedidas.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia da UNICAMP, sem os quais a realização deste trabalho teria sido mais difícil.

Aos amigos, pelo carinho e apoio.

À minha família por todo amor.

ÍNDICE GERAL

	Página
I . INTRODUÇÃO E DADOS RELEVANTES DA LITERATURA.....	01
II . MATERIAL E MÉTODOS.....	08
1. Material.....	08
2. Métodos.....	08
2.1. Condições de germinação.....	08
2.2. Condições de crescimento.....	08
2.3. Idade das plantas.....	09
2.4. Medidas dos comprimentos do caule (epicôti- lo e entrenós) e das folhas primárias.....	09
2.5. Remoção das folhas.....	10
2.6. Tratamentos com reguladores de crescimento.	10
2.6.1. Tratamentos com GA ₃ , AIA e 6BA.....	10
2.6.2. Tratamentos com CCC.....	10
2.7. Tratamentos com DCMU.....	11
2.8. Remoção de raízes.....	11
2.9. Remoção de folhas e raízes.....	11
2.10. Determinação do peso seco das raízes.....	12
2.11. Extração de giberelinas endógenas.....	12
2.11.1. Extração com solventes orgânicos...	12
2.11.2. Coleta de exudato.....	14
2.12. Purificação de substâncias com atividade gi- berelínica.....	15
2.13. Detecção de substâncias com atividade gibe- relínica.....	17
2.14. Análise e representação dos resultados.....	17
III . RESULTADOS.....	20
1. Curvas de crescimento do caule (epicótilo e entrenós) e das folhas primárias.....	20

	Página
2. Influências das folhas no alongamento do caule	20
2.1. Remoção das folhas primárias com diversos tamanhos.....	20
2.2. Remoção parcial ou total das folhas pri- márias.....	24
2.3. Remoção de diversas folhas.....	24
3. Influência de reguladores de crescimento no a- longamento do caule.....	28
3.1. Efeito de GA ₃ , AIA e 6BA.....	28
3.2. Efeito de CCC.....	35
4. Influência de DCMU no alongamento do caule....	38
5. Influência das raízes no alongamento do caule.	38
6. Influência das folhas e raízes no alongamento do caule.....	42
7. Influência das folhas primárias no crescimento das raízes.....	42
8. Detecção de substâncias com atividades gibere- línica.....	47
8.1. Extrato.....	47
8.2. Exudato.....	47
IV. DISCUSSÃO.....	55
1. Influência das folhas no alongamento do caule e a natureza desta influência.....	55
2. Influência das raízes no alongamento do caule	63
3. Influência das folhas primárias no crescimento das raízes.....	64
V. RESUMO.....	66
VI. BIBLIOGRAFIA.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Esquema mostrando a posição de corte das plantas para coleta de exudato e extrato	13
Figura 2 - Pipeta de Pasteur, contendo um filete de algodão na ponta, usada para aplicar extrato, ou exudato, sobre as placas de cromatografia.....	16
Figura 3 - Curvas de crescimento (A) das folhas primárias e (B) do caule(epicótilo e entrenós).....	21
Figura 4 - Diagrama de pontos representando a influência da remoção das folhas primárias com diversos tamanhos, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.....	22
Figura 5 - Diagrama de pontos representando a influência da remoção, parcial ou total, das folhas primárias, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.....	25
Figura 6 - Diagrama de pontos representando a influência da remoção de diversas folhas, no alongamento do caule(epicótilo e entrenós) de feijoeiro.....	27
Figura 7 - Padrão de alongamento do caule, quando diversas folhas foram removidas.....	29

Figura 8 - Diagrama de pontos representando a influência de reguladores de crescimento (GA_3 , AIA e 6BA), no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.	31
Figura 9 - Diagrama de pontos representando a influência de misturas de reguladores de crescimento, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.....	33
Figura 10 - Padrão de alongamento do caule, quando as plantas receberam reguladores de crescimento.....	34
Figura 11 - Padrão de alongamento do caule, quando as plantas receberam misturas de reguladores de crescimento.....	36
Figura 12 - Diagrama de pontos representando a influência de CCC no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro....	37
Figura 13 - Padrão de alongamento do caule, quando as plantas receberam CCC.....	39
Figura 14 - Diagrama de pontos representando a influência de DCMU no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.	40
Figura 15 - Diagrama de pontos representando a influência da remoção de 50% das raízes, em épocas diferentes, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.....	43

- Figura 16 - Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes nas folhas primárias (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento destas folhas (B)..... 48
- Figura 17 - Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes na 1ª. folha trifoliolada (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha (B)..... 49
- Figura 18 - Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes na 2ª. folha trifoliolada (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha (B)..... 50
- Figura 19 - Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes na 3ª. folha trifoliolada (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha (B)..... 51
- Figura 20 - Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes na 4ª. fo-

lha trifoliolada (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha (B).....	52
Figura 21 - Maiores valores obtidos (promoção) nos extratos de diversas folhas e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento destas folhas (A). Menores valores obtidos (inibição) nos extratos de diversas folhas e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento destas folhas.....	53

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Influência simultânea das folhas primárias e raízes no alongamento do caule (epicótilo) de feijoeiro.....	45
Tabela 2 - Influência das folhas primárias no peso seco das raízes.....	46

I. INTRODUÇÃO E DADOS RELEVANTES DA LITERATURA

Dõstal (1967) definiu o crescimento correlativo como sendo o resultado das interações entre as várias partes da planta. Estas interações aumentam conforme a planta se desenvolve e novos órgãos são formados. Assim, os fatores interagindo governam o desenvolvimento de novos órgãos e estes, por sua vez, formam novos fatores, que irão influenciar outras partes da planta. Na planta de ervilha, por exemplo, a raiz penetrando no solo, os pecíolos alongando e a plúmula crescendo, interagem entre si e com os cotilédones, que contêm grande quantidade de reservas nutritivas e numerosos agentes ativos. No primeiro período da germinação, Dõstal verificou que os cotilédones inibiam o crescimento de outros órgãos e que esta inibição era exercida através da auxina endógena.

Um órgão influe no desenvolvimento de outro através de substâncias reguladoras do crescimento, fornecendo ou competindo por nutrientes, ou as duas coisas. Dale e Felipe (1972a) e Felipe e Dale (1973) cobriram a 1ª. folha de plantas de cevada e verificaram que, em plantas com 8 dias de idade, o crescimento era dependente dos fotossintatos produzidos por esta folha. Turgeon e Webb (1973), usando ^{14}C , verificaram que as folhas de *Cucurbita pepo* pararam de importar ^{14}C , aproximadamente dois dias após sua emergência do ápice caulinar e, após este período, passavam a exportá-lo através do floema. Usando plantas de cevada, Felipe e Dale (1972) verificaram que folhas jovens

(6 dias) retinham a maioria do carbono assimilado, enquanto que as folhas completamente expandidas chegaram a exportar 60% de ^{14}C para as raízes, bases das folhas (incluindo o ápice caulinar) e para a 2ª. folha, que estava se desenvolvendo.

Verificando a influência das folhas, no crescimento do caule de feijão, Kigel (1980) observou que as folhas jovens inibiam o crescimento dos entrenós localizados abaixo delas e estimulavam o crescimento dos entrenós acima delas. Sugeriu que os entrenós localizados abaixo da folha estudada, competiam com esta por assimilados, enquanto que os entrenós localizados acima, recebiam promotores de crescimento, fornecidos por estas folhas jovens. Válio e Schwabe (1978) verificaram que as folhas primárias inibiam o alongamento do caule de feijoeiro e sugeriram que a auxina, produzida por estas folhas, era a substância responsável pela inibição. Ao contrário de Válio e Schwabe, Shein e Jackson (1971 e 1972) observaram que a remoção de folhas jovens de *Phaseolus vulgaris* inibia o crescimento do caule e sugeriram que isto ocorria devido a uma alteração no balanço hormonal da planta, já que com o corte das folhas jovens (fontes de auxina) o crescimento do caule e a dominância apical eram modificados. Jones e Phillips (1966) também verificaram que a excisão de folhas pecíoladas (jovens e maduras) de plantas de girassol, causou uma redução significativa no alongamento do 4º entrenó.

Folhas jovens produzem grande quantidade de auxina. White *et al.* (1975) isolaram e identificaram o ácido

indolil-3-acético (AIA), de folhas jovens de feijoeiro , que inibiam o crescimento das gemas laterais. Kuraishi e Muir (1962) concluíram que o crescimento do caule de plantas de girassol, dependia da quantidade de auxina fornecida pela folha, enquanto que Mac Dougall e Hillman (1980) verificaram que os níveis do ácido indolil-3-acético não variaram significativamente com a maturidade das plantas de feijão e que estes níveis eram menores nas folhas que no ápice propriamente dito.

Quanto ao papel das folhas na síntese de giberelina, foi verificado, através de difusão para blocos de ágar, que as folhas do ápice caulinar de plantas de girassol, são fontes de giberelina e foi sugerido que os entrenós são o alvo desta giberelina (Jones e Phillips, 1964 e 1966 e Phillips 1971a). Em plantas de morango, foram encontradas mais giberelinas nas folhas jovens que nas folhas maduras (Goodwin e Gordon, 1972) e Mc Comb (1964) sugeriu que a giberelina das folhas maduras de plantas de ervilha, foi redistribuída para as folhas imaturas. Foram encontradas em extratos de folhas primárias de feijoeiro (Wheeler, 1960) e no floema de *Taraxacum officinale*, *Vicia faba* e *Salix vitiminalis* (Hoad e Bowen, 1968).

Em relação às citoninas presentes nas folhas, Henson e Wheeler (1976) detectaram níveis altos desta substância de crescimento nas folhas de *Vicia faba* e Maass e Klämbt (1981) encontraram -nas nas folhas de feijoeiro.

A importância das raízes no controle do desenvolvimento do caule é bem conhecida, já que elas fornecem água e substâncias de crescimento (Carmi e Heuer, 1981).

Há evidências de que as raízes contêm a maioria das substâncias de crescimento conhecidas. Talvez sirvam como sítios de suas sínteses e, freqüentemente, exportam estas substâncias através da seiva do xilema e, provavelmente, do floema, para outras partes da planta (Torrey, 1976).

Existem várias constatações da presença de citocininas nas raízes. Foram extraídas, purificadas e identificadas, além de terem sido detectadas no exudato do xilema, de plantas decapitadas (Torrey, 1976). Henson e Wheler (1976) encontraram níveis altos de citocininas nos nódulos das raízes de *Vicia faba*, enquanto que as quantidades detectadas nos caules e nas raízes propriamente ditas, eram muito menores. Maass e Klämbt (1981) forneceram ¹⁴C-adenina para as raízes de feijoeiro e posteriormente encontraram citocinina marcada. Palmer *et al.* (1981) sugeriram que as citocininas fornecidas pelas raízes, podem ser modificadas nos caules de plantas de feijão.

A remoção das raízes de plantas de ervilha, provocou um decréscimo nas citocininas das partes aéreas da planta. Quando as partes aéreas foram removidas, houve acúmulo de citocininas nas raízes. Concluiu-se que as raizes eram órgãos sintetizadores de citocininas, cuja remoção provocou queda no nível deste regulador de crescimento, no resto da planta (Sogur e Gamburg, 1979). Ao invés de remover as raízes, Engelbrecht (1972) fez com que pecíolos de folhas primárias de feijão enraizassem e verificou que, com o aparecimento das raízes, houve aumento no nível de citocininas, encontradas no limbo das folhas. Concluiu que as citocininas, produzidas pelas raízes, eram

estocadas no limbo das folhas porque não havia um caule crescendo, aonde esta substância de crescimento pudesse ser metabolizada.

Plantas de alfafa e soja foram decapitadas e houve aumento da matéria orgânica nas folhas e aumento no nível da citocinina endógena. Foi concluído que, na ausência de outros tecidos crescendo (gema apical), as folhas remanescentes continuaram a crescer porque acumularam a citocinina, vinda das raízes (Pozsar, 1980). Van Staden e Carmi (1982), também decapitaram plantas de feijão e observaram que as folhas aumentaram em área e houve aceleração do crescimento do caule remanescente. Concluíram que a citocinina, produzida pelas raízes, era a substância responsável por estes eventos.

Plantas de tomate foram submetidas a alagamento e o crescimento do caule foi reduzido. O caule recuperou seu tamanho normal após receber citocinina exógena (Railton e Reid, 1973).

Restrição ao crescimento das raízes de plantas de feijão, mantidas em vasos pequenos, levou ao desenvolvimento de plantas anãs. Aplicações de 6-benzil adenina (6BA) não afetaram o crescimento do caule, mas aumentaram o crescimento das folhas primárias. Aplicações de ácido giberélico (GA3) levaram à recuperação total do crescimento do caule. A mistura GA3 + 6BA restaurou completamente o crescimento do caule e das folhas primárias e, parcialmente, o crescimento das folhas trifolioladas. Foi concluído que as raízes restringiam o crescimento do caule através de um sistema hormonal, no qual pelo menos giberelinas e ci

tocininas estavam envolvidas (Carmi e Heuer, 1981).

Vários pesquisadores encontraram giberelina na seiva do xilema de plantas com caules parcialmente excisados (Carr *et al.*, 1964; Phillips e Jones, 1964; Reid e Carr, 1967; Skene, 1967; Jones e Lacey, 1968 e Reid *et al.*, 1969). Crozier e Reid (1971) verificaram que as raízes de *Phaseolus coccineus* eram sítios de transformação da giberelina, fornecida pelo ápice da planta. Esta giberelina transformada era responsável pelo crescimento do caule.

Usando a técnica de difusão em ágar, Jones e Phillips (1966) concluíram que não sã as folhas e gemas apicais, como também as raízes de plantas de girassol, eram sítios de síntese de giberelina e que havia uma correlação positiva entre a taxa de crescimento dos entrenós e a quantidade de giberelina difusível, obtida destes entrenós.

Russel (1975) indicou as raízes como um dos sítios de síntese de giberelina. Outra indicação foi fornecida por Butcher (1963), que verificou que giberelinas foram produzidas durante quatro anos, em raízes de tomate, crescendo em meio de cultura.

Condições adversas ao crescimento das raízes, provocaram inibição do crescimento do caule, em plantas de tomate, além de provocarem uma redução na translocação de giberelinas das raízes para o caule (Reid e Crozier, 1971). Contudo, Mc Comb e Mc Comb (1970) fizeram enxertos recíprocos entre plantas anãs e plantas normais de ervilha e concluíram que nem as raízes, nem as folhas maduras, contribuíam com giberelinas para o crescimento do caule.

Através dos fenômenos correlativos, o crescimento e desenvolvimento das plantas são determinados, desde a sua germinação até a senescência. Desta forma, pelo estudo da correlação pode-se compreender como e porque um determinado processo ocorre. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência das folhas e raízes no crescimento do caule de feijoeiro e a natureza desta influência.

II. MATERIAL E MÉTODOS

1. Material

Foram utilizadas plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Goiano Precoce, obtidas de sementes fornecidas pelo Instituto Agronômico de Campinas.

2. Métodos

2.1. Condições de germinação

As sementes foram colocadas entre duas toalhas de papel de filtro umedecidas com água destilada. As toalhas foram revestidas por um plástico transparente e enroladas. Esses rolos foram colocados em bequer com água destilada e mantidos em câmaras de germinação, sob luz branca fluorescente (média de $155,3 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2}$, obtida com Stead State Porometer), a 25°C , durante três dias.

2.2. Condições de crescimento

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação, sob iluminação natural e à temperatura ambiente. As plantas cresceram em vasos plásticos, com 18,5 cm de diâmetro e capacidade para 3,0 l., contendo terra e esterco curtido de gado, na proporção 4:1.

Cada planta recebeu 100 ml de solução nutriti-

va, nº 1 de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1938), uma vez por semana e nos outros dias todas foram regadas com água de torneira, exceto as que foram mantidas constantemente em solução nutritiva (cultura hidropônica).

A fim de poder manipular melhor as raízes, quando o seu peso seco foi obtido, as plantas cresceram em vermiculita, sendo que a nutrição foi proporcionada como descrito acima.

As gemas axilares de todas as plantas foram retiradas, já que foi sugerido que existe um crescimento compensatório entre o entrenó em alongamento e as gemas axilares liberadas da inibição correlativa, em *Phaseolus vulgaris* (Phillips, 1971b).

2.3. Idade das Plantas

Geralmente as plantas foram submetidas aos tratamentos (remoção de órgãos, ou aplicação de reguladores de crescimento, ou DCMU-3,4 diclorofenil dimetil ureia) logo que suas folhas se desdobraram. Nesta época, o limbo das folhas tinha cerca de 2 cm de comprimento.

2.4. Medida dos comprimentos do caule (epicótilo e entrenós) e das folhas primárias.

O comprimento do limbo das folhas primárias (obtido ao longo da nervura principal) foi registrado a cada dois dias, desde o desdobramento das folhas até a estabilização do crescimento.

O comprimento do epicótilo e entrenós foi registrado a cada sete dias, desde o desdobramento das folhas primárias até quando as plantas floresceram.

2.5. Remoção das folhas

As folhas foram submetidas a tratamento cirúrgicos (remoção parcial ou total das folhas). A remoção parcial foi feita através de cortes perpendiculares à nervura principal e no sentido do ápice para a base do limbo.

2.6. Tratamentos com reguladores de crescimento

2.6.1. As plantas receberam GA_3 (ácido giberélico), AIA (ácido indolil-3-acético) e 6BA (6 benzil adenina), na concentração de $10^{-3}M$, dissolvidos em solução de Tween 20 (na concentração de 0,5%-V/V), nas folhas primárias, de três em três dias, desde o desdobramento destas folhas.

Os reguladores de crescimento foram espalhados sobre o dorso das folhas primárias, sendo que cada folha recebeu 0,2 ml das soluções de reguladores de crescimento.

2.6.2. CCC (cloreto de 2-cloroetil-trimetil-amônia) foi fornecido às plantas, na concentração de $10^{-2}M$, de três em três dias.

O CCC foi misturado à pasta de lanolina, que foi colocada em seringa hipodérmica, sem agulha.

O limbo das folhas primárias foi cortado e a região distal dos pecíolos recebeu 0,1cc de lanolina + CCC.

2.7. Tratamento com DCMU

As plantas receberam DCMU (3,4 diclorofenil dimetil ureia). O DCMU foi espalhado, com pincel, por todo o dorso das folhas, de sete em sete dias, na concentração de 10^{-5} M.

2.8. Remoção das raízes

As plantas cresceram em vermiculita e, quando suas folhas primárias se desdobraram, foram transferidas para hidropônica (em vasos plásticos, com capacidade de 3,0 l, contendo solução nutritiva, que foi renovada a cada semana. Cada vaso possuía uma planta e a aeração foi fornecida por um compressor).

Nos tratamentos foram cortados cerca de 50% das raízes de cada planta. Os cortes foram feitos de forma que fossem retiradas todas as raízes secundárias de um dos lados da raiz principal. A raiz principal foi mantida intacta.

2.9. Remoção de folhas e raízes.

As plantas foram mantidas em vasos com terra até quando suas folhas primárias se desdobraram. Seus caules foram cortados 5 cm abaixo da inserção dos cotilédones e as estacas obtidas foram transferidas para vidros, com capacidade de 50 ml, contendo solução nutritiva.

Os vidros foram mantidos sob luz fluorescente (6 lâmpadas de 40W cada uma) e à temperatura ambiente (cerca

de 25°C).

As estacas foram submetidas a tratamentos cirúrgicos nas folhas primárias e raízes adventícias, de forma que as folhas primárias foram removidas logo que as plantas foram transferidas para os vidros e as raízes adventícias - foram removidas quando despontavam na superfície do caule.

Os resultados (comprimento do epicótilo, em cm) foram obtidos após sete dias.

2.10. Determinação do peso seco das raízes

O peso seco foi obtido após secagem das raízes, por 24 horas, em estufa a 80°C.

2.11. Extração de giberelinas endógenas

Foram usadas 100 plantas por tratamento. Os tratamentos foram extração e coleta de exudato, em plantas com folhas primárias, 1ª., 2ª., 3ª. e 4ª. folhas trifolioladas recém desdobradas. As plantas foram cortadas logo abaixo destas folhas, como mostra a figura 1.

2.11.1. Extração com solventes orgânicos

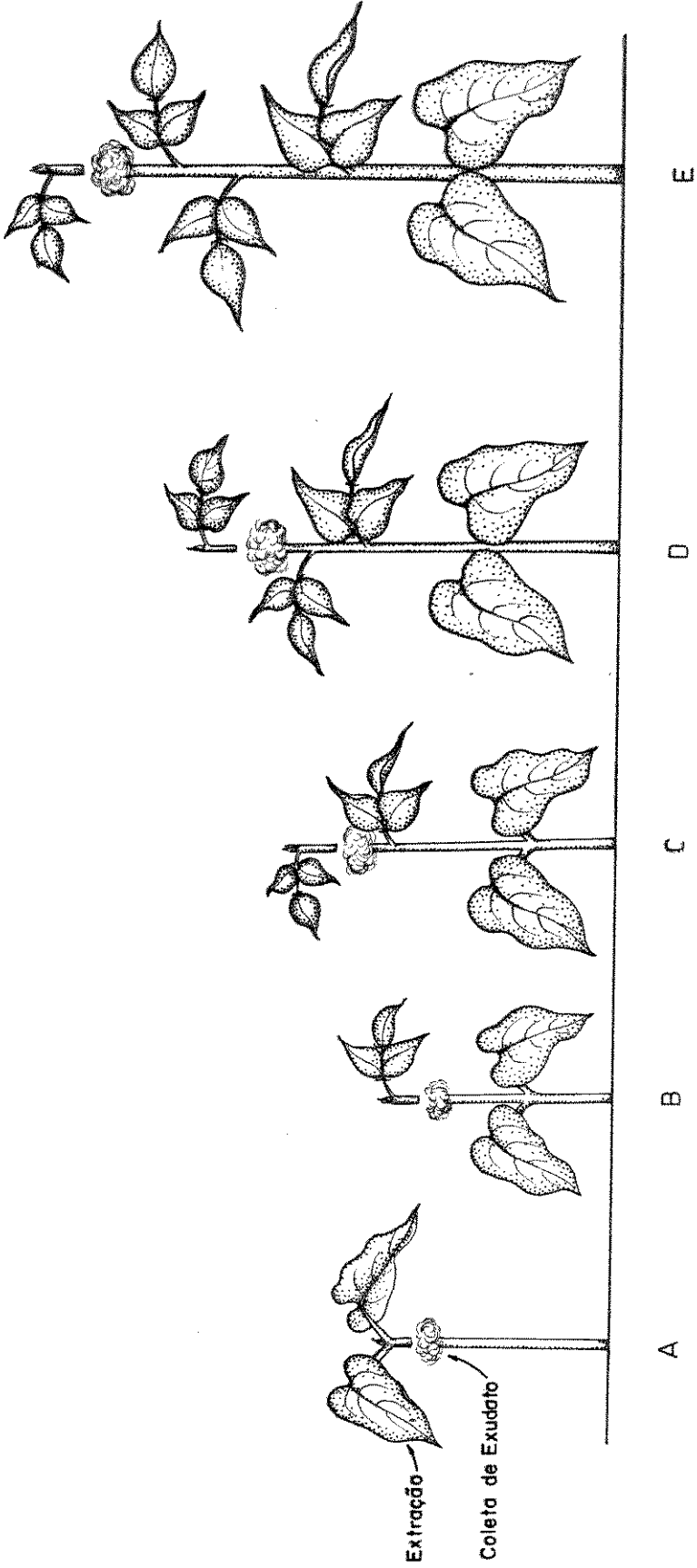
Foi feita a extração das partes apicais das plantas (folhas recém desdobradas + ápice), conforme a figura 1.

O tecido foi macerado com metanol 80%, em homogeneizador Politron. Foi filtrado a vácuo duas vezes. O resíduo foi mantido a 100°C, por 24 horas, em estufa, para obtenção do peso seco e o extrato metanólico foi reduzido à

Figura 1

Esquema mostrando a posição de corte das plantas para coleta de exudato e extração.

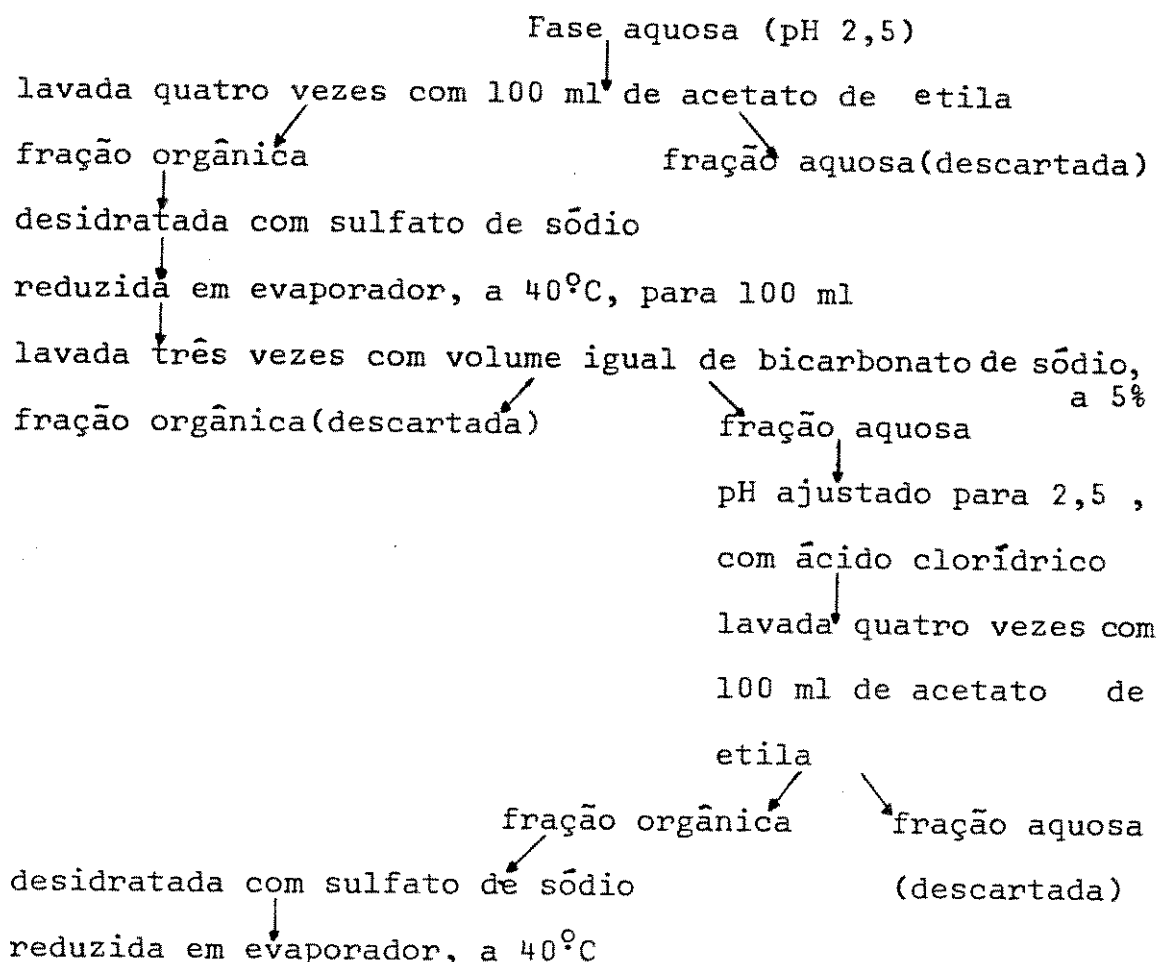
- A - na época do desdobramento das folhas primárias
- B - da 1ª. folha trifoliolada
- C - da 2ª. folha trifoliolada
- D - da 3ª. folha trifoliolada
- E - da 4ª. folha trifoliolada.



fase aquosa, em evaporador rotatório, a 40°C.

A fase aquosa, após receber sub acetato de chumbo básico (para precipitar clorofilas), foi filtrada a vácuo e seu pH foi ajustado para 2,5, com ácido clorídrico.

As etapas do processo de fracionamento, a partir da fase aquosa, estão esquematizadas a seguir:



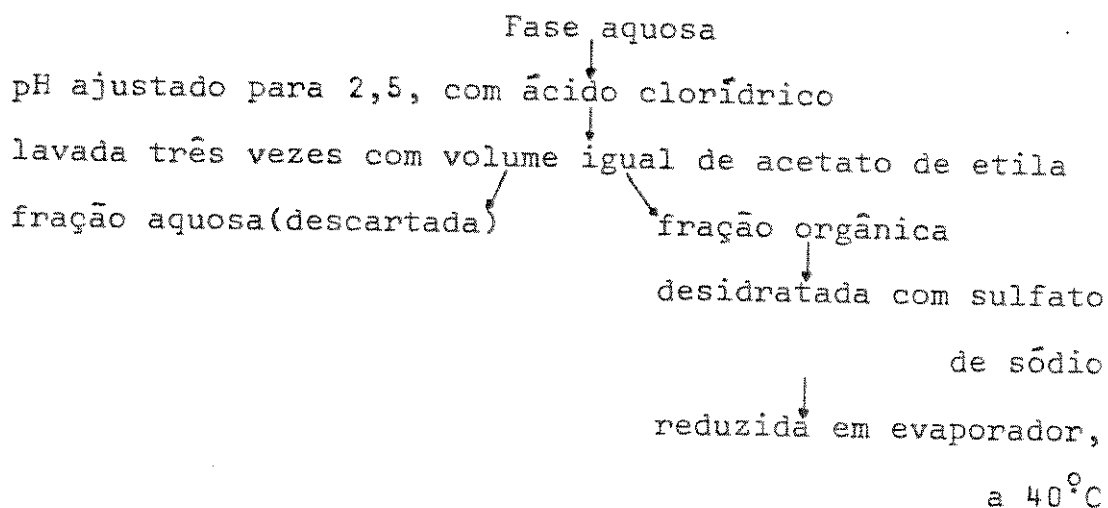
2.11.2. Coleta de exudato

As porções basais da planta receberam chumaços de algodão sobre a região do corte (fig. 1). As plantas permaneceram sob luz fluorescente branca durante 24 horas (8 lâmpadas de 40W cada).

Os algodões contendo exudato foram colocados em metanol 80%. Permaneceram em geladeira por 24 horas e, em seguida, foram filtrados a vácuo. O extrato metanólico foi

reduzido à fase aquosa, a 40°C.

Esta fase aquosa foi fracionada conforme o esquema a seguir:



2.12. Purificação de substâncias com atividade giberelínica.

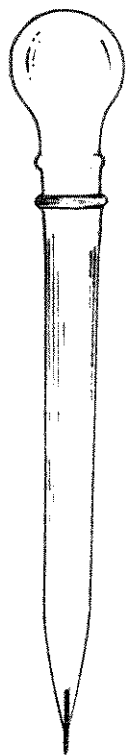
Foi usada cromatografia de camada delgada, em placas de vidro de 20 x 20 cm. As placas receberam uma camada de sílica gel G(Merck, tipo 60), de 0,5 mm de espessura. Após ativação (100°C/10 minutos), foram lavadas em cuba de vidro com o próprio solvente a ser usado: acetato de etila, clorofórmio e ácido acético (15:5:1).

As frações orgânicas obtidas pelos processos de extração e exudação foram aplicadas 2,5 cm acima da base das placas. As aplicações foram feitas com pipetas de Pasteur, contendo um algodão na ponta (fig 2), que foram usadas como um pincel. As aplicações foram feitas na forma de traços contínuos.

As placas foram colocadas novamente na cuba de vidro e retiradas quando o solvente completou o percurso

Figura 2

Pipeta de Pasteur, contendo um filete de algodão na ponta, usada para aplicar o extrato, ou exudato, sobre as placas de cromatografia.



de 15,5 cm.

As placas controle foram percorridas só pelo solvente.

2.13. Detecção de substâncias com atividade giberelínica

Os cromatogramas foram divididos transversalmente em 10 faixas, compreendidas entre os Rfs 0,0 e 1,0 e longitudinalmente em três seções (repetições). Foram raspadas e colocadas ao acaso, em cubetas de plástico transparente.

O controle foi montado de forma semelhante, sendo que foram utilizadas seis repetições, de placas percorridas só pelo solvente.

Foi usado o bioensaio do hipocótilo de alface, segundo Frankland e Wareing (1960) e foram colocadas quatro plântulas de alface, var. Grand Rapids, por cubeta, 72 horas após o início da embebição das sementes.

Os comprimentos dos hipocótilos foram registrados e as medidas correspondentes a cada faixa de Rf, calculadas e representadas em histogramas.

2.14. Análise e representação dos resultados

Na maioria dos experimentos foi registrado o comprimento do caule (em cm). Foram medidos o epicótilo e os entrenós individualmente, até quando as plantas floresceram. Foi denominada de epicótilo a região do caule localizada entre os cotilédones e o par de folhas primárias. O 1º entrenó; entre as folhas primárias e 1ª.

folha trifoliolada, o 2º entrenô: entre a 1ª. e 2ª. folhas trifolioladas e, assim até o 6º entrenô (entre a 5ª. e 6ª. folhas trifolioladas).

No experimento em que as folhas e raízes foram removidas os resultados (comprimento do epicôtilo) foram obtidos após sete dias.

Quando foi feita a determinação do peso seco das raízes, os resultados foram obtidos 7, 14 e 21 dias após a remoção das folhas primárias.

A análise estatística foi feita dentro de um intervalo de confiança de 95% e os testes usados foram: análise de variância para comparação de mais de dois tratamentos e teste de Tukey (Box *et al.*, 1978), usados na maioria dos experimentos; análise de variância para um experimento fatorial 2^2 , com oito repetições (Box *et al.*, 1978), usada no estudo da influência simultânea das folhas e raízes, no alongamento do caule; teste de Whitney (1975), na verificação da influência das folhas primárias, no crescimento da raiz e teste de Dunnet (1964), para a comparação dos tratamentos com o controle, usado na detecção de substâncias com atividade giberelínica.

O número de repetições variou de 8 a 10 plantas por tratamento, com exceção do experimento em que se verificou a influência das folhas no peso seco das raízes, onde foram usadas 5 plantas por tratamento. Cada planta cresceu em um vaso e os experimentos foram repetidos uma ou duas vezes.

Na maioria dos experimentos, os dados foram representados por diagramas de pontos (sendo cada ponto equi

valente a uma observação). As médias foram representadas por uma seta e as barras perpendiculares, colocadas abaixo das setas, representam os intervalos de confiança, de nível de 95% para as médias.

Nos gráficos que representam o padrão de alongamento do caule, o comprimento de cada entrenô foi dividido pelo comprimento do epicôtilo, já que foi verificado por Válio e Schwabe (1978) e Pereira (1981) e confirmado em nossos experimentos (figs. 5 e 6) que a remoção de folhas jovens não afetava o crescimento do epicôtilo. Assim, estas divisões foram feitas a fim de que as diferenças de vigor das plantas (a variabilidade dentro dos tratamentos) não interferissem nos resultados. Foi verificado se havia diferenças significativas entre os vários entrenôs, das plantas submetidas a um mesmo tratamento e o valor crítico, obtido no teste de Tukey, foi representado por uma barra vertical, à direita dos gráficos, a fim de compará-lo com as diferenças entre os pares de médias considerados.

Quando foi feita a detecção de substâncias com atividade giberelínica, os valores encontrados nas faixas dos cromatogramas foram representados por histogramas e a barra vertical, colocada à direita de cada histograma, representa o valor crítico obtido no teste de Dunnet (1964). As áreas hachuradas representam os valores que excederam este valor crítico e, portanto, são significativos.

III. RESULTADOS

1. Curvas de crescimento do caule (epicótilo e entrenós) e das folhas primárias.

Na figura 3A, observa-se que o crescimento das folhas primárias estabilizou-se com cerca de 6 cm de comprimento, seis dias após o seu desdobramento.

Pela figura 3B verifica-se que a 1ª. folha trifoliolada já havia se desdobrado sete dias após o desdobramento das folhas primárias, enquanto que a 2ª., 3ª. e 4ª. folhas trifolioladas desdobraram-se entre o 7º e o 14º dia após o desdobramento das folhas primárias. Entre o 14º e 21º dia desdobrou-se a 5ª. folha trifoliolada e a 6ª. folha trifoliolada, entre o 21º e 28º dia.

2. Influência das folhas no alongamento do caule.

2.1. As folhas primárias foram removidas quando seus limbos atingiram os seguintes comprimentos: 2 cm, 4 cm e 7 cm, aproximadamente. Foi feito também um controle, no qual as plantas foram mantidas intactas.

Pela figura 4 verifica-se que as plantas controle cresceram significativamente mais que as tratadas, em todos os entrenós. No 5º entrenó, as plantas que tiveram suas folhas removidas com 2 cm apresentaram um crescimento significativamente maior que as plantas cujas folhas foram removidas com 4 e 7 cm. Além disto os dois últimos tra

Figura 3

Curvas de crescimento: (A) das folhas primárias e
(B) do caule (epicôtilo e entrenós).

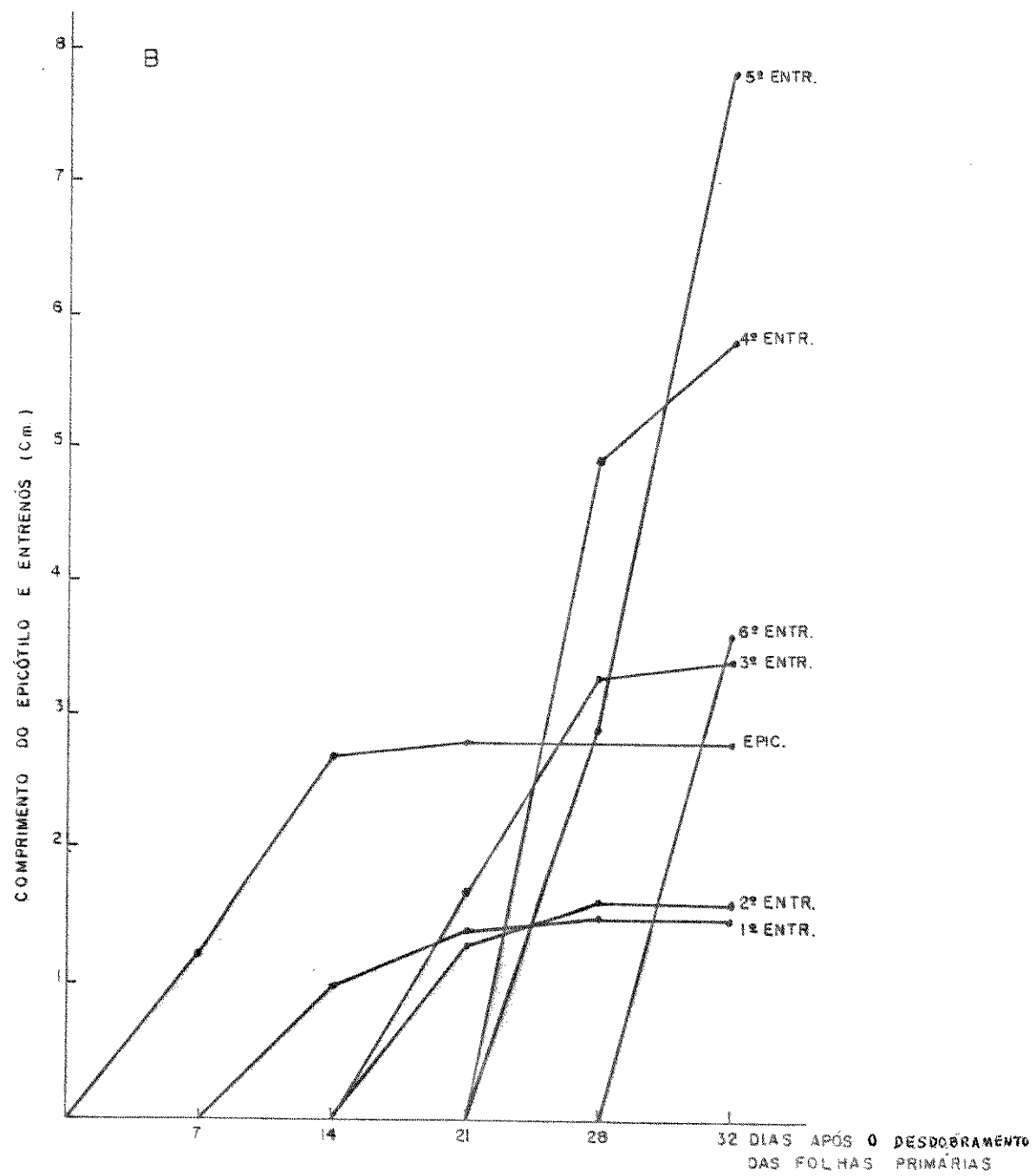
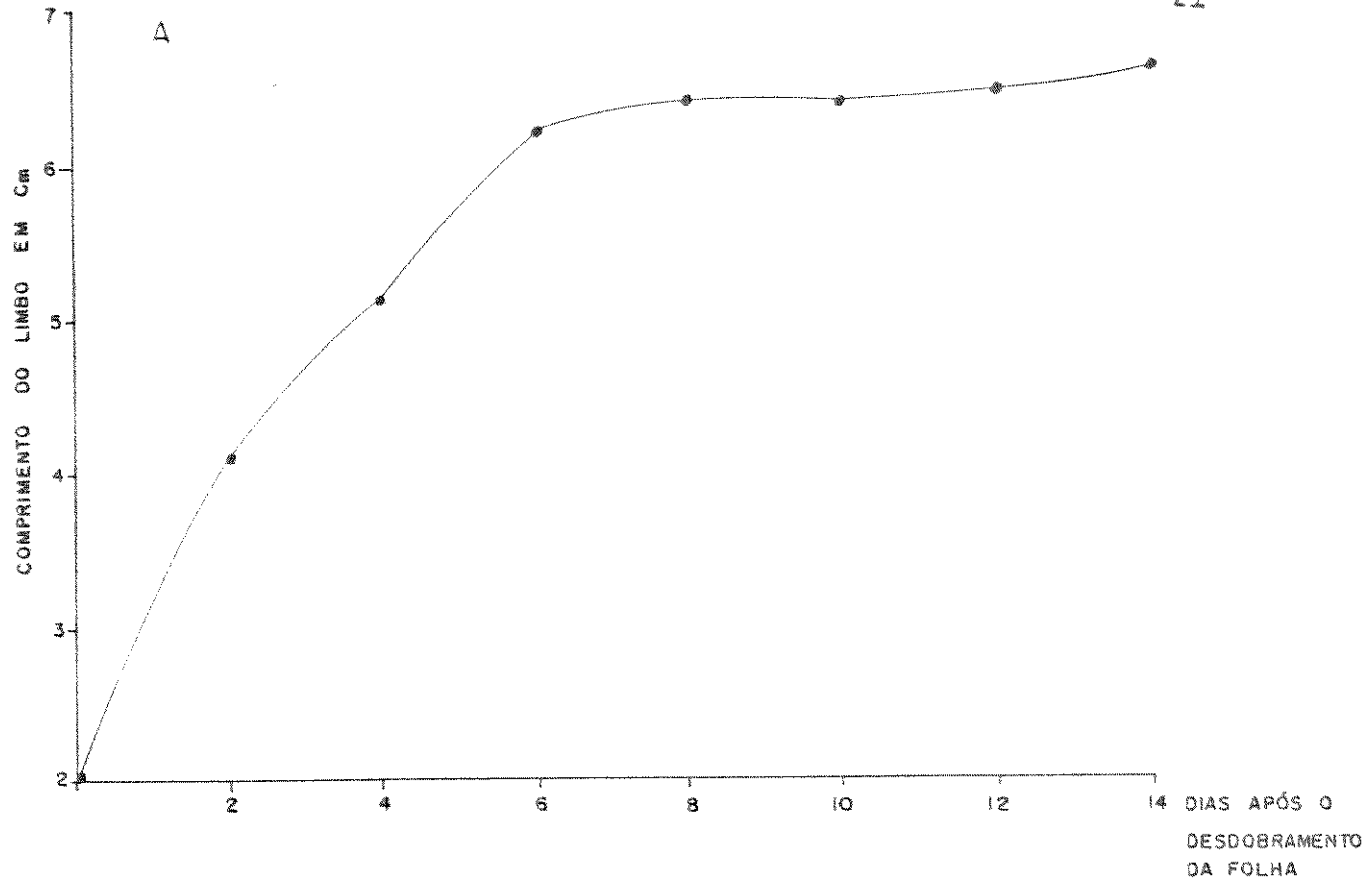
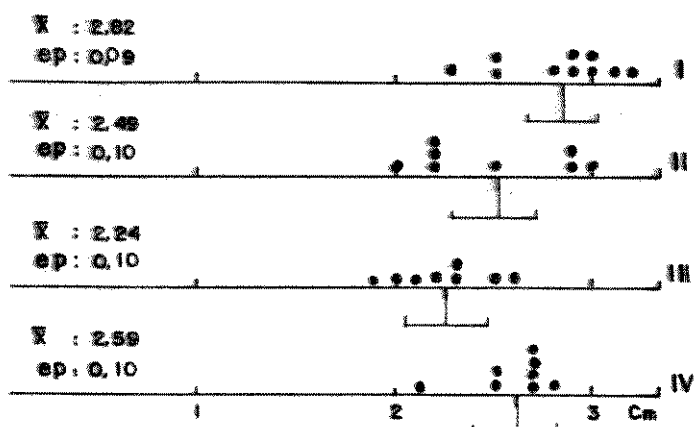


Figura 4

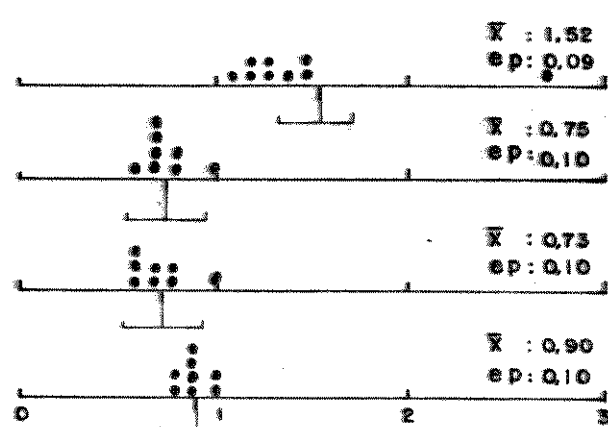
Diagrama de pontos representando a influência da remoção das folhas primárias com diversos tamanhos, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijão.

- I - controle
- II - remoção das folhas quando o limbo atingiu 2 cm de comprimento
- III - quando o limbo atingiu 4 cm de comprimento
- IV - quando o limbo atingiu 7 cm de comprimento
- $\bar{X}$ = média, ep = erro padrão (baseado no desvio padrão combinado).

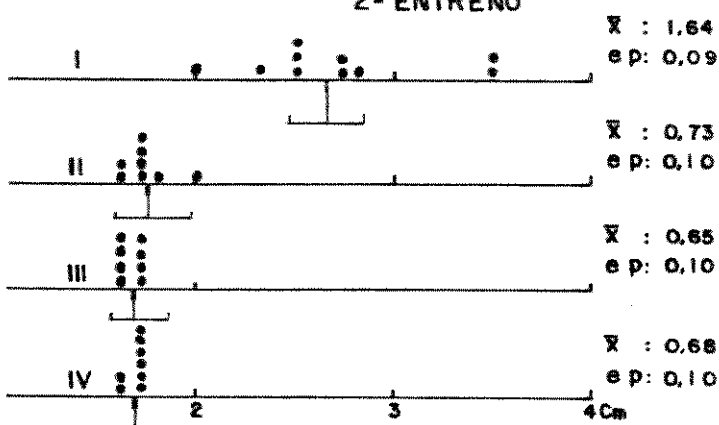
EPICÓTILO



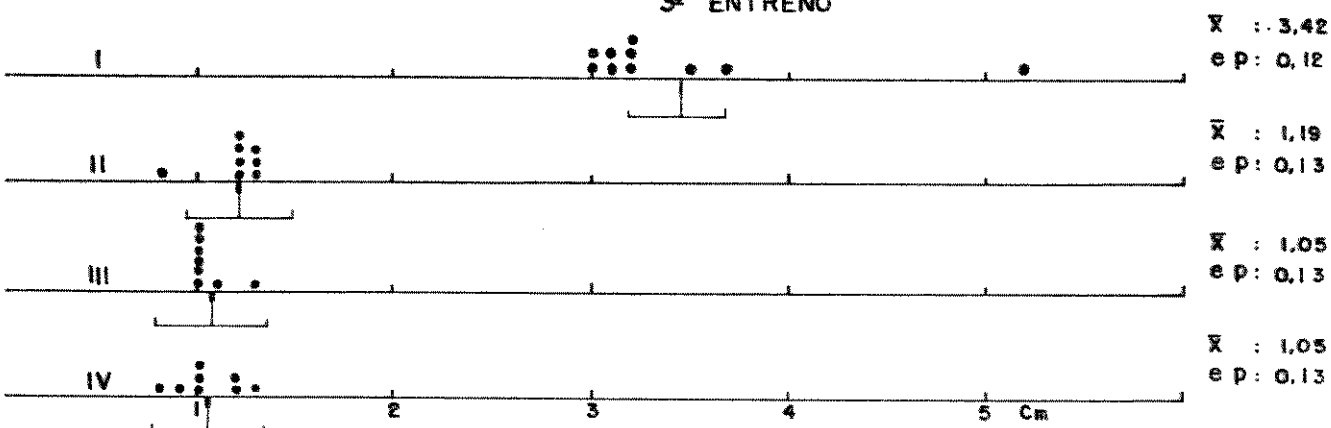
1º ENTRENÓ



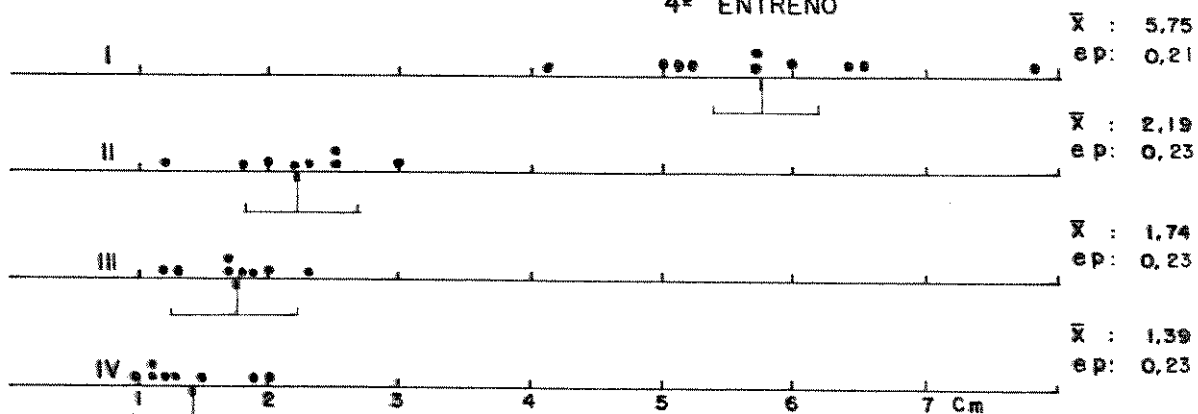
2º ENTRENÓ



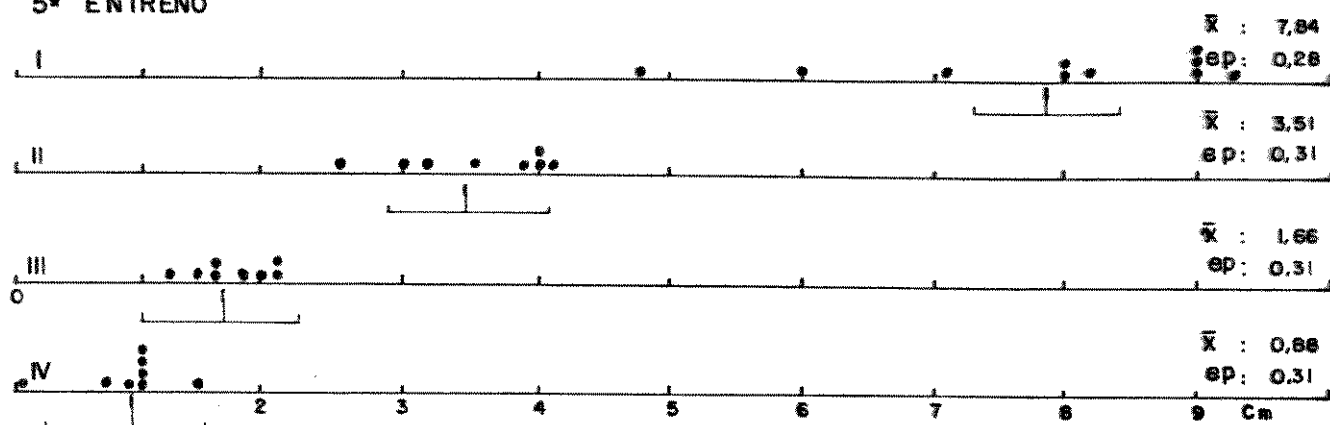
3º ENTRENÓ



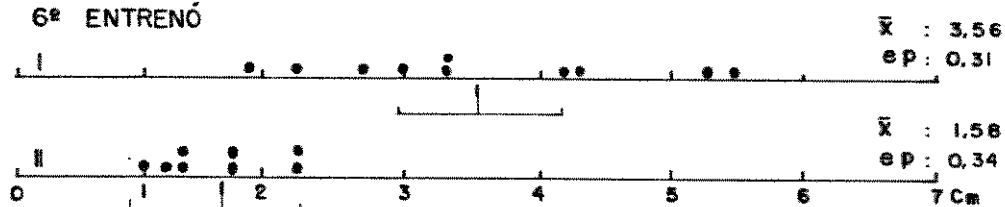
4º ENTRENÓ



5º ENTRENÓ



6º ENTRENÓ



tamentos não apresentaram o 6º entrenó.

2.2. As folhas primárias foram removidas parcial ou totalmente logo que se desdobraram:

- folhas intactas (controle)
- remoção de cerca de 25%
- remoção de cerca de 50%
- remoção de cerca de 75%
- remoção total das duas folhas primárias
- remoção total de uma das folhas primárias.

Na figura 5 verifica-se que nos tratamentos: remoção de 50% das folhas e remoção total de uma das folhas primárias, os resultados foram semelhantes em todos os entrenós.

Quanto mais a área das folhas primárias foi removida, menores os entrenós. Assim, o tratamento onde as duas folhas primárias foram totalmente removidas, foi o mais afetado e se apresentou menor que todos os outros tratamentos, a partir do 2º entrenó (fig. 5).

2.3. Para verificar a influência das diversas folhas no crescimento do caule, foram feitas remoções das folhas primárias, ou 1ª., ou 2ª. trifolioladas, logo após seu desdobramento. As plantas usadas como controle foram deixadas intactas.

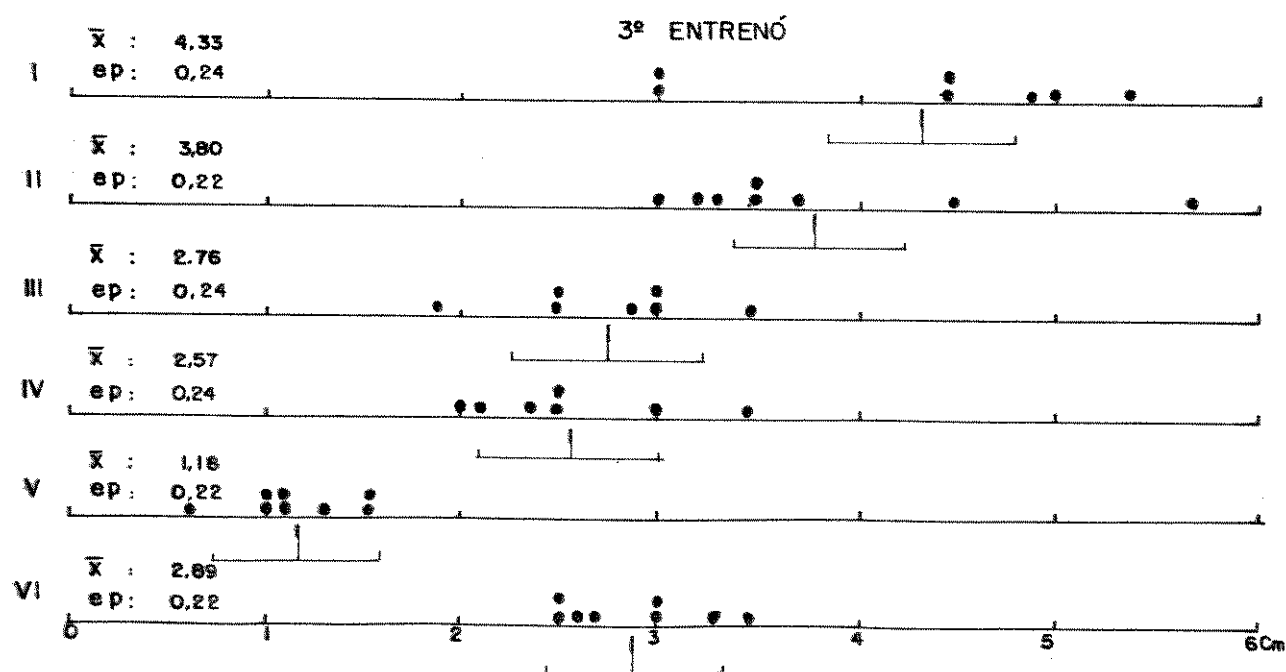
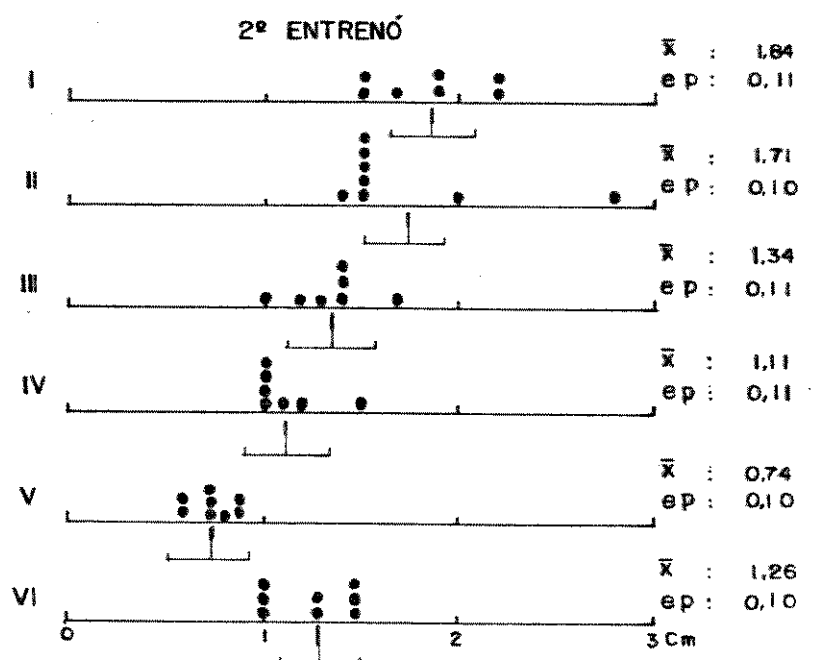
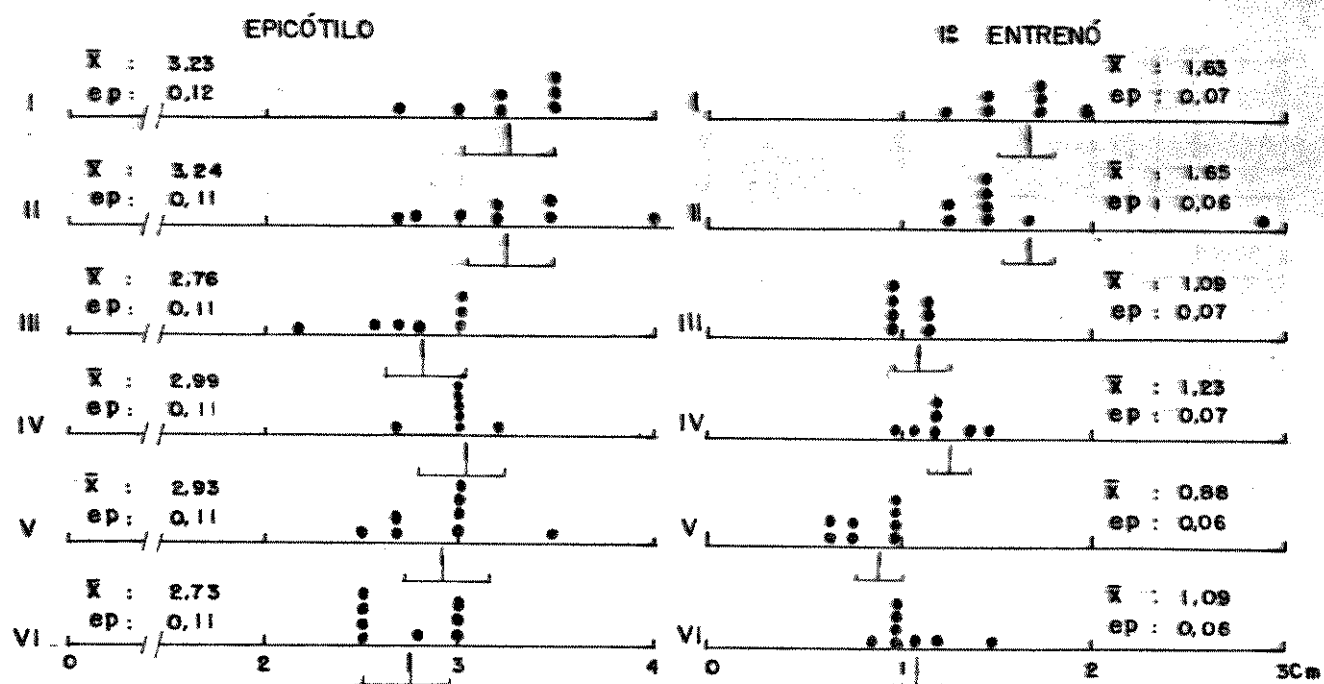
As plantas cujas folhas primárias foram removidas apresentaram o crescimento significativamente menor que as plantas dos outros tratamentos e não apresentaram o 5º entrenó. Não houve diferenças significativas entre as plantas com folhas trifolioladas removidas e o controle (fig. 6).

Assim, pelas figuras 4, 5 e 6 verifica-se que

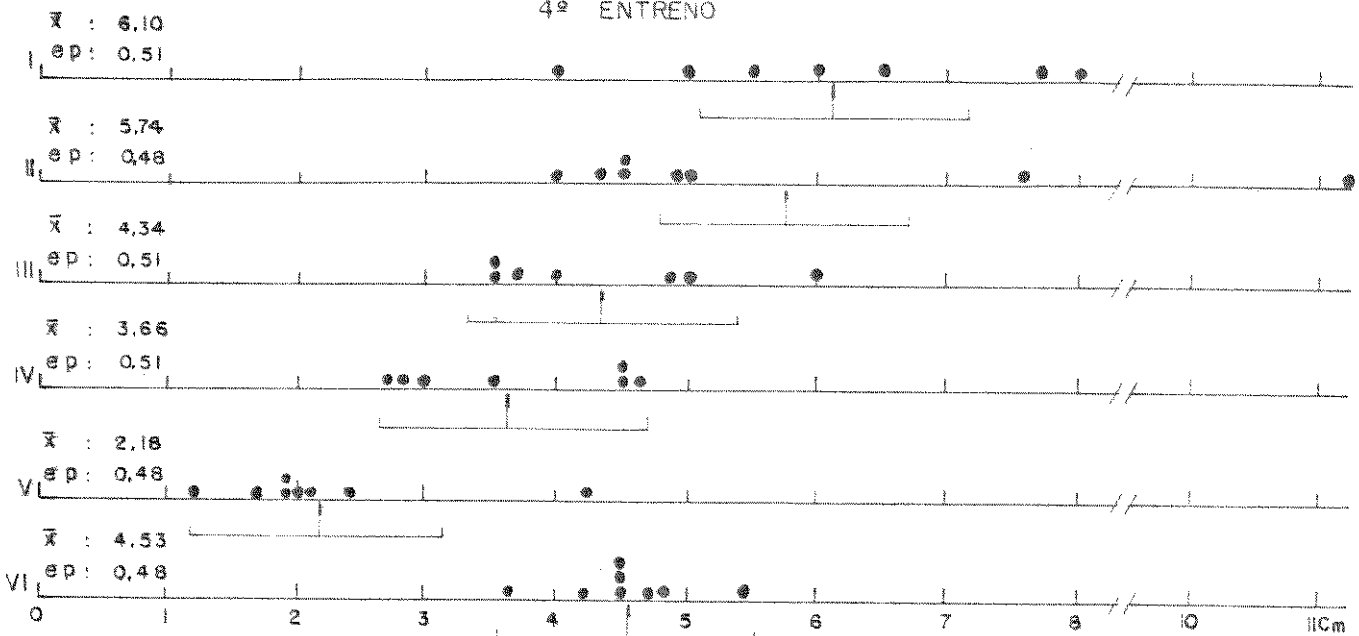
Figura 5

Diagrama de pontos representando a influência da remoção, parcial ou total, das folhas primárias no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.

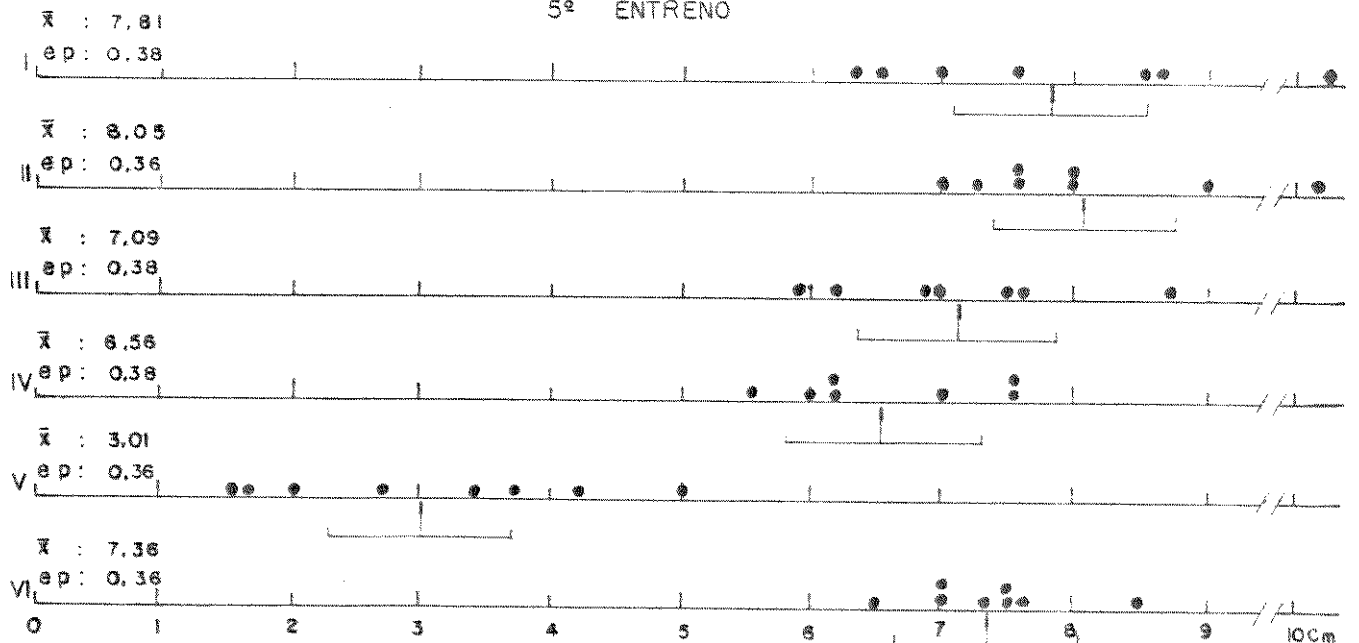
- I - controle
- II - remoção de cerca de 25%
- III - remoção de cerca de 50%
- IV - remoção de cerca de 75%
- V - remoção total das duas folhas primárias
- VI - remoção total de uma das folhas primárias
- $\bar{X}$ = média, ep = erro padrão (baseado no desvio padrão combinado).



4º ENTRENÓ



5º ENTRENÓ



6º ENTRENÓ

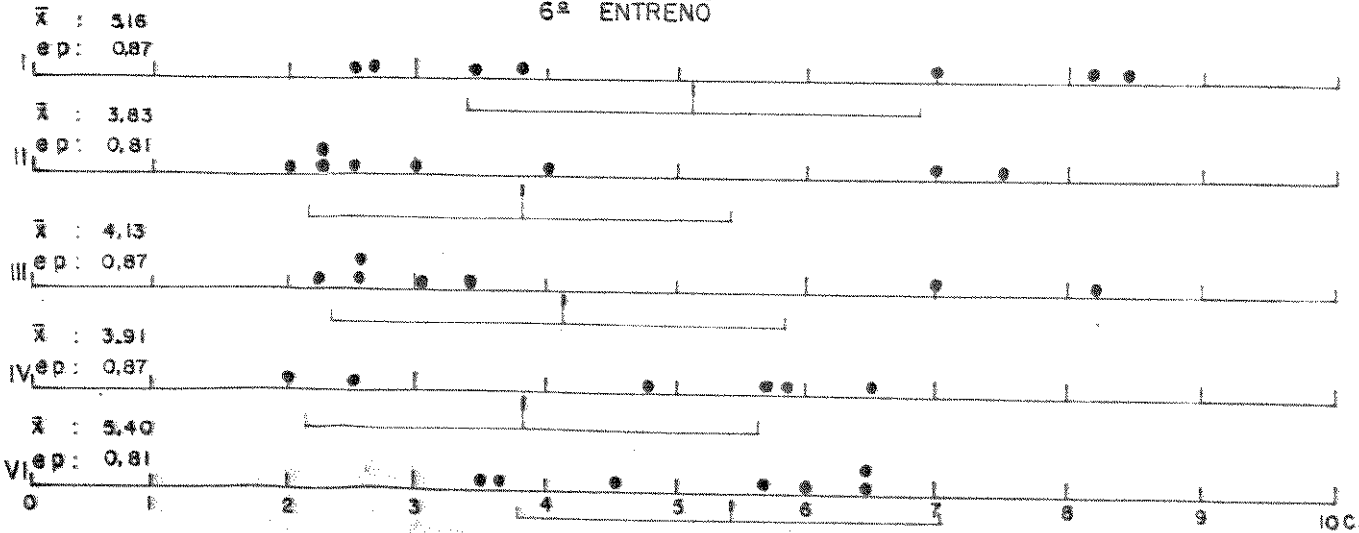


Figura 6

Diagrama de pontos representando a influência da remoção de diversas folhas, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro

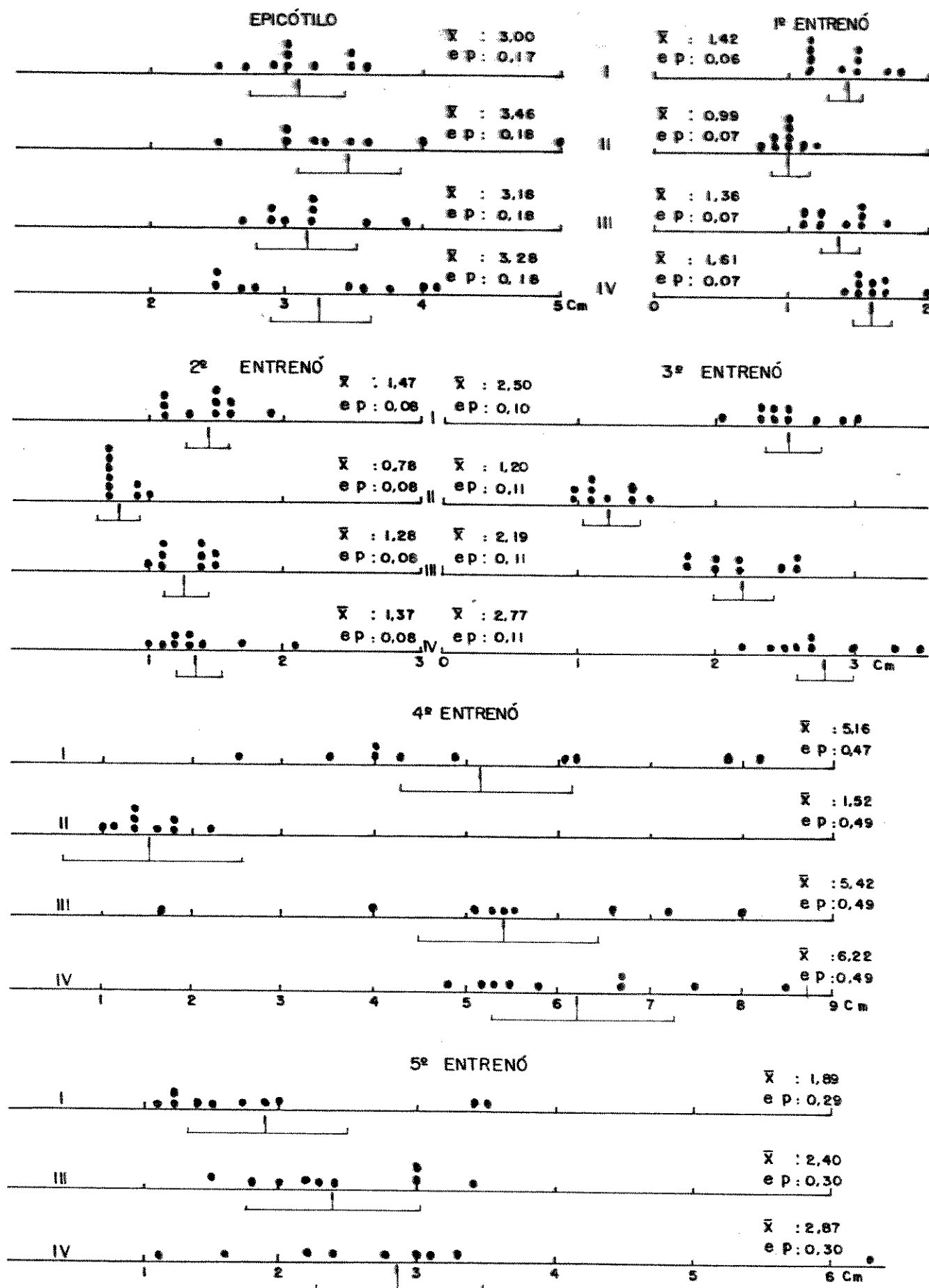
I - controle

II - remoção das folhas primárias

III - remoção da 1ª. folha trifoliolada

IV - remoção da 2ª. folha trifoliolada

$\bar{X}$ = média, ep = erro padrão (baseado no desvio padrão combinado).



quando as folhas primárias foram removidas (parcial ou totalmente) houve redução do crescimento do caule, em relação às plantas controle.

A fim de verificar se a remoção das folhas alterava o padrão de alongamento do caule, os comprimentos dos entrenós de cada tratamento foram divididos pelo comprimento do epicótilo e comparados entre si. Foi detectado um padrão de alongamento do caule que consistia numa tendência a um alongamento maior do 3º entrenó, em relação ao 1º e 2º entrenós. Esta tendência se acentuou no 4º entrenó, que cresceu significativamente mais que o 1º, 2º e 3º entrenós (fig. 7: I, III e IV) com a remoção das folhas primárias, embora o 4º entrenó continuasse significativamente maior que o 1º e 2º entrenós, estas diferenças foram reduzidas e não foi encontrada diferença significativa em relação ao 3º entrenó (fig. 7 II). Desta forma, somente a remoção das folhas primárias alterou o padrão de alongamento do caule, reduzindo as diferenças de comprimento entre os entrenós.

3. Influência de reguladores de crescimento no alongamento do caule.

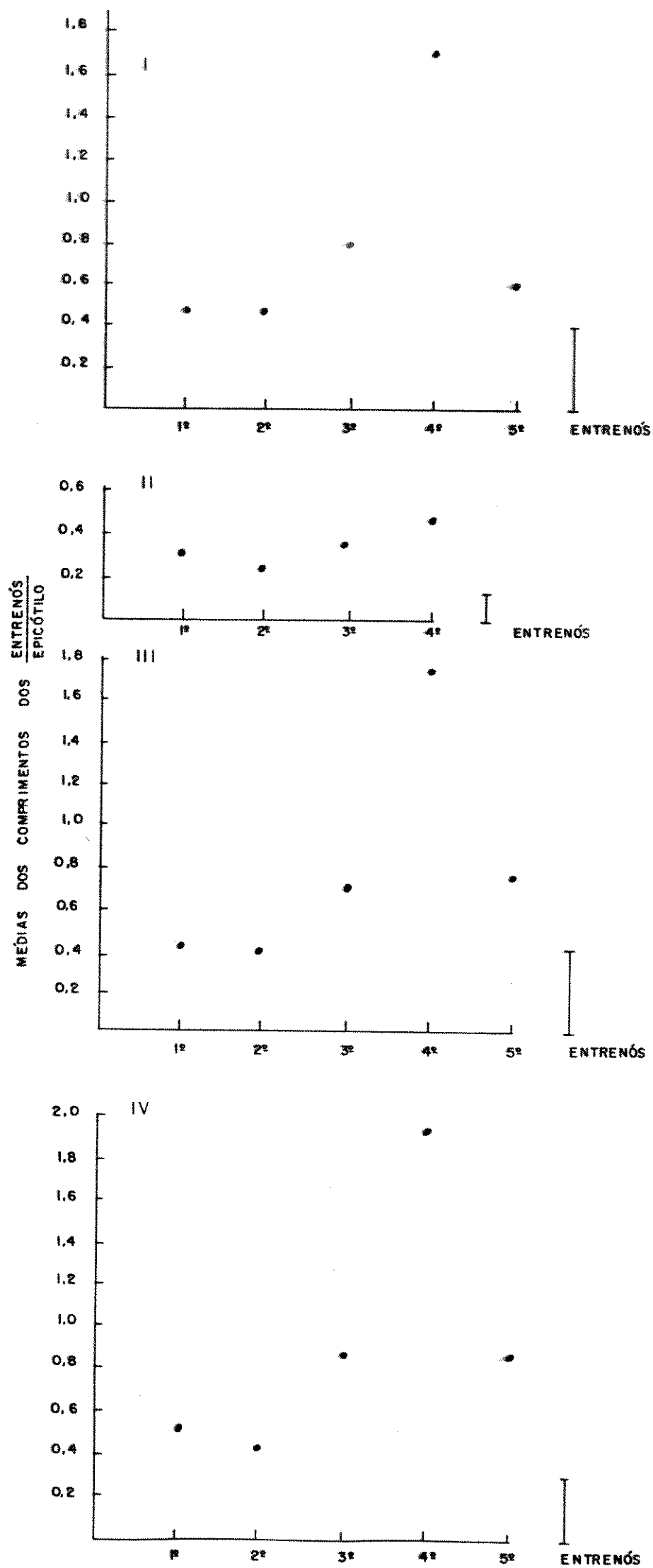
3.1. Os reguladores de crescimento GA_3 , AIA e 6BA foram fornecidos às plantas individualmente ou nas misturas: GA_3 + AIA, GA_3 + 6BA e GA_3 + AIA + 6BA, acrescidos de Tween 20 (0,5%). As plantas controle receberam somente solução de Tween 20. O experimento foi encerrado três semanas após a primeira aplicação, já que a giberelina a-

Figura 7

Padrão de alongamento do caule, quando diversas folhas foram removidas.

- I - controle
- II - remoção das folhas primárias
- III - remoção da 1ª. folha trifoliolada
- IV - remoção da 2ª. folha trifoliolada

As barras verticais, à direita dos gráficos, representam os valores críticos obtidos no teste de Tukey.



celera a senescência das folhas (Polo, 1982).

Os tratamentos que receberam um único tipo de regulador de crescimento foram comparados entre si e com as plantas controle. A giberelina aumentou significativamente o alongamento em todos os entrenós e epicótilo. Houve diferenças entre os outros reguladores (6BA e AIA) e as plantas controle, somente no epicótilo (fig. 8).

Os tratamentos que receberam misturas de reguladores de crescimento foram comparados entre si e com as plantas que receberam somente giberelina. As plantas que receberam GA_3 + 6BA e GA_3 + AIA + 6BA possuíam o 2º, 3º e 4º entrenós significativamente menores que as plantas que receberam somente GA_3 . O maior alongamento foi encontrado nas plantas que receberam GA_3 e GA_3 + AIA, seguido por plantas que receberam GA_3 + AIA + 6BA e, finalmente GA_3 + 6BA, embora as diferenças entre os tratamentos nem sempre fossem significativas (fig. 9).

Assim, a giberelina promoveu significativamente o crescimento do caule e a citocinina reduziu este efeito promotor.

A fim de verificar se as aplicações de reguladores de crescimento alteravam o padrão de alongamento do caule, foram calculadas as razões:

$\frac{\text{comprimento dos entrenós}}{\text{comprimento do epicótilo}}$, de cada tratamento (fig.10)

Pela figura 10 verifica-se que, quando os reguladores de crescimento foram fornecidos individualmente, as plantas que receberam giberelina apresentaram um adiantamento no padrão de alongamento do caule, já que o 3º entrenó era significativamente maior que o 1º e 2º entrenós,

Figura 8

Diagrama de pontos representando a influência de reguladores de crescimento, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.

I - controle

II - aplicação de GA_3

III - aplicação de 6BA

IV - aplicação de AIA

$\bar{X}$ = média e ep = erro padrão (baseado no desvio padrão combinado).

EPICÓTILO

$\bar{x} : 1,95$
ep: 0,10

$\bar{x} : 4,47$
ep: 0,11

$\bar{x} : 2,67$
ep: 0,11

$\bar{x} : 2,47$
ep: 0,11

1º ENTRENÓ

$\bar{x} : 0,79$
ep: 0,15

$\bar{x} : 13,29$
ep: 0,16

$\bar{x} : 1,19$
ep: 0,16

$\bar{x} : 1,24$
ep: 0,17

2º ENTRENÓ

$\bar{x} : 0,6$
ep: 0,22

$\bar{x} : 16,7$
ep: 0,22

$\bar{x} : 0,9$
ep: 0,22

$\bar{x} : 0,9$
ep: 0,22

3º ENTRENÓ

$\bar{x}$: 0,78
ep : 0,29

$\bar{x}$: 23,38
ep : 0,31

$\bar{x}$: 1,29
ep : 0,31

$\bar{x}$: 1,10
ep : 0,32

4º ENTRENÓ

$\bar{x}$: 0,49
ep : 1,11

$\bar{x}$: 16,33
ep : 1,16

$\bar{x}$: 1,71
ep : 1,16

$\bar{x}$: 0,68
ep : 1,24

5º ENTRENÓ

$\bar{x}$: 0,21
ep : 0,54

$\bar{x}$: 3,28
ep : 0,57

$\bar{x}$: 0,76
ep : 0,57

$\bar{x}$: 0,26
ep : 0,60

Figura 9

Diagrama de pontos representando a influência de misturas de reguladores de crescimento, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.

I - aplicação de GA_3

II - GA_3 + AIA

III - GA_3 + 6BA

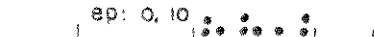
IV - GA_3 + AIA + 6BA

$\bar{X}$ = média, ep = erro padrão (baseado no desvio padrão combinado).

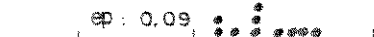
EPICÓTILO

 $\bar{x} : 4,47$

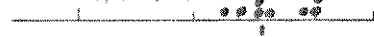
ep: 0,10

 $\bar{x} : 4,56$

ep: 0,09

 $\bar{x} : 4,61$

ep: 0,09

 $\bar{x} : 4,52$

ep: 0,09



1º ENTRENÓ

 $\bar{x} : 13,29$

ep: 0,45

 $\bar{x} : 13,01$

ep: 0,42

 $\bar{x} : 12,89$

ep: 0,42

 $\bar{x} : 12,69$

ep: 0,42



2º ENTRENÓ

 $\bar{x} : 16,71$

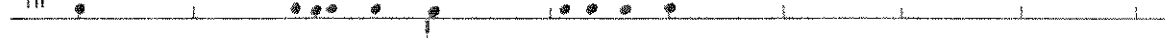
ep: 0,57

 $\bar{x} : 16,05$

ep: 0,54

 $\bar{x} : 12,94$

ep: 0,54

 $\bar{x} : 13,98$

ep: 0,54



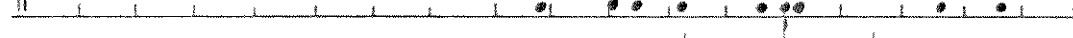
3º ENTRENÓ

 $\bar{x} : 23,38$

ep: 0,84

 $\bar{x} : 21,00$

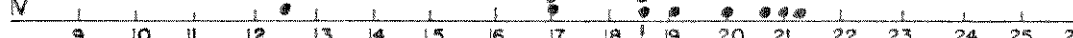
ep: 0,79

 $\bar{x} : 13,36$

ep: 0,79

 $\bar{x} : 18,54$

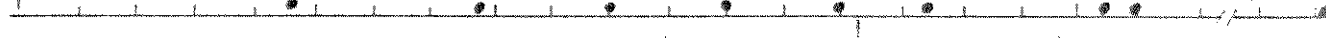
ep: 0,79



4º ENTRENÓ

 $\bar{x} : 16,33$

ep: 1,68

 $\bar{x} : 11,54$

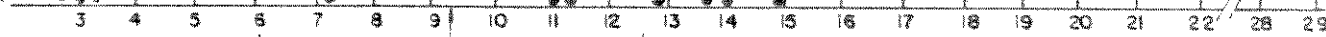
ep: 1,60

 $\bar{x} : 5,35$

ep: 1,60

 $\bar{x} : 9,40$

ep: 1,60



5º ENTRENÓ

 $\bar{x} : 3,28$

ep: 1,01

 $\bar{x} : 2,25$

ep: 0,96

 $\bar{x} : 1,06$

ep: 0,96

 $\bar{x} : 3,26$

ep: 0,96

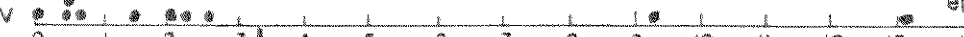
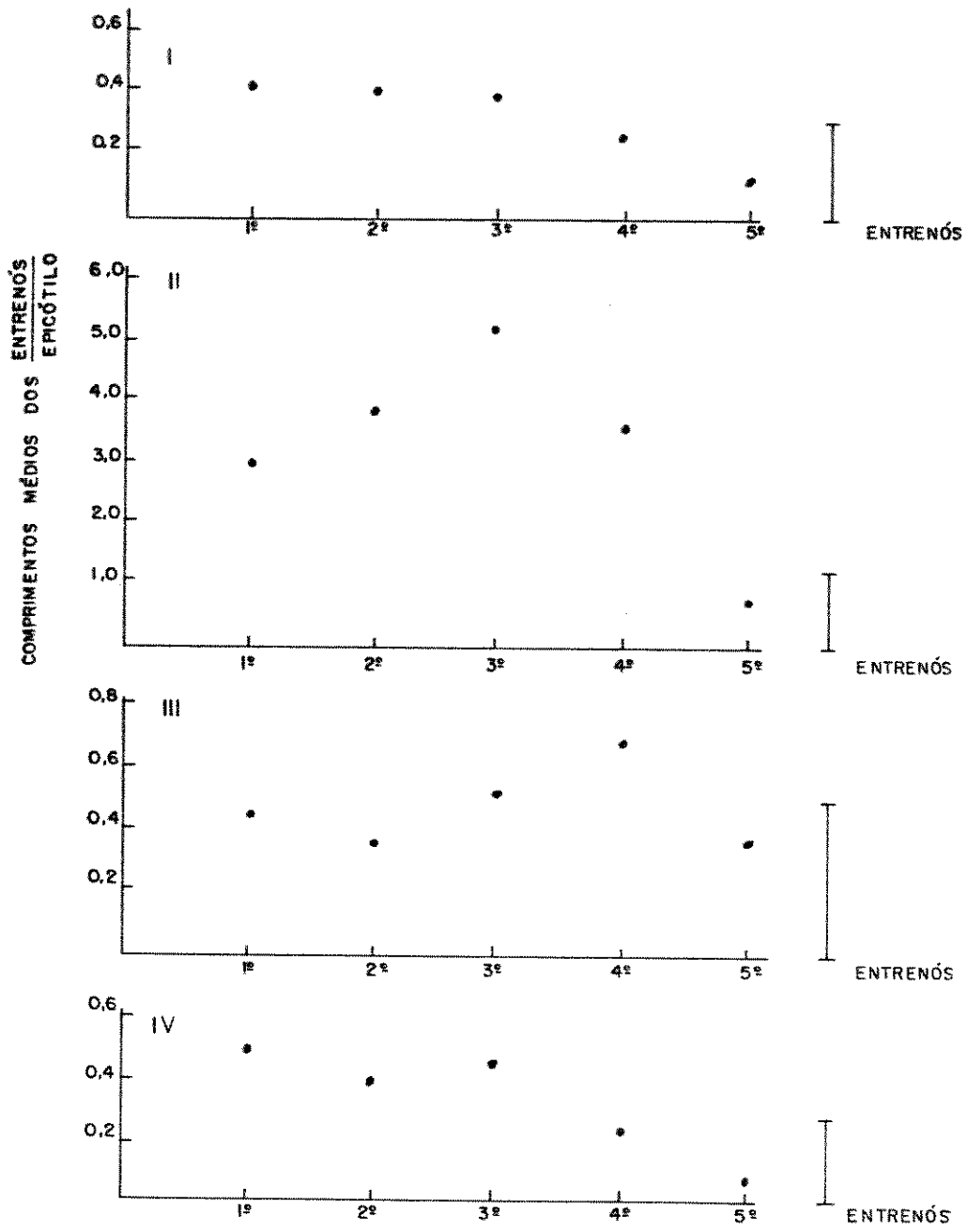


Figura 10

Padrão de alongamento do caule, quando as plantas receberam reguladores de crescimento.

- I - controle
- II - aplicação de GA_3
- III - aplicação de 6BA
- IV - aplicação de AIA

As barras verticais, à direita dos gráficos, representam os valores críticos obtidos no teste de Tukey.



enquanto que com os outros reguladores não houve diferenças significativas entre os entrenós. Quando os reguladores foram fornecidos em misturas, somente as plantas que receberam $GA_3 + 6BA$ não apresentaram o 3º entrenó significativamente maior que o 1º e 2º entrenós (fig. 11). Por tanto a giberelina adiantou o aumento de alongamento para o 3º entrenó e a citocinina fez desaparecer este padrão.

3.2. Com o objetivo de verificar se o fator responsável pelo alongamento do caule seria a síntese de giberelina e se esta síntese ocorria em alguma época específica, as plantas receberam CCC quando ocorreu o desdobramento das:

- folhas primárias
- 1ª. folha trifoliolada
- 2ª. folha trifoliolada
- 3ª. folha trifoliolada

As aplicações foram feitas em pasta de lanolina e as plantas controle receberam somente a pasta de lanolina.

O CCC reduziu o crescimento, em relação ao controle, a partir do momento de sua aplicação. Assim, as plantas que receberam CCC quando as folhas primárias se desdobraram, apresentaram todos os entrenós menores que as plantas controle, enquanto que as plantas que receberam CCC quando a 1ª. folha trifoliolada se desdobrou, apresentaram redução a partir do 2º entrenó. Nas que receberam aplicações quando a 2ª. e 3ª. folhas trifolioladas se desdobraram, os crescimentos foram reduzidos a partir do 3º e 4º entrenós, respectivamente (fig. 12).

Figura 11

Padrão de alongamento do caule, quando as plantas receberam misturas de reguladores de crescimento.

I - GA_3

II - GA_3 + AIA

III - GA_3 + 6BA

IV - GA_3 + AIA + 6BA

As barras verticais, à direita dos gráficos, representam os valores críticos obtidos no teste de Tukey.

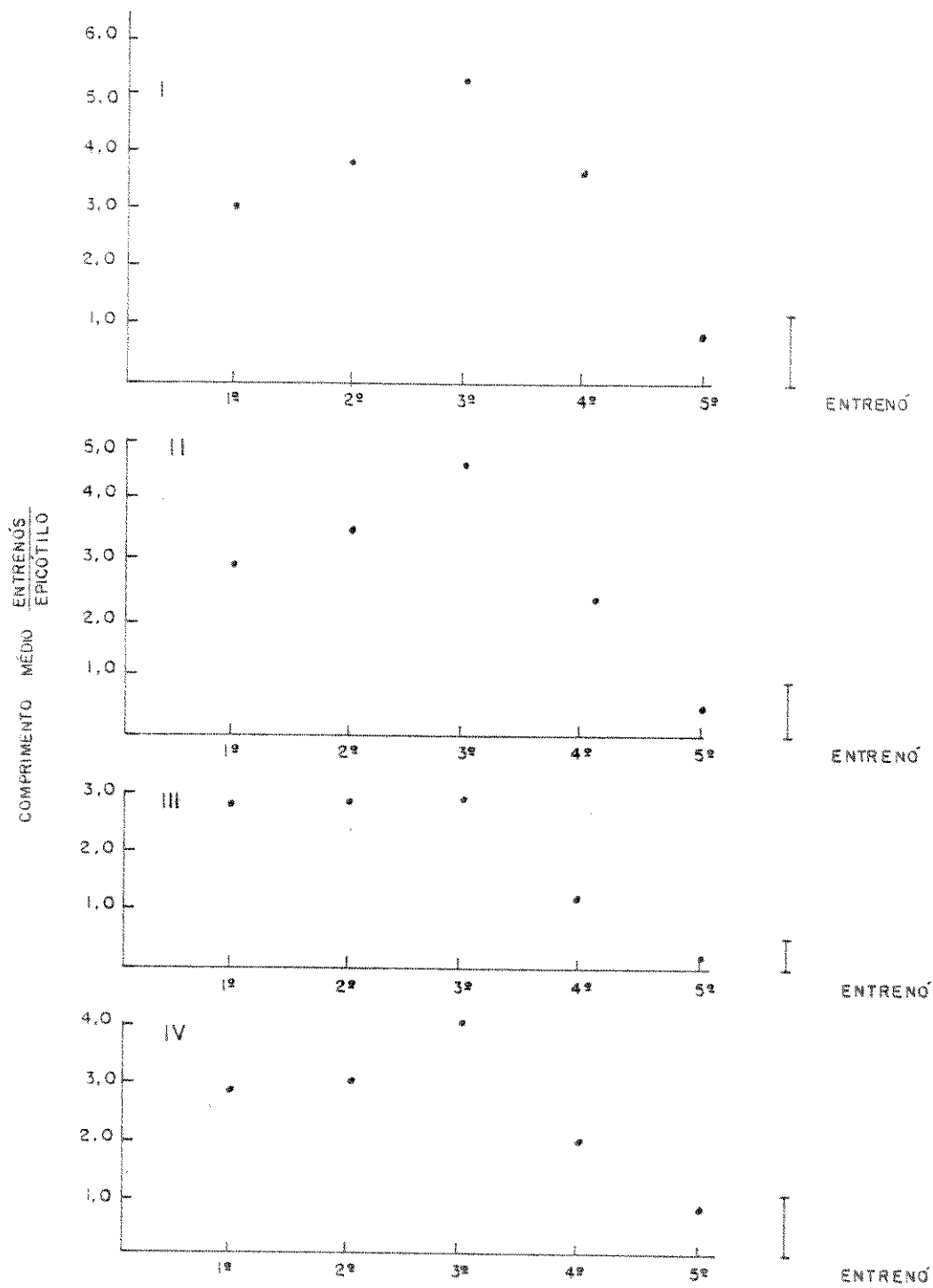
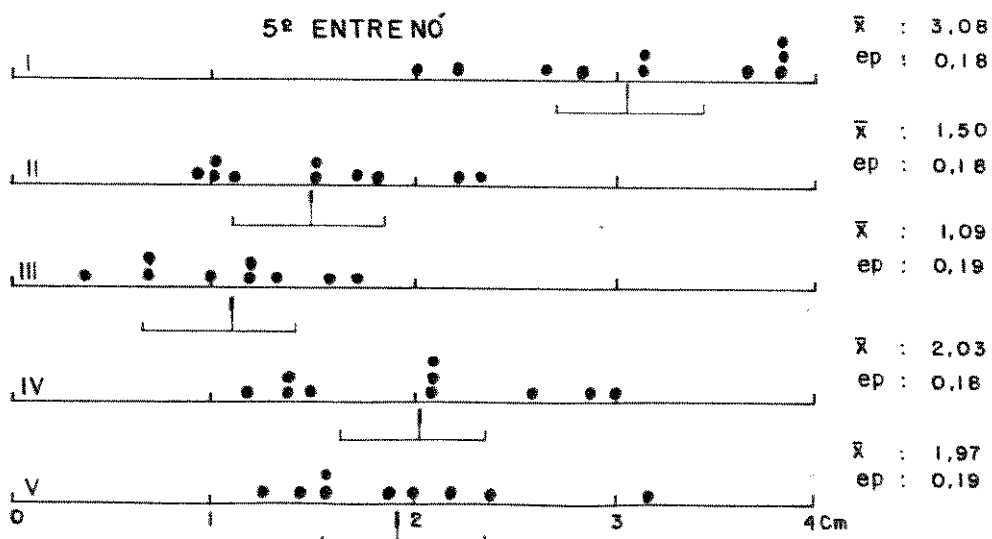
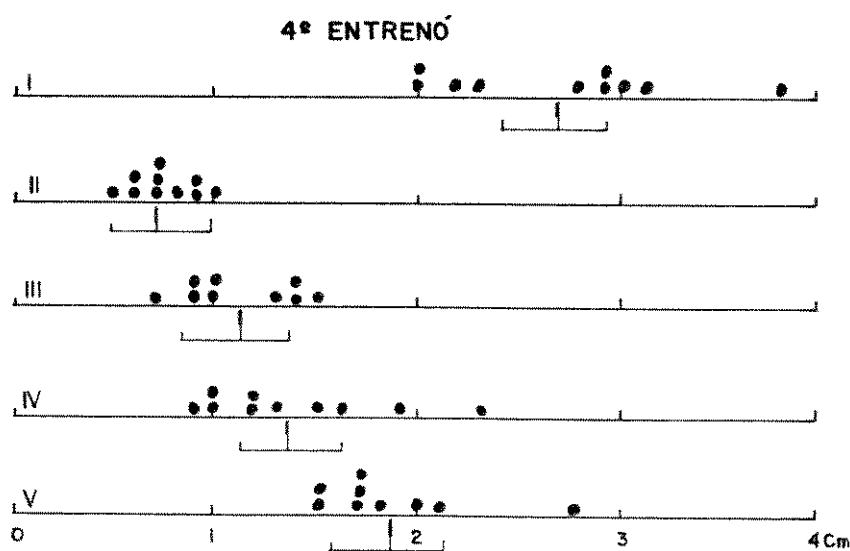
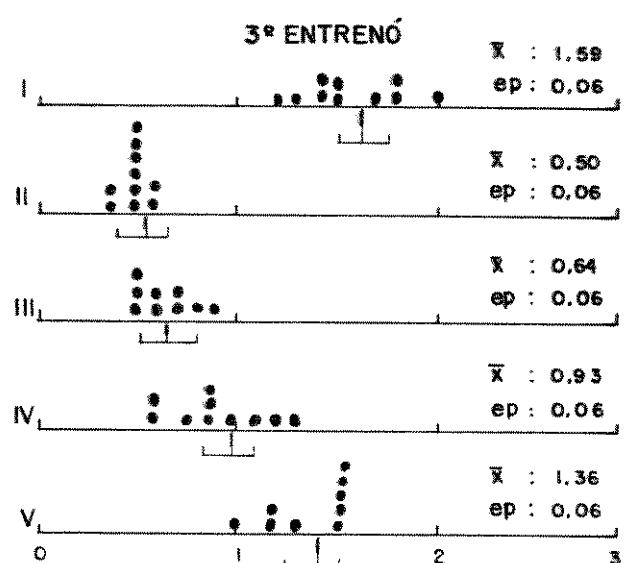
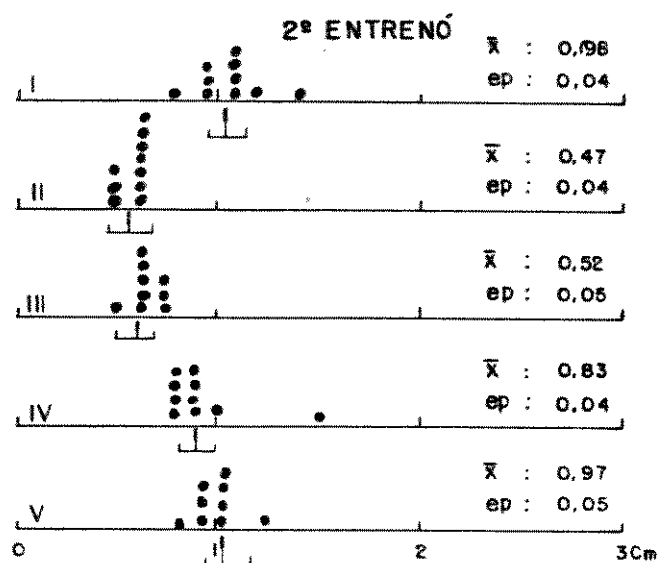
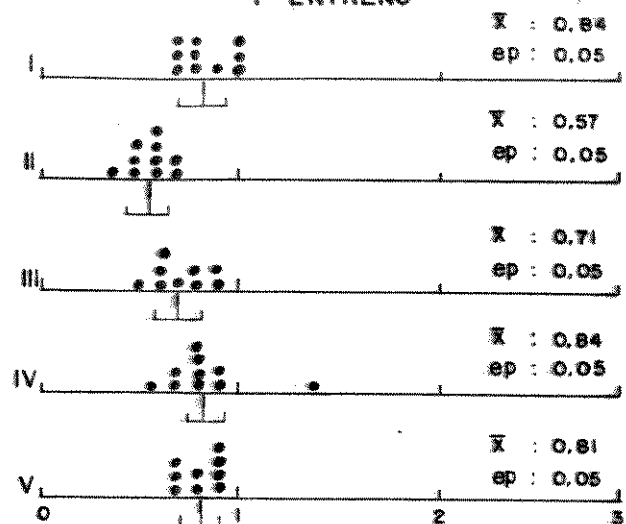
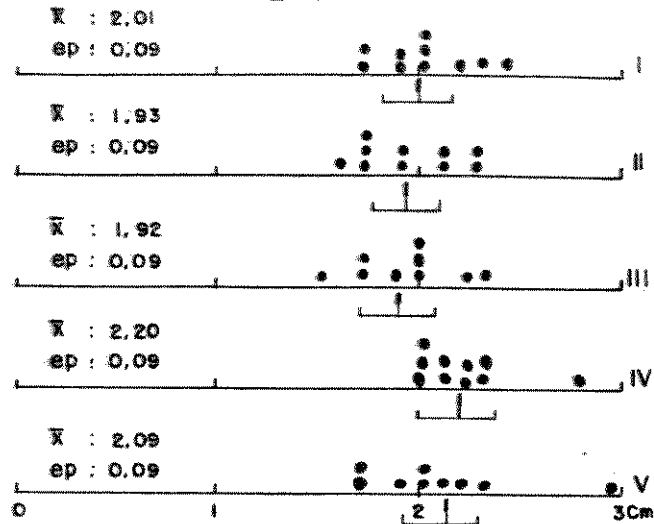


Figura 12

Diagrama de pontos representando a influência da aplicação de CCC, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.

- I - controle
- II - CCC quando as folhas primárias se desdobraram
- III - CCC quando a 1ª. folha trifoliolada se desdobrou
- IV - CCC quando a 2ª. folha trifoliolada se desdobrou
- V - CCC quando a 3ª. folha trifoliolada se desdobrou
- $\bar{X}$ = média, ep = erro padrão (baseado no desvio padrão combinado).



O CCC também retardou o padrão de alongamento do caule, a partir do momento de sua aplicação. Assim, nas plantas controle e nas plantas que receberam CCC quando a 3ª. folha trifoliolada se desdobrou, o 3º, 4º e 5º entrenós eram significativamente maiores que o 1º e 2º entrenós. Nas plantas que receberam CCC logo que as folhas primárias se desdobraram, somente o 5º entrenó era significativamente maior que o 1º e 2º. As plantas que receberam aplicações quando a 1ª. e 2ª. folhas trifolioladas se desdobraram, apresentaram o 4º e 5º entrenós maiores que os demais (fig. 13).

4. Influência de DCMU no alongamento do caule.

A fim de inibir a fotossíntese e, desta forma, verificar sua contribuição para o alongamento do caule, foi fornecido DCMU às plantas. O DCMU foi aplicado nas folhas primárias, ou 1ª., ou 2ª., ou 3ª. folhas trifolioladas. As plantas controle não receberam as aplicações de DCMU.

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos (fig. 14).

5. Influência das raízes no alongamento do caule

Foi feita a remoção de 50% das raízes de plantas, cujas folhas primárias, ou 1ª., ou 2ª., ou 3ª. folhas trifolioladas tinham acabado de desdobrar-se. As plantas controle foram mantidas intactas.

Só foi encontrada diferença significativa no 5º

Figura 13

Padrão de alongamento do caule, quando as plantas receberam CCC.

- I - controle
- II - CCC quando as folhas primárias se desdobraram
- III - CCC quando a 1ª. folha trifoliolada se desdobrou
- IV - CCC quando a 2ª. folha trifoliolada se desdobrou
- V - CCC quando a 3ª. folha trifoliolada se desdobrou

As barras verticais, à direita dos gráficos representam os valores críticos obtidos no teste de Tukey.

COMPRIMENTO MÉDIO DOS
ENTRENÓS
EPICÓTILO

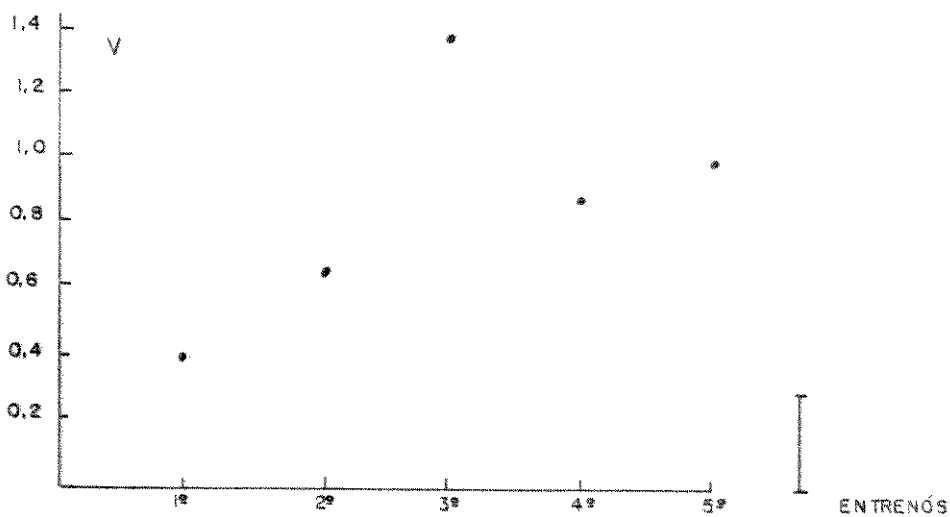
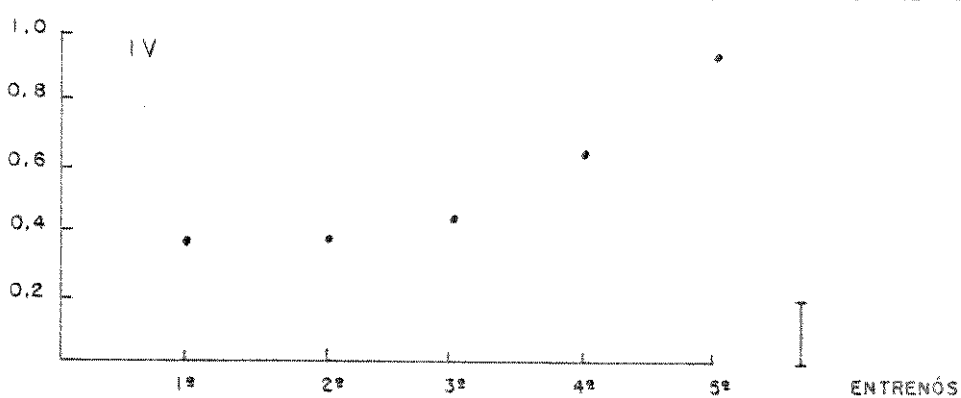
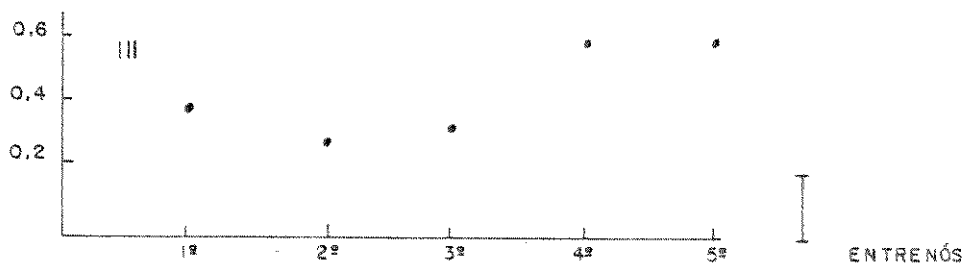
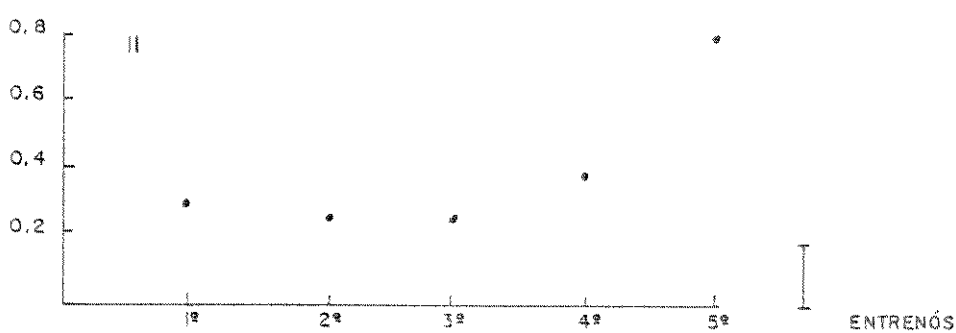
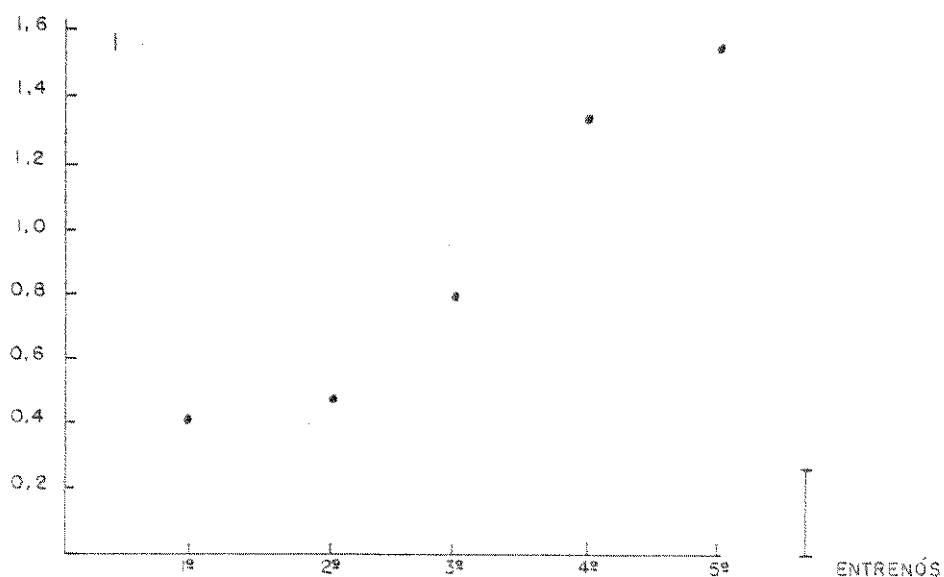
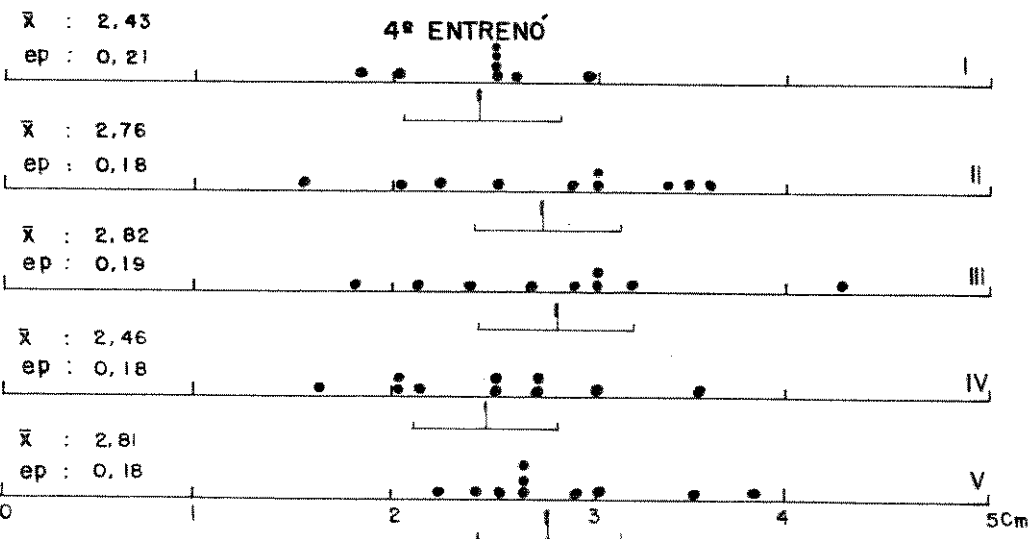
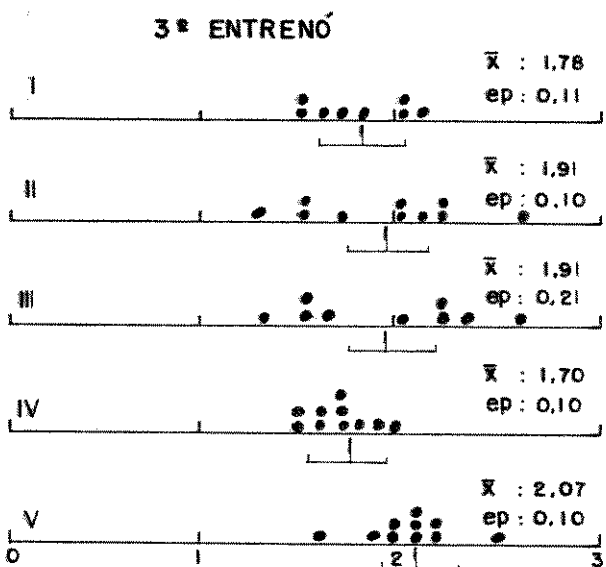
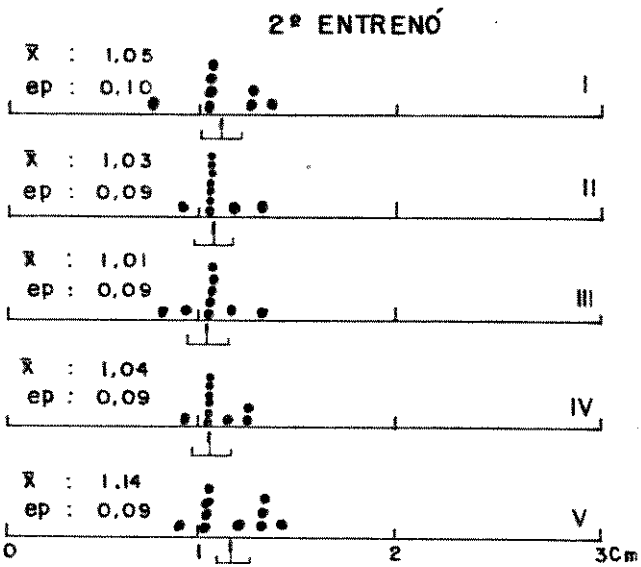
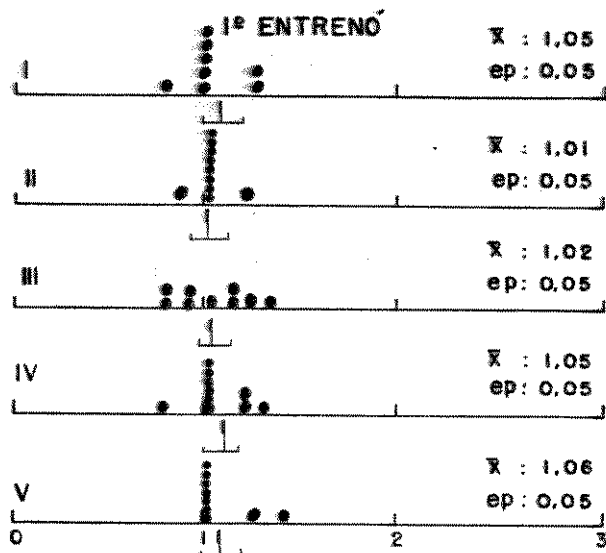
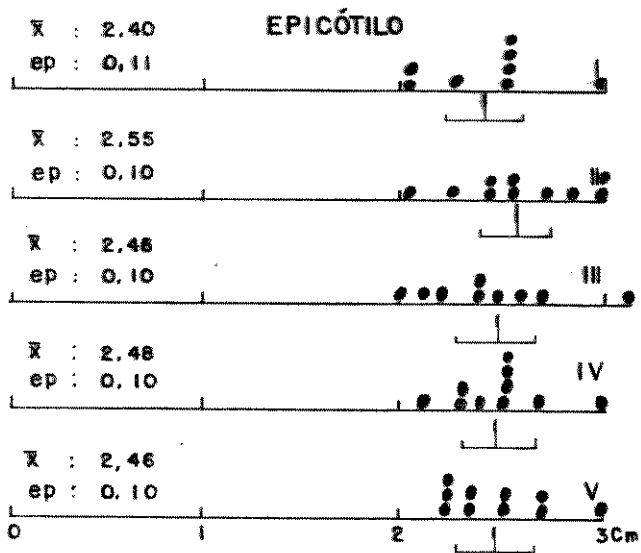


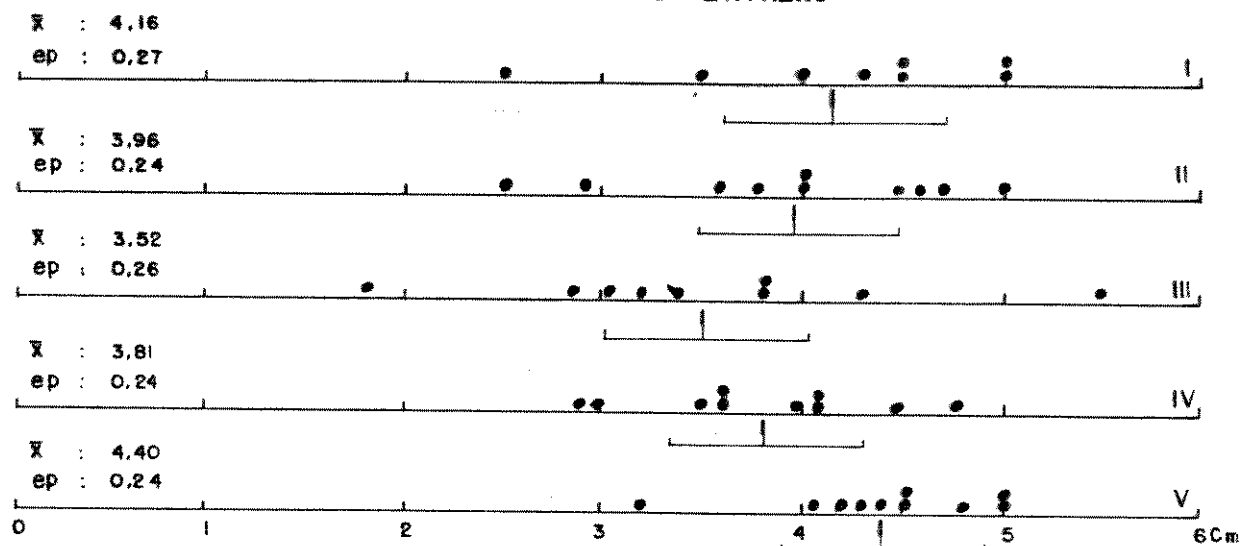
Figura 14

Diagrama de pontos representando a influência de DCMU, no alongamento do caule (epicótilo e entrenós) de feijoeiro.

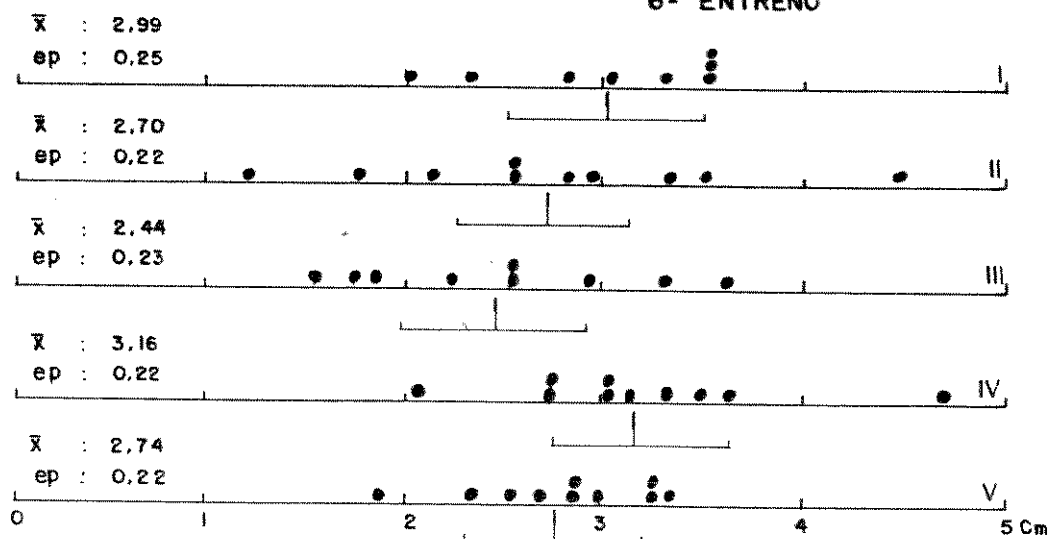
- I - controle
- II - DCMU nas folhas primárias
- III - DCMU na 1ª. folha trifoliolada
- IV - DCMU na 2ª. folha trifoliolada
- V - DCMU na 3ª. folha trifoliolada
- $\bar{X}$ = média, ep = erro padrão (baseado no desvio padrão combinado).



5º ENTRENÓ



6º ENTRENÓ



entrenô (fig. 15). No entanto, como o valor do F esperado (2,73) era muito próximo do F observado (2,81), não foi possível detectar, com o teste de Tukey, entre quais dos tratamentos havia esta diferença.

6. Influência das folhas e raízes no alongamento do caule

A fim de verificar a influência simultânea das folhas e raízes, no alongamento do epicótilo, foram usadas estacas:

- sem folhas primárias e sem raízes
- com folhas primárias e sem raízes
- sem folhas primárias e com raízes adventícias
- com folhas primárias e com raízes adventícias.

Pela tabela 1 verifica-se que não houve interação entre as folhas primárias e as raízes, no crescimento do epicótilo. Somente com a remoção das folhas primárias, houve redução significativa do alongamento do epicótilo.

7. Influência das folhas primárias no crescimento das raízes.

Foram usados dois tratamentos: plantas intactas e plantas cujas folhas primárias foram totalmente removidas.

A remoção das folhas primárias provocou uma redução significativa no peso seco das raízes, após 7, 14 e 21 dias da retirada das folhas (Tabela 2).

Figura 15

Diagrama de pontos representando a influência da remoção de 50% das raízes, em épocas diferentes, no alongamento do caule (epicôtilo e entrenós) de feijoeiro.

I - controle

II - remoção de 50% das raízes quando as folhas primárias se desdobraram

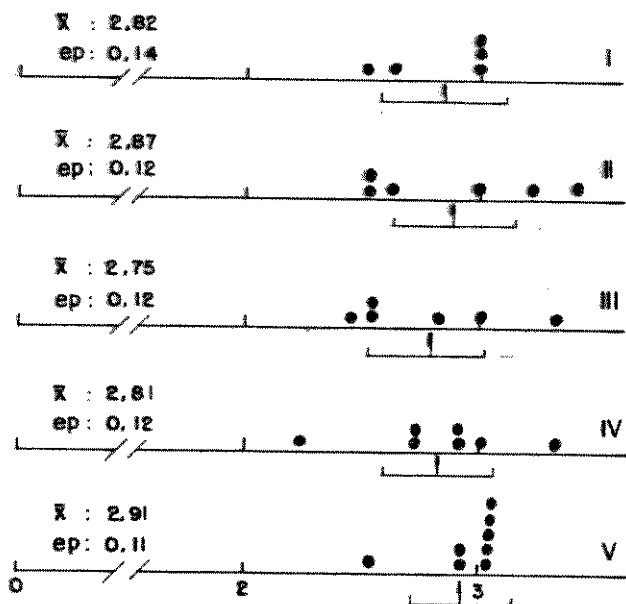
III - quando a 1ª. folha trifoliolada se desdobrou

IV - quando a 2ª. folha trifoliolada se desdobrou

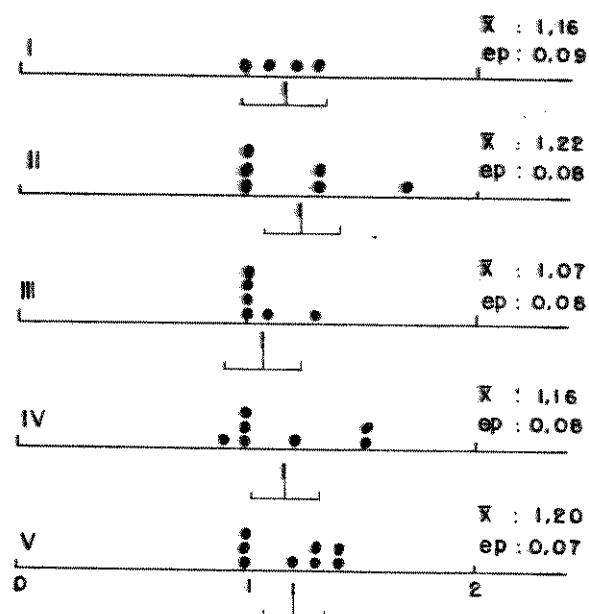
V - quando a 3ª. folha trifoliolada se desdobrou

$\bar{X}$ = média, ep = erro padrão (baseado no desvio padrão combinado).

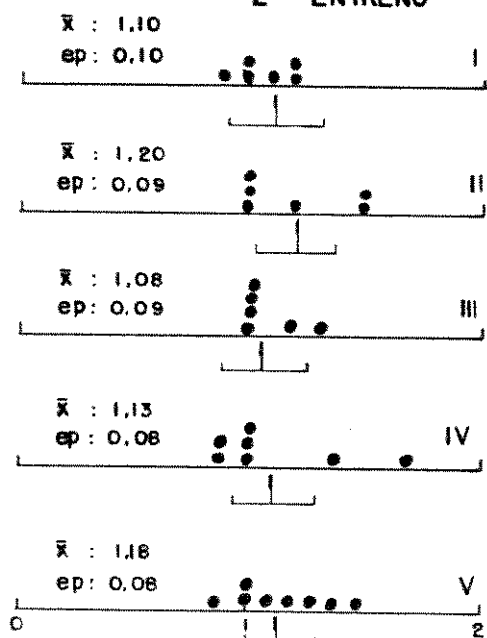
EPICÓTILO



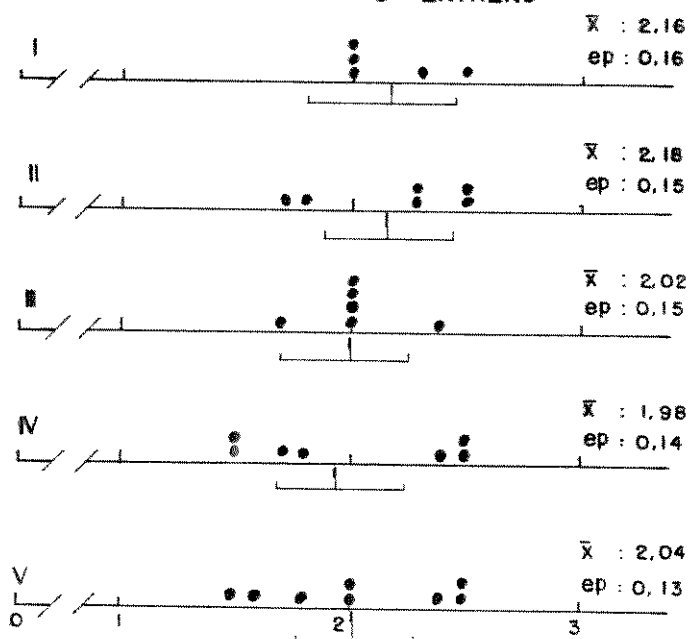
1º ENTRENÓ



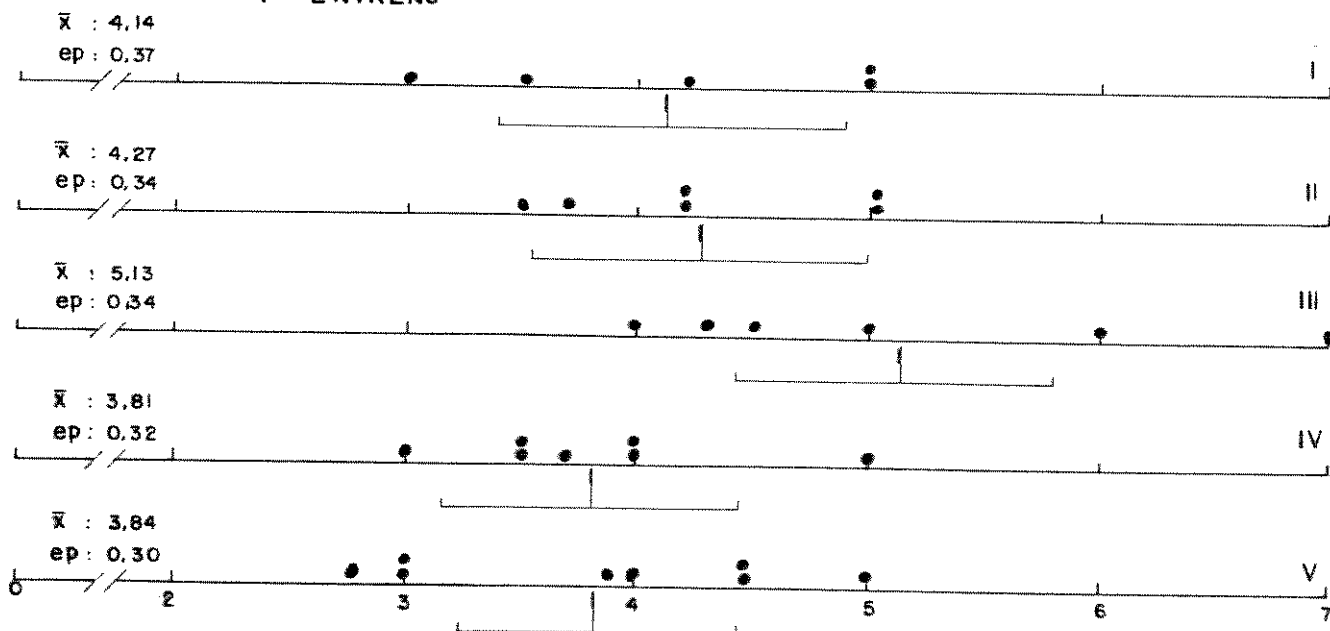
2º ENTRENÓ



3º ENTRENÓ



4º ENTRENÓ



5º ENTRENÓ

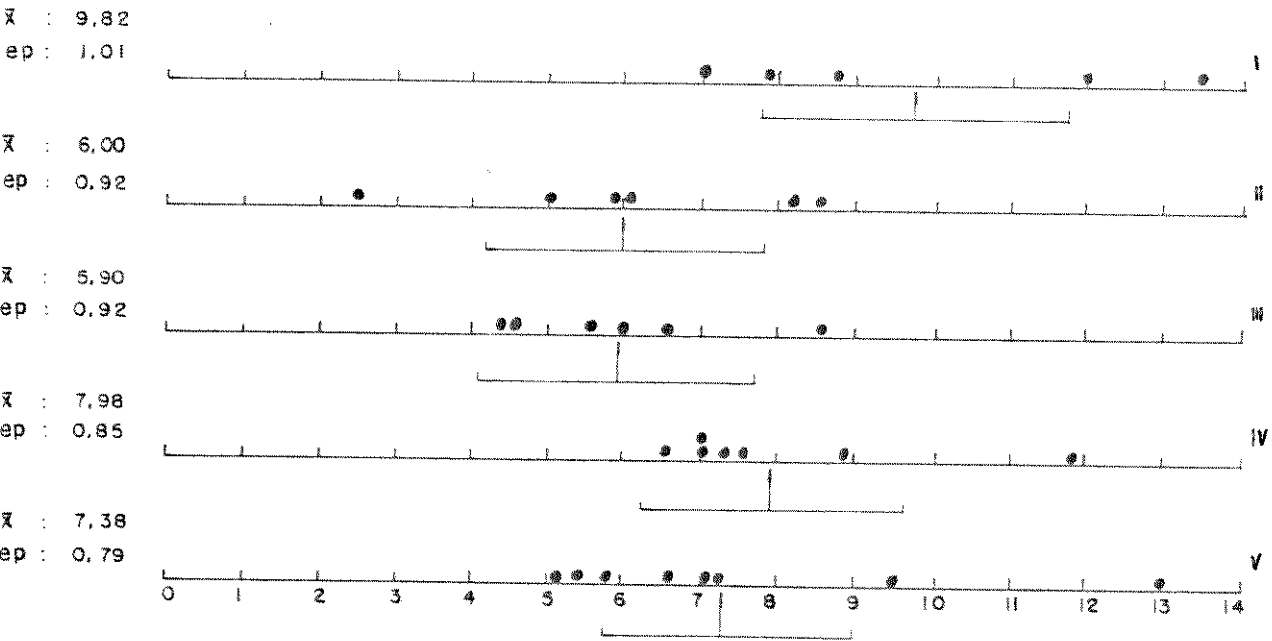


Tabela 1

Influência simultânea de folhas primárias e raízes, no alongamento do caule (epicótilo) de feijoeiro.

Os tratamentos foram: estacas sem folhas primárias e sem raízes, com folhas primárias e sem raízes, sem folhas primárias e com raízes adventícias e estacas com folhas primárias e com raízes adventícias.

Os valores representam as médias obtidas em cada tratamento. Ft = valor tabelado para 1 e 28 graus de liberdade e Fo = valor crítico observado.

Raízes adventícias	Folhas primárias		Ft	Fo		
	Ausentes	Presentes		Folhas	Raízes	Intera- ção
Ausentes	1,64	2,14	4,20	4,92	0,18	0,80
Presentes	1,85	2,06				

Tabela 2

Influência das folhas primárias no peso seco das raízes.

Os tratamentos foram: plantas sem folhas primárias e plantas com folhas primárias e os valores são as médias obtidas 7, 14 e 21 dias após a remoção das folhas.

Peso seco das raízes (g)		
Dias após a remoção das raízes	Plantas sem folhas primárias	Plantas com folhas primárias
7	0,05	0,11
14	0,09	0,25
21	0,24	0,47

8. Detecção de substâncias com atividade giberelínica.

8.1. Extrato

Somente foram detectadas substâncias com atividade giberelínica nos extratos das folhas primárias (nas faixas compreendidas entre os Rfs 0,0 e 0,1 e 0,4 e 0,5) (fig. 16A) e da 3ª. folha trifoliolada (na faixa compreendida entre o Rf 0,3 e 0,4) (fig. 19A).

Inibições significativas foram detectadas somente no extrato da 2ª. folha trifoliolada (nas faixas compreendidas entre os Rfs 0,6 e 0,7) (fig. 18A) e na 4ª. folha trifoliolada (faixas compreendidas entre os Rfs 0,6 a 0,8) (fig. 20A).

A fim de se poder visualizar conjuntamente os dados, os maiores valores (promoção) obtidos nos extratos das folhas primárias, 1ª., 2ª., 3ª. e 4ª. folhas trifolioladas foram reunidos num mesmo histograma (fig. 21A). O mesmo foi feito com os menores valores (inibição) obtidos em cada extrato (fig. 21B).

Embora nem sempre as diferenças tivessem sido significativas, parece haver uma variação no nível de giberelinas (fig. 21A) e dos inibidores (fig. 21B), obtidos no processo de extração, de forma que o nível das giberelinas tende a diminuir das folhas primárias até a 2ª. folha trifoliolada, aonde atinge seu mínimo, para aumentar novamente na 3ª. folha trifoliolada. Inversamente, os inibidores tendem a aumentar das folhas primárias até a 2ª. folha trifoliolada, diminuem na 3ª. folha trifoliolada e atingem seu valor máximo na 4ª. folha trifoliolada.

8.2. Exudato

Foram detectadas substâncias com atividade gibe

Figura 16

Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes nas folhas primárias (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha (B).

As barras verticais, à direita dos gráficos, representam os valores críticos obtidos no teste de Dunnet.

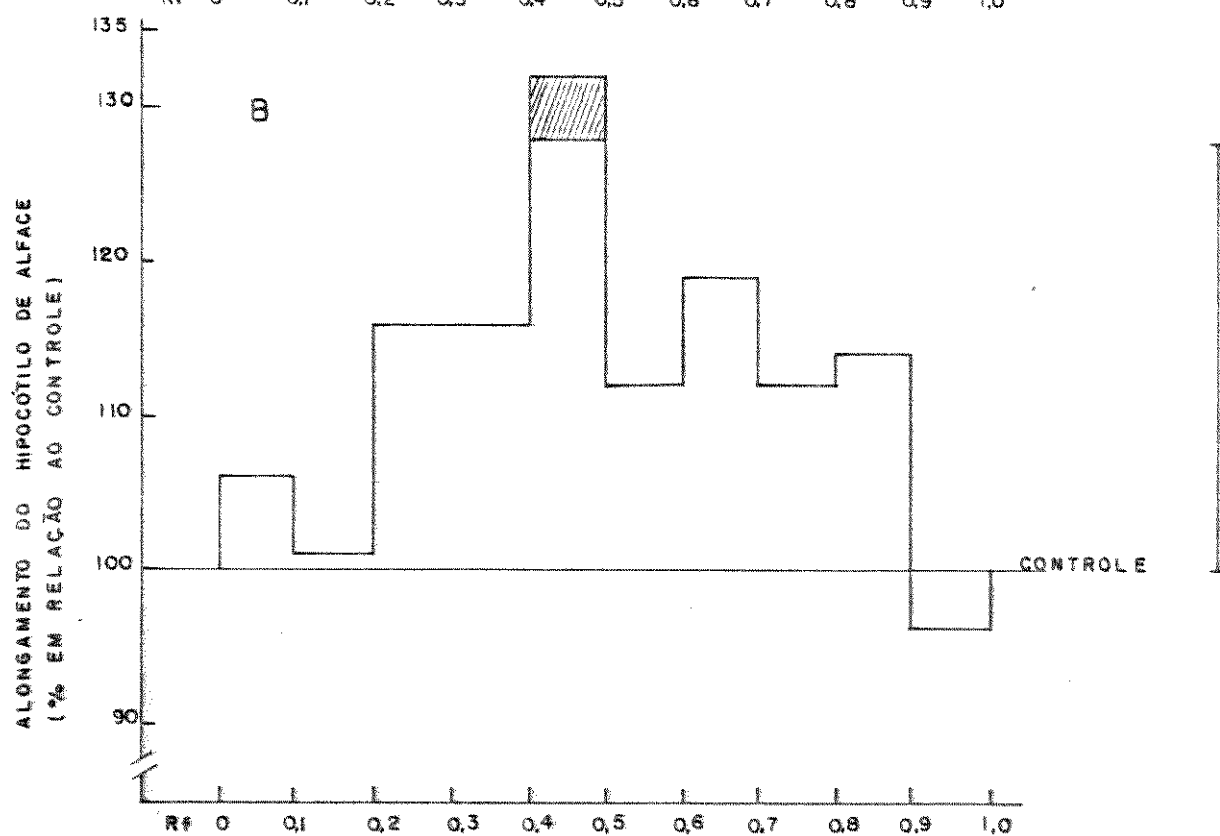
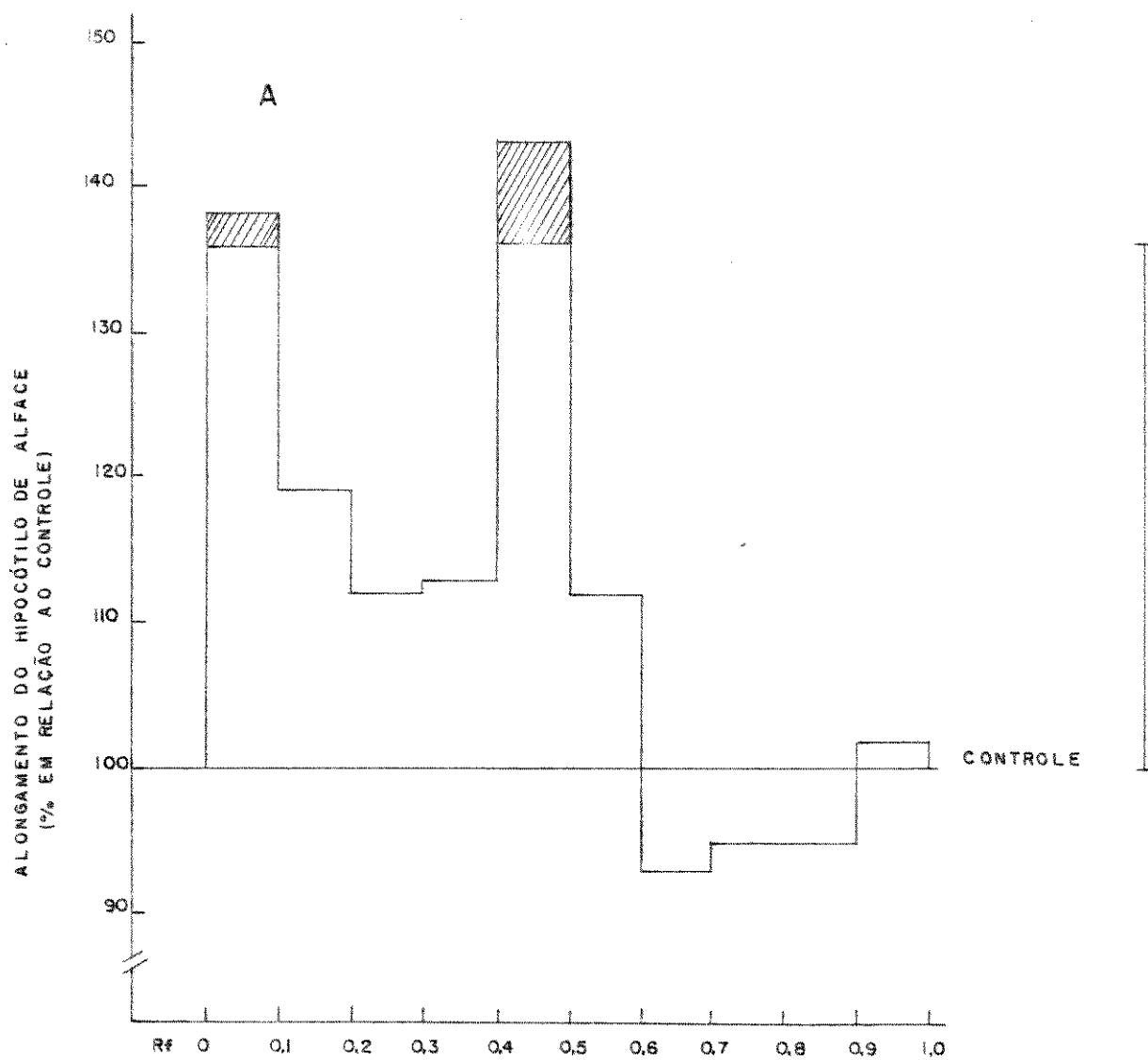


Figura 17

Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes na 1ª. folha trifoliolada (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha(B).

As barras verticais, à direita dos gráficos, representam os valores críticos obtidos no teste de Dunnet.

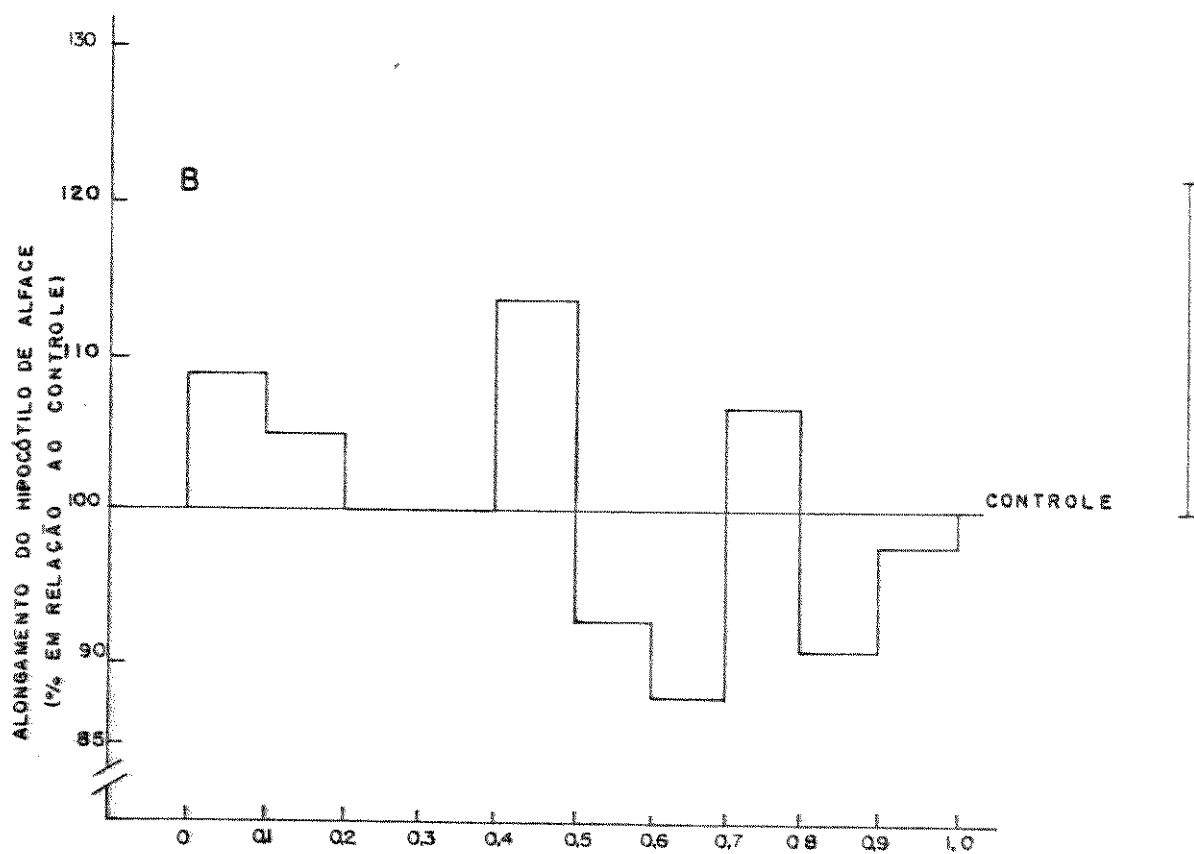
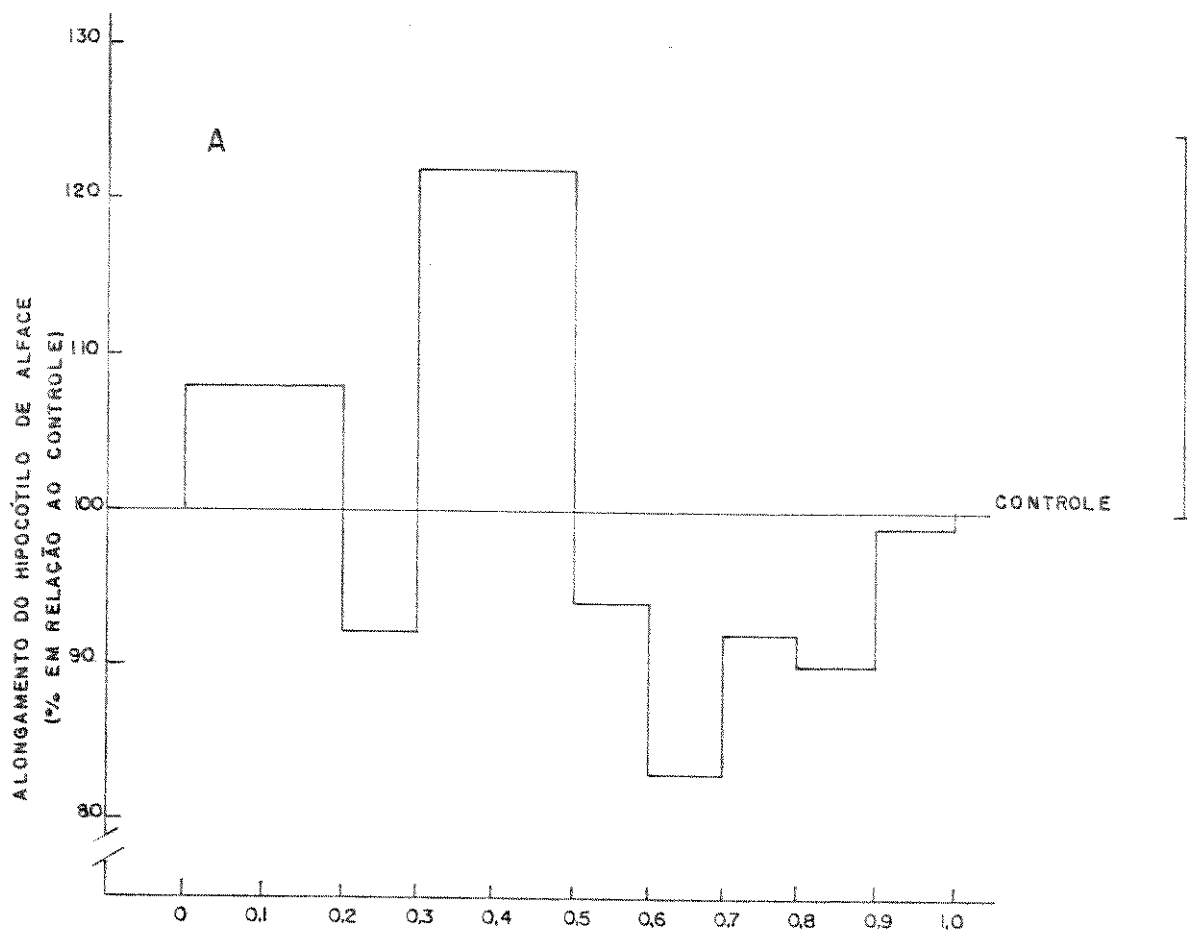


Figura 18

Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes na 2ª. folha trifoliolada (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha(B).

As barras verticais, à direita dos gráficos, representam os valores críticos obtidos no teste de Dunnet.

555A1BC

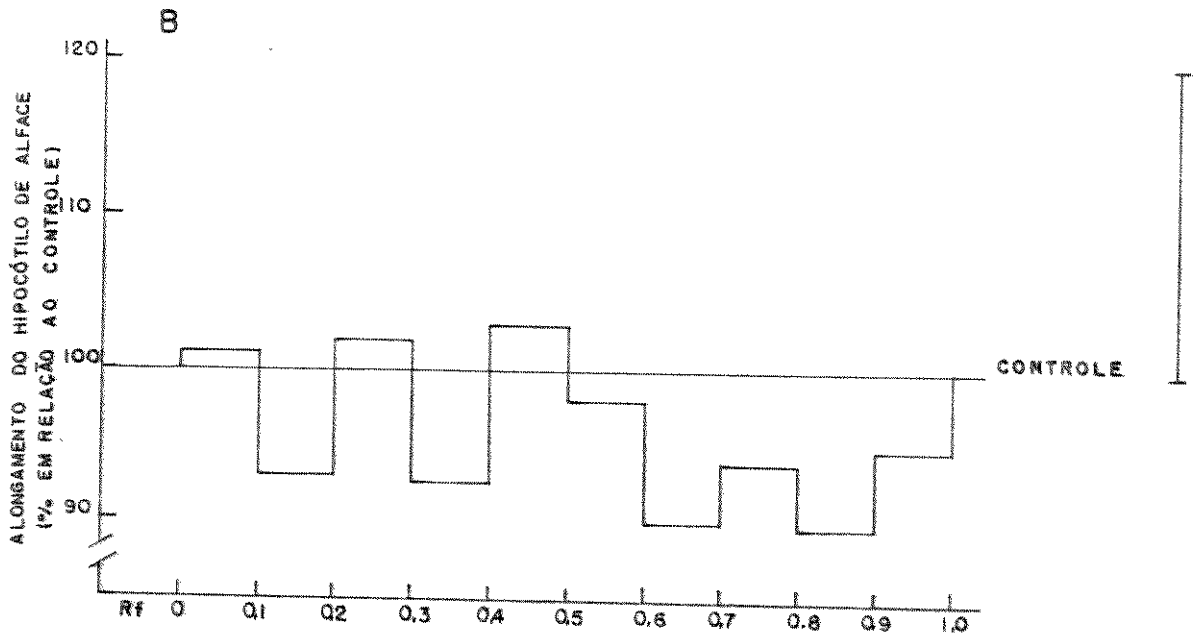
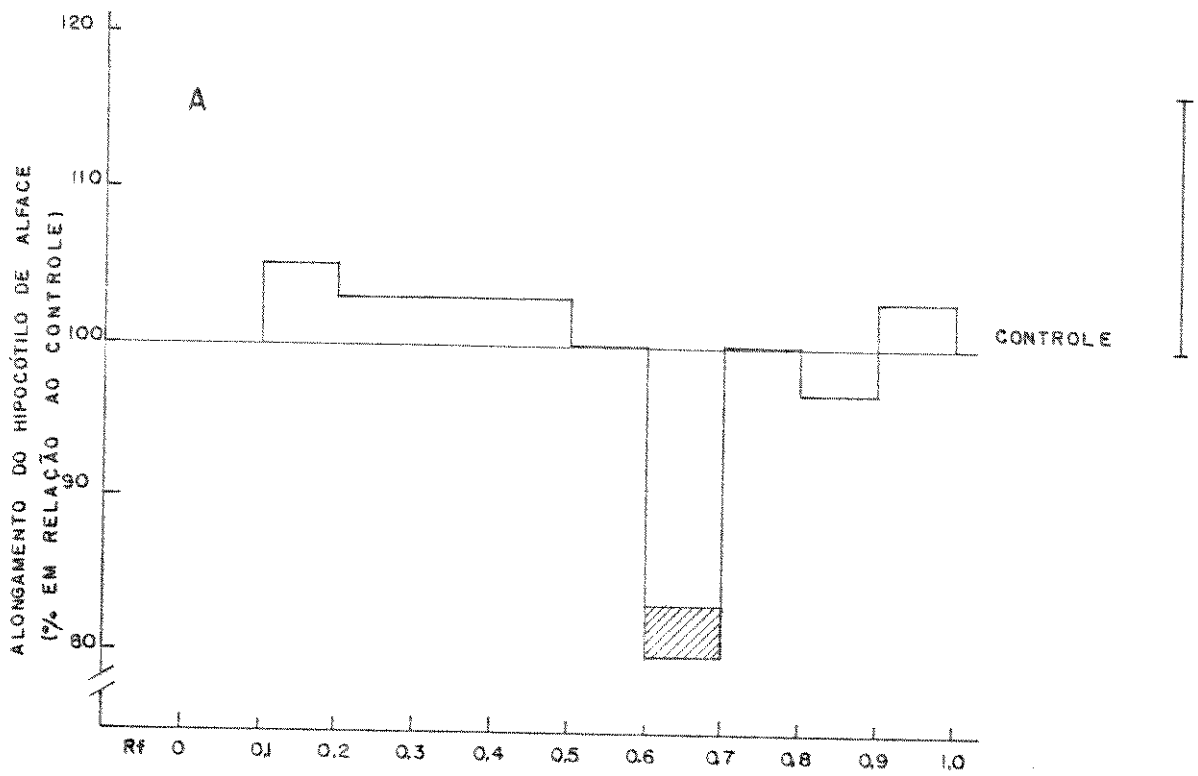


Figura 19

Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes na 3ª. folha trifoliolada (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha(B).

As barras verticais, à direita dos gráficos, representam os valores críticos obtidos no teste de Dunnet.

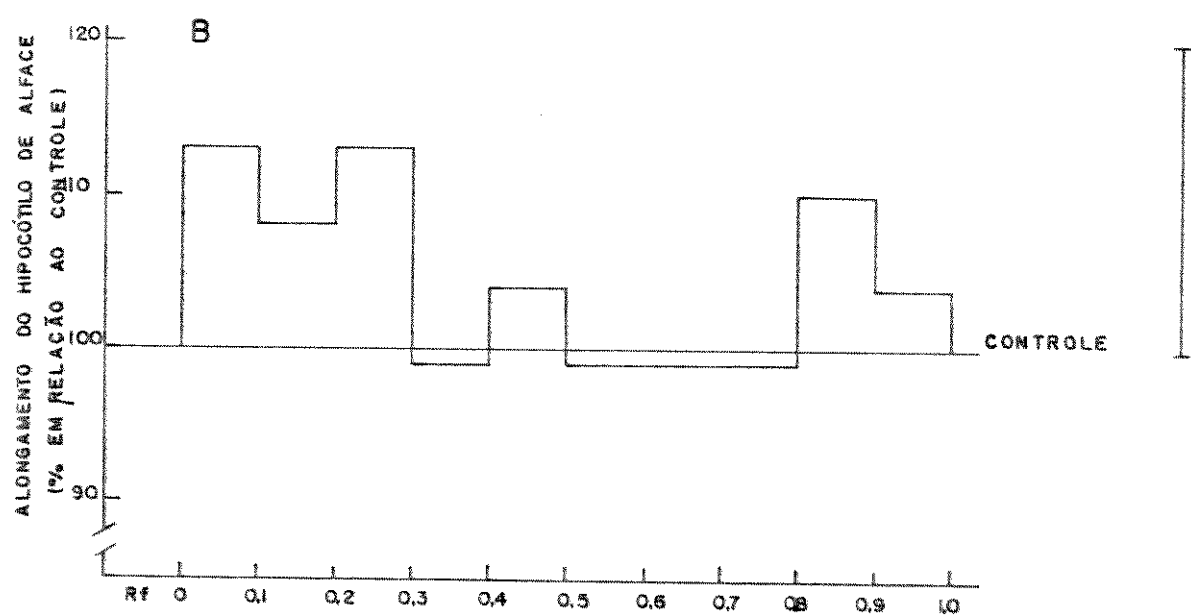
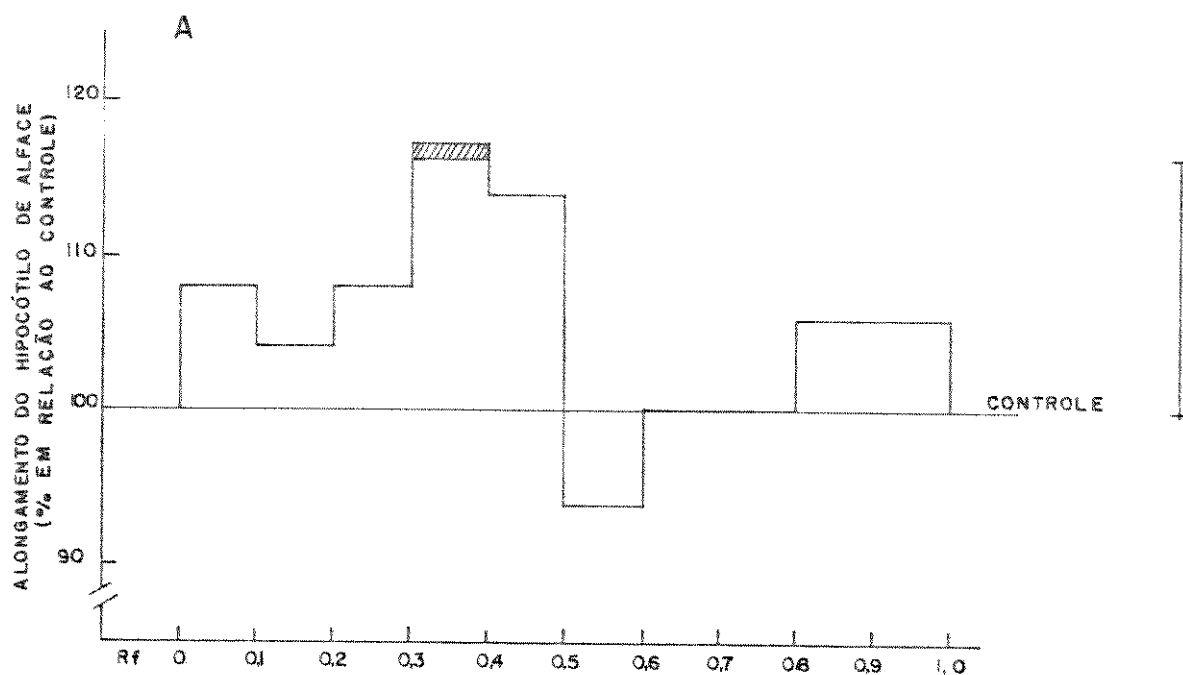


Figura 20

Histograma representativo do bioensaio para detecção de substâncias com atividade giberelínica, presentes na 4ª. folha trifoliolada (A) e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento desta folha(B)

As barras verticais, à direita dos gráficos, representam os valores críticos obtidos no teste de Dunnet.

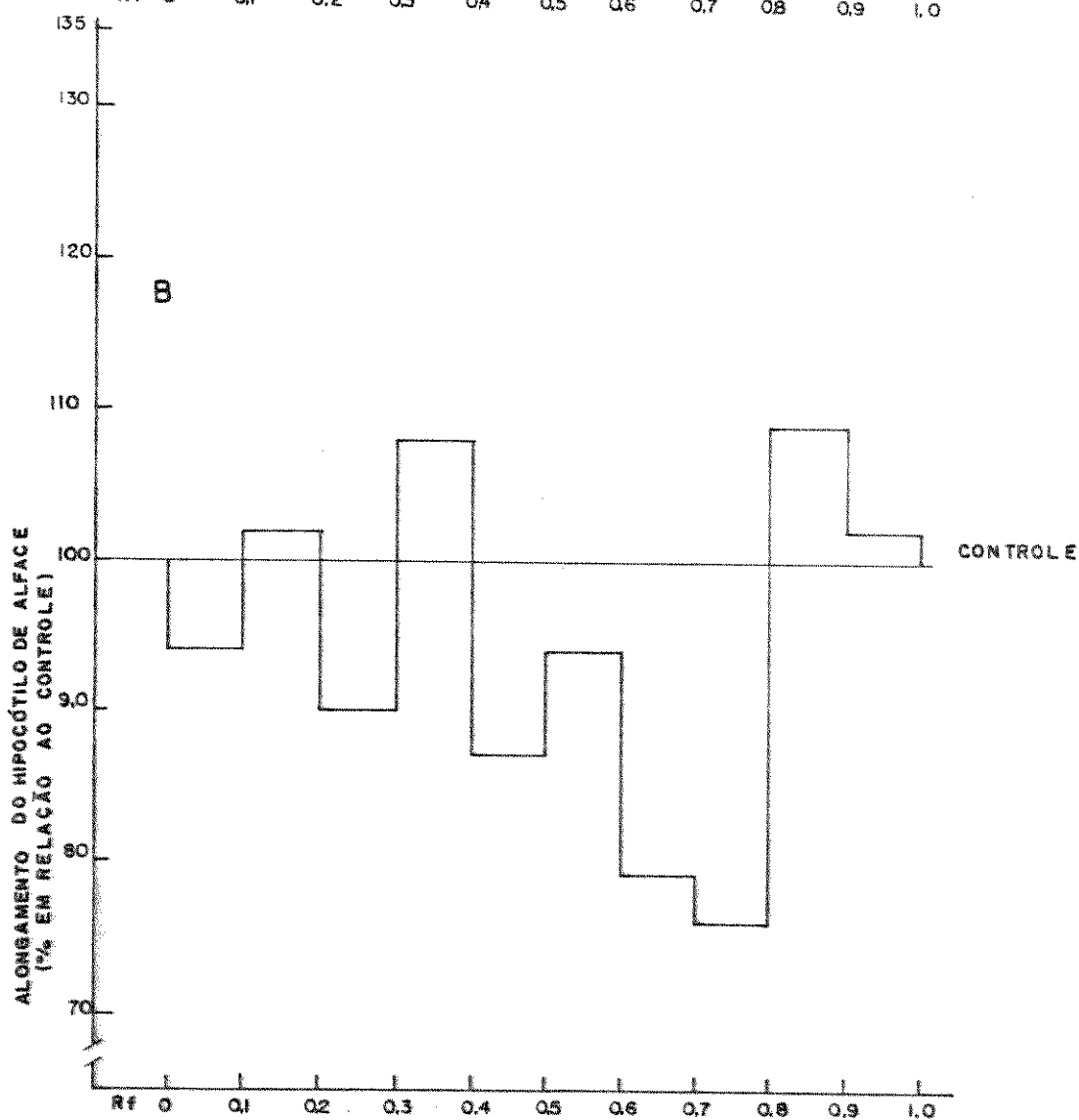
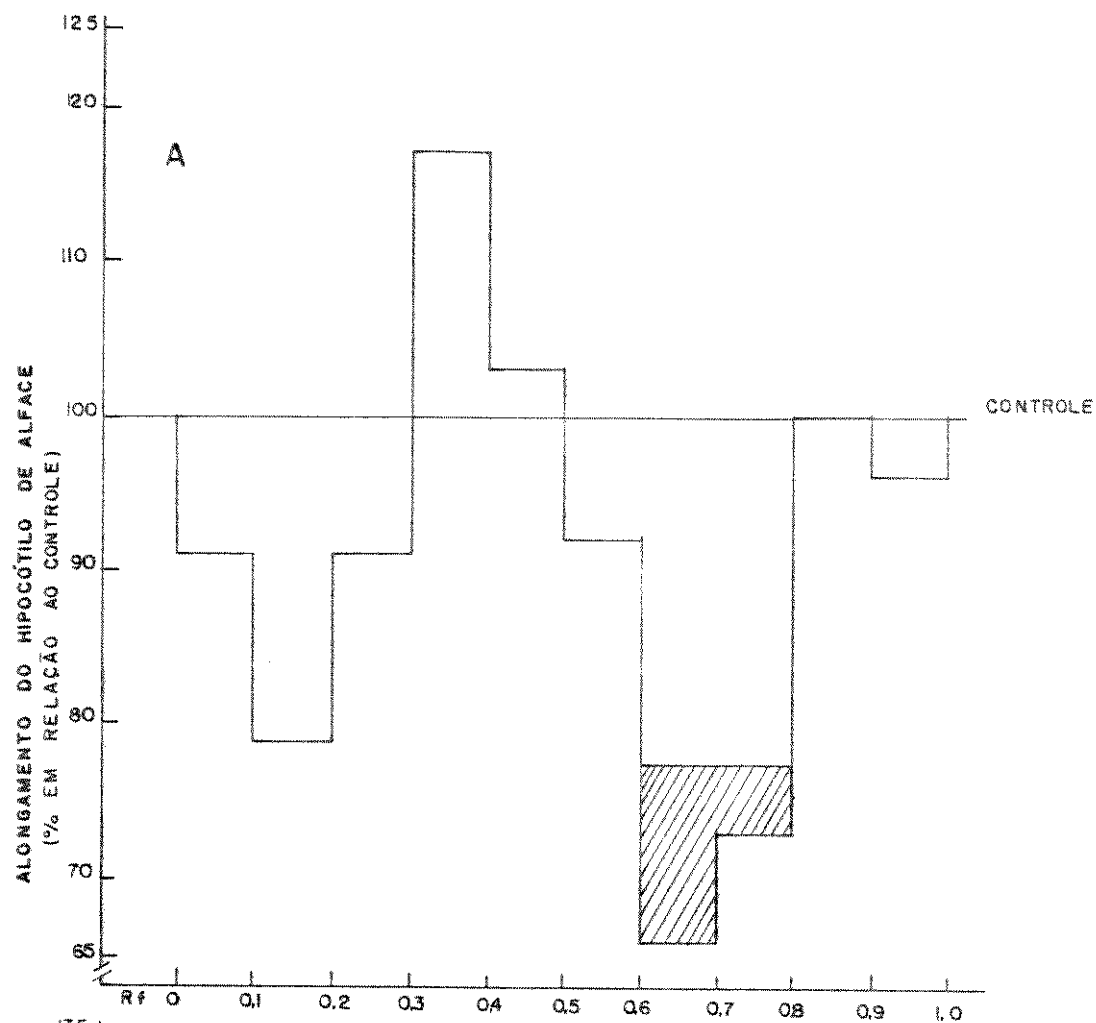
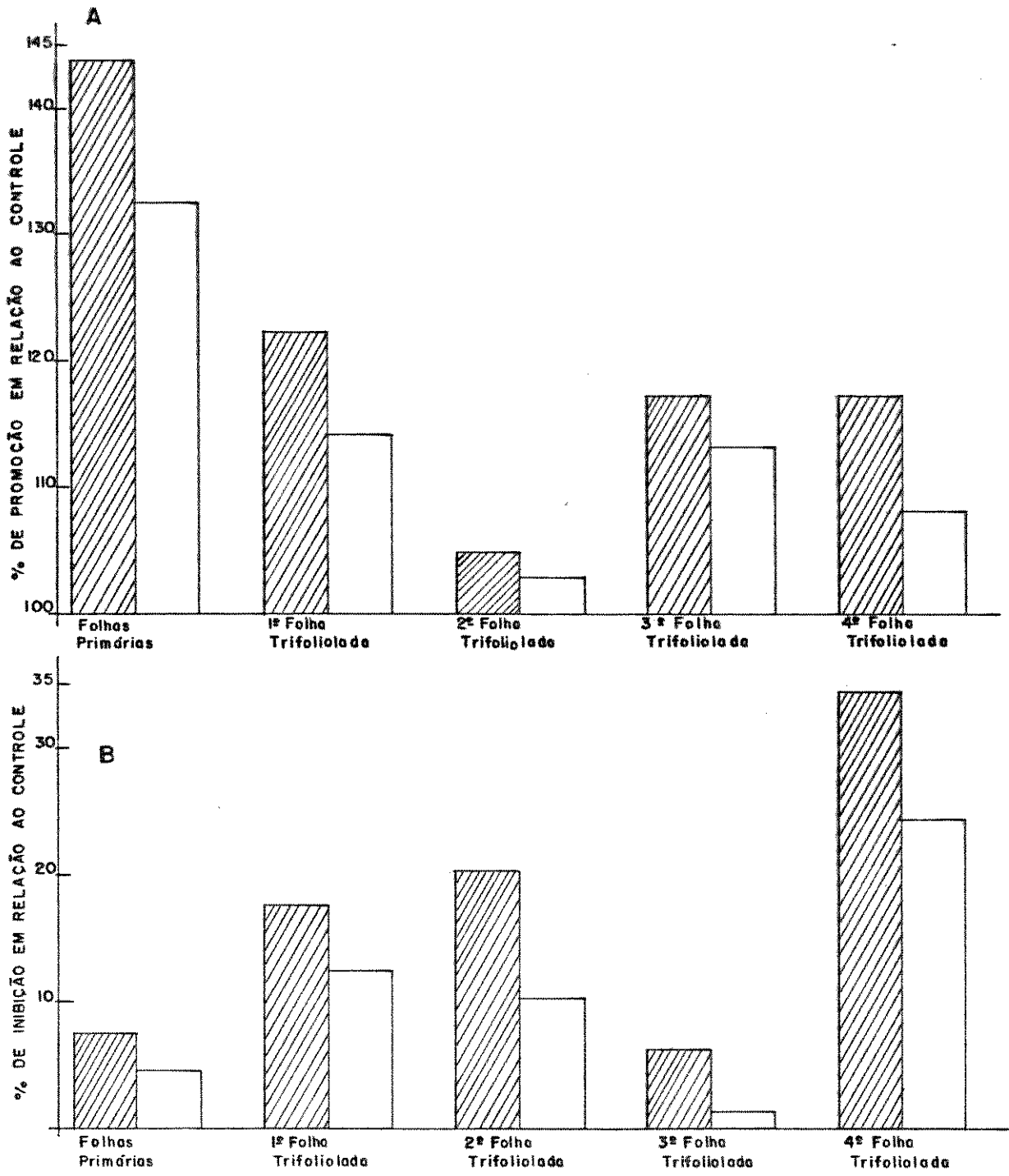


Figura 21

A = maiores valores obtidos (promoção) nos extratos das folhas primárias, 1ª., 2ª., 3ª. e 4ª. folhas trifolioladas e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento destas folhas.

B = menores valores obtidos (inibição) nos extratos das folhas primárias, 1ª., 2ª., 3ª. e 4ª. folhas trifolioladas e no exudato das plantas decapitadas, na época do desdobramento destas folhas.

 = extrato  = exudato



relínica no exudato coletado de plantas decapitadas, na época do desdobramento das folhas primárias (na faixa compreendida entre os Rfs 0,4 e 0,5) (fig. 16B). Não foram encontradas diferenças significativas, quando o exudato foi coletado em outras épocas: desdobramento da 1ª., 2ª., 3ª. e 4ª. folhas trifolioladas (figs. 17B, 18B, 19B e 20B).

Da mesma forma que os dados da extração, os valores máximos (promoção) e mínimos (inibição) obtidos nas coletas de exudato, foram reunidos num único histograma - (figs. 21 A e B), aonde se verifica também uma variação no nível das giberelinas (máxima nas folhas primárias, mínima na 2ª. folha trifoliolada, aumentando na 3ª. folha trifoliolada). Embora os níveis, tanto de giberelinas como de inibidores, sempre fossem menores nos exudatos, quando comparados com os extratos, suas tendências de aumento e diminuição ocorreram de forma semelhante e nas mesmas épocas.

IV. DISCUSSÃO

1. Influência das folhas no alongamento do caule e a natureza desta influência.

Em todos os experimentos realizados, a remoção parcial ou total das folhas primárias, inibiu o alongamento do caule (figs 4, 5, 6 e tabela 1). Este resultado difere do encontrado por Válio e Schwabe (1978) e está de acordo com o obtido por Shein e Jackson (1971). Como as plantas usadas tanto no trabalho de Válio e Schwabe (1978), como neste trabalho, possuíam a mesma idade, a divergência dos resultados pode ser devida às condições experimentais diferentes ou ao uso de cultivares diferentes (cultivar Prince no trabalho de Válio e Schwabe e cultivar Goia no Precoce neste trabalho). Em sua revisão sobre alongamento do caule, Sachs (1965) notou que plantas diferentes, respondiam diferentemente à excisão foliar e Jackson e Field (1972) sugeriram que discrepâncias nos resultados podiam ser devidas ao uso de espécies diferentes. Talvez isto também seja válido para cultivares diferentes.

Em plantas intactas, foi observado um padrão de alongamento do caule, que consistia num alongamento maior a partir do 3º entrenô. Com a remoção das folhas primárias, houve alteração no padrão de alongamento do caule, já que, as diferenças entre os entrenôs tornaram-se menores (fig. 7). Assim, a remoção das folhas primárias não só alterou o alongamento do caule, como também o seu

padrão.

Quando as plantas receberam aplicações de giberelina, houve promoção do alongamento caular (fig. 8). Resultados semelhantes foram obtidos com plantas anãs de ervilha (Wittwer e Dedolph, 1963 e Keller e Coulter, 1982). Ockerse e Galston (1967) obtiveram um alongamento caular maior, quando plantas de ervilha decapitadas, receberam aplicações de ácido giberélico, seguidas por aplicações de ácido indolil-3-acético e concluíram que a ação de giberelina devia preceder a da auxina, no controle do crescimento do caule. Giberelina também promoveu o alongamento caular em plantas normais de ervilha (Purves e Hillman, 1959 e Davies e Ozlay, 1975) e feijão (Chin e Lockart, 1965; Shein e Jackson, 1971 e 1972; Válio e Schwabe, 1978 e Kigel, 1981). Phillips (1971b) concluiu que a giberelina controla o alongamento dos entrenós de *Phaseolus multiflorus* e Bown *et al.* (1975) verificaram que plantas de *Phaseolus coccineus*, crescendo em luz, alongaram quando receberam GA₄. Plantas de girassol também alongaram em presença de giberelina (Phillips, 1972), assim como hipocótilo de plântulas de alface (Katsu e Kamisaka, 1981) e seções de hipocótilo de abóbora (Kazama e Katsumi, 1973).

Outros autores verificaram que aplicações de giberelina promoviam o alongamento do caule de plantas anãs de ervilha e feijão, mas não afetavam o alongamento de plantas com tamanho normal (Taniomoto *et al.*, 1967 e Jindal e Hemberg, 1976).

Neste trabalho, a giberelina não só promoveu o

alongamento do caule, como também adiantou este alongamento. Nas plantas que receberam giberelina foi encontrado um alongamento maior do 3º entrenó, quando comparado com os demais entrenós, enquanto que nas plantas controle este padrão não tinha se estabelecido (fig. 10). Isto pode ser explicado pelo fato deste experimento ter sido encerrado com apenas três semanas e, nesta época, somente os 1ºs entrenós estavam completamente alongados, nas plantas controle.

As plantas que receberam 6BA, com excessão do alongamento do epicótilo, não diferiram significativamente das plantas controle (fig. 8). Resultados semelhantes a este, foram obtidos com plantas de feijão (Shein e Jackson, 1971 e 1972 e Carmi e Heuer, 1981) e ervilha (Sogur e Gamburg, 1979). Em outros trabalhos, aplicações de citocinina promoveram o alongamento dos caules de tomateiro (Railton e Reid, 1973) e feijoeiro (Válio e Schwabe, 1978). Existem ainda experimentos, nos quais citocinina inibiu o alongamento de plantas de feijão (Jackson e Field, 1972) e ervilha (Wittwer e Dedolph, 1963). Sachs (1965) concluiu que a ação das citocininas se assemelha à dos retardantes de crescimento.

Quando foi fornecido com giberelina, a citocinina foi o regulador de crescimento que mais reduziu seu efeito promotor, no alongamento do caule (fig. 9). Lona e Bochi (1957, *apud* Sachs, 1965) também verificaram que a citocinina reduziu o efeito promotor da giberelina, no alongamento dos caules de plantas em roseta. Wittwer e Dedolph (1963) e Válio e Schwabe (1978) estenderam esta ob-

servação para plantas caulescentes.

Das plantas que receberam misturas de reguladores de crescimento, somente as que receberam GA_3+6BA não apresentaram o 3º entrenó significativamente maior que os demais (fig. 11). Uma explicação é o fato das citocininas serem retardantes da senescência (Noodén e Leopold, 1978). Como a giberelina acelerou a senescência das folhas de feijoeiro, fato também observado por Polo (1982), é possível que tenha também adiantado o estabelecimento do padrão de alongamento do caule (fig. 10), enquanto que as citocininas, por retardarem a senescência, podem ter atrasado o estabelecimento deste padrão de alongamento.

As aplicações de auxina não afetaram o alongamento do caule (fig. 8). Na literatura, o papel das auxinas no alongamento do caule, é controvertido. Foi verificado que aplicações exógenas de auxina promoviam o crescimento de segmentos dos caules de ervilha (Purves e Hilmann, 1959), abóbora (Kazama e Katsumi, 1973 e Katsumi, 1976) e feijão azuki (Nishitani *et al.*, 1979). Trabalhando com plantas de ervilha, Davies e Ozlay (1975) verificaram que concentrações de AIA entre 0,5 e 5,0 ng/planta, causaram alongamento, enquanto que concentrações entre 0,1 e 10,0 µg/planta causaram aumento da espessura do caule e, portanto, o tipo da resposta dependia da concentração usada. Outros autores verificaram que a auxina inibiu o crescimento do caule de feijoeiro (Jackson e Field, 1972 e Válio e Schwabe, 1978). Dados semelhantes aos deste trabalho, foram obtidos com plantas de feijão por Shein e Jackson (1971), Phillips (1971b) e Kigel (1981), onde as

aplicações de auxina não afetaram o comprimento do caule.

O CCC (cloreto de 2-cloroetil-trimetil-amônia) reduz ou inibe o crescimento do caule (Dale e Felipe, 1968; Felipe, 1969 a e b e Reid e Crozier, 1970). O que não foi completamente esclarecido ainda é se esta redução ocorre através da inibição da síntese de giberelina, pelo CCC. Reid e Crozier (1970) verificaram que plantas de ervilha tratadas com CCC, embora fossem muito menores que as plantas controle, não apresentavam os níveis de giberelina significativamente diferentes destas últimas. Concluíram que a inibição do crescimento do caule, causada por CCC, não estava relacionada com o seu efeito na biossíntese de giberelina. Da mesma forma, Gotô e Esashi (1975) verificaram que não houve redução significativa - nos níveis das giberelinas extraídas de feijoeiro, após a aplicação de CCC. Por outro lado Dale e Felipe (1968) verificaram que, embora o CCC não tenha impedido o aparecimento de giberelinas em plantas de feijão, houve redução no nível das mesmas e atraso no seu aparecimento e Felipe (1969b) reverteu o efeito inibitório do CCC, no crescimento do caule de feijoeiro, com giberelina exógena.

Jones e Phillips (1967) forneceram evidências - de que o CCC inibe o crescimento do caule, interferindo no nível de giberelinas. Usando a técnica de difusão em ágar, verificaram que a quantidade de giberelinas, provenientes dos ápices de plantas de girassol, tratadas com CCC, era significativamente menor que das plantas controle. Plantas de girassol e ervilha, tratadas com CCC, também apresentam redução das substâncias giberelínicas, na seiva do

xilema (Jones e Phillips, 1967 e Reid e Carr, 1967). Reid *et al.* (1968, *apud* Jones, 1973) também verificaram que, quando seções de folhas de cevada eram expostas à luz monocromática de 660 nm, havia aumento das giberelinas, obtidas por extração. Incubação destas folhas em CCC, causou eliminação destes aumentos. Foi constatado que, em *Fusarium moniliforme* o CCC inibiu a produção de giberelina (Ninnemann *et al.*, 1964 e Barnes *et al.*, 1969).

Quanto antes as plantas receberem CCC, mais cedo o alongamento dos entrenós foi reduzido (fi. 12) e o padrão de alongamento do caule foi retardado (fig.13). Assim, se o CCC de fato inibe a síntese de giberelinas, a giberelina necessária ao crescimento do caule, pode ter sido sintetizada por todas as folhas jovens, desde o desdobramento das folhas primárias, embora não tenham sido detectadas nos extratos da 1ª., 2ª. e 4ª. folhas trifolioladas. Outra possibilidade é a de que somente as folhas primárias e 3ª. folha trifoliolada produziram giberelina, mesmo depois de adultas e quando as plantas receberam CCC esta produção pode ter sido interrompida, prejudicando assim o crescimento posterior do caule. No entanto, os efeitos observados na figura 12 podem não ser apenas o resultado da aplicação do CCC, mas também da remoção das folhas primárias, quando foi feita a aplicação de CCC + lánolina sobre os pecíolos, já que como foi visto, foram detectadas giberelinas nas folhas primárias.

DCMU (3,4-diclorofenil-dimetil-ureia), um inibidor de fotossíntese, foi usado por Válio e Schwabe(1978), para verificar se havia competição por fotossintatos, en

tre as folhas e o caule de plantas de feijão. Concluíram que a inibição do crescimento do caule, exercida pelas folhas primárias, não era devida a competição por fotossintatos, entre os dois órgãos, mas de natureza hormonal. DCMU também foi usado em *Avena sativa* para impedir a formação de açúcares (Thimann *et al.*, 1977 e Trippi e Thimann, 1983) e a 50µM já inibia completamente o aumento de carboidratos (Thimann *et al.*, 1982).

Pela figura 14, verifica-se que os resultados deste experimento estão de acordo com os encontrados por Válio e Schwabe (1978), já que as plantas que receberam DCMU não apresentaram resultados significativamente diferentes das plantas controle. Desta forma, é possível que a contribuição das folhas para o crescimento do caule seja somente hormonal.

Através de extração ou difusão para blocos de ágar, ou as duas técnicas, vários autores mostraram que havia biossíntese de giberelina, em gemas apicais e folhas jovens (Jones e Phillips, 1964 e 1966; Crozier e Reid, 1971 e Phillips, 1971a).

Foram detectadas giberelinas nas folhas primárias e 3ª. folha trifoliolada, enquanto que na 1ª., 2ª. e 4ª. folhas trifolioladas não foi detectada atividade giberelínica em níveis significativos. Além disto, embora nem sempre as diferenças tivessem sido significativas, parece haver uma tendência das folhas primárias e 3ª. folha trifoliolada apresentarem um nível menor de inibidores que as outras folhas. Assim, possivelmente não são as giberelinas, como também inibidores es-

tão envolvidos no controle do alongamento do caule. Estes resultados podem ajudar a esclarecer o fato da ausência das folhas primárias ser a mais prejudicial ao alongamento do caule (fig. 6), já que estas possuem um nível mais alto de giberelinas e tendência a apresentar menos inibidores que as outras folhas.

Como foram detectadas giberelinas também na 3ª. folha trifoliolada (fig. 19A), além da tendência a um baixo nível de inibidores (fig. 21B), experimentos com remoção parcial ou total desta folha, podem ajudar a determinar sua importância no alongamento caulinar e no padrão de alongamento do caule.

Como as aplicações de giberelina promovem o alongamento do caule (fig. 8) e as aplicações de citocinina reduziram o efeito promotor da giberelina (fig. 9), um balanço hormonal pode estar determinando o alongamento do caule e seu padrão e, pelo menos giberelinas, citocininas e inibidores devem estar envolvidos. Este balanço pode ter sido alterado quando as folhas primárias foram removidas e menos giberelina ficou disponível para o crescimento do caule. Shein e Jackson (1971 e 1972) também concluíram que a dominância apical era controlada por um balanço hormonal e que este balanço era alterado quando as folhas eram removidas.

Aplicações de inibidores do crescimento, extração e identificação de citocininas (desde o desdobramento das folhas primárias até o desdobramento da 4ª. folha trifoliolada) poderão ajudar a esclarecer mais o papel fundamental das folhas primárias, no alongamento do caule.

2. Influência das raízes no alongamento do caule.

As raízes têm a função de absorver água e de controlar a absorção de ions inorgânicos e seu transporte para o resto da planta. Além disto as raízes sintetizam hormônios, que se movem para as partes aéreas da planta, influenciando as taxas e a natureza do desenvolvimento do caule (Torrey, 1976).

Vários autores encontraram citocininas nas raízes de plantas de feijão (Engelbrecht, 1972; Carmi e Heuer, 1981; Maass e Klämbt, 1981 e Van Staden e Carmi, 1982).

Giberelinas foram encontradas na seiva do xilema de plantas de tomate (Reid e Crozier, 1971 e Reid *et al.*, 1969), ervilha (Reid e Carr, 1967) girassol (Phillips e Jones, 1964) uvas (Skene, 1967) e peras e maçãs (Jones e Lacey, 1968). Foi extraída das raízes de *Phaseolus coccineus* (Crozier e Reid, 1971) e difundida das raízes de plantas de girassol, para blocos de ágar (Jones e Phillips, 1966).

Embora as raízes possam contribuir com ions e reguladores de crescimento, para o desenvolvimento do caule, pelos resultados obtidos (fig. 15), verifica-se que a remoção de 50% das raízes não afetou o alongamento do caule. O mesmo resultado foi obtido quando se verificou a influência simultânea de folhas primárias e raízes, no alongamento do caule e as raízes foram totalmente removidas (tabela 1).

Foi detectada giberelina no exudato de plantas decapitadas, além de uma menor tendência em apresentar inibidores, na época do desdobramento das folhas primárias (figs. 16B e 21B). No entanto, a coleta de exudato não é

uma indicação direta da síntese de giberelinas pelas raízes, já que foi demonstrado que existe intercâmbio entre a giberelina do xilema e floema, em salgueiro (Bowen e Wareing, 1969). Jones e Phillips (1966) notaram que as giberelinas são tão translocadas, que a sua presença num determinado órgão, não indica que este órgão seja sítio de sua síntese. Assim, a giberelina detectada no exudato pode ter sido produzida pelas raízes, ou pode ter sido produzida pelas folhas primárias e translocada até as raízes, como foi verificado por Crozier e Reid (1971), em *Phaseolus coccineus*.

3. Influência das folhas primárias no crescimento das raízes.

Sombreamento das folhas primárias de plantas de cevada e trigo provocou atraso no aparecimento dos perfílios. Foi concluído que o desenvolvimento dos perfílios era dependente de fotossintatos vindos da 1ª. ou 2ª. folhas (Dale e Felipe, 1972b).

Middleton *et al.* (1980) verificaram que a remoção das folhas primárias de *Phaseolus aureus*, levou a uma redução significativa no número de raízes e Jarvis e Booth (1981) concluíram que as folhas primárias de *Phaseolus aureus*, forneciam fatores para a iniciação e crescimento de raízes adventícias. Sugeriram que a auxina é a substância que emana das folhas para as raízes.

Quando as folhas primárias foram removidas, houve redução significativa do peso seco das raízes (tabela

2). Ainda precisa ser verificado se as folhas primárias contribuem para o crescimento das raízes, fornecendo fotos sintatos, substâncias de crescimento, ou ambos.

V. RESUMO

Chama-se correlação à influência que diferentes partes da planta, ou órgãos, exercem sobre outras partes da mesma. Assim, os órgãos existentes governam o desenvolvimento de outros órgãos.

As folhas podem contribuir para o crescimento do caule fornecendo fotossintatos e reguladores de crescimento, enquanto que as raízes, além de poderem contribuir com reguladores de crescimento, podem controlar o fornecimento de água e ions para o resto da planta.

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência das folhas e raízes, no crescimento do caule de plantas de feijão e a natureza desta influência.

Os experimentos foram feitos na época do desdobramento das folhas e, na maioria deles, as plantas foram mantidas em casa de vegetação, sob fotoperíodo natural. Cresceram em vasos com terra, quando se verificou a contribuição das folhas para o crescimento do caule e em hidropônica, quando se estudou a contribuição das raízes.

A remoção das folhas primárias provocou uma redução no alongamento do caule, e reguladores de crescimento estão envolvidos neste processo. Foi sugerido que um balanço hormonal regula o alongamento do caule, onde as giberelinas atuam promovendo, e inibidores e citocininas atuam inibindo este alongamento. Através de extração, verificou-se que a 3ª. folha trifoliolada e as folhas primá - rias possuem giberelinas e uma menor tendência em apresen-

tar inibidores.

Aplicações de DCMU (um inibidor da fotossíntese) nas folhas, não provocaram inibição do alongamento do caule.

A remoção das raízes não afetou o alongamento do caule e, embora tenha sido encontrada giberelina no exudato da raiz, não se pode concluir sobre a sua síntese neste órgão.

VI. BIBLIOGRAFIA

- BARNES, M.F., LIGHT, E.N. e LANG, A. 1969. The action of plant growth retardants on terpenoid biosynthesis. Planta 88: 172-82.
- BOWEN, M.R. e WAREING, P.F. 1969. The interchange of ^{14}C -Kinetin and ^{14}C -gibberellic acid between the bark and xylem of willow. Planta 89: 108-25.
- BOWN, A.W., REEVE, D.R. e CROZIER, A. 1975. The effect of light on the gibberellin metabolism and growth of *Phaseolus coccineus* seedlings. Planta 126: 83-91.
- BOX, G.E.P., HUNTER, W.G. e HUNTER, J.S. 1978. Statistics for experimenters, ed. J. Wiley, New York 653 p.
- BUTCHER, D.N. 1963. The presence of gibberellin in excised tomato roots. J. Exp. Bot. 14: 204-5.
- CARMI, A. e HEUER, B. 1981. The role of roots in control of bean shoot growth. Ann. Bot. 48: 519-27.
- CARR, D.I., REID, D.M. SKENE, K.G.M. 1964. The supply of gibberellins from the root to the shoot. Planta 69: 382-92.
- CHIN, T.Y. e LOCKHART, J. 1965. Translocation of applied gibberellin in bean seedlings. Am. J. Bot. 52: 828-33.
- CROZIER, A. e REID, D.M. 1971. Do roots synthesize gibberellins?. Can. J. Bot. 49: 967-75.

- DALE, J.E. e FELIPPE, G.M. 1968. The gibberellin content and early seedling growth of plantas of *Phaseolus vulgaris* treated with the growth retardant CCC. Planta 80:288-98.
- DALE, J.E. e FELIPPE, G.M. 1972a. Effects of shading the first leaf on growth of barley plants II. Effects on photosynthesis. Ann. Bot. 36: 397-409.
- DALE, J.E. e FELIPPE, G.M. 1972b. Effects of shading the first leaf on growth of barley plants I. Long-term experiments. Ann. Bot. 36: 385-95.
- DAVIES, E. e OZLAY, O. 1975. Comparative effects of indoleacetic acid and gibberellic acid on growth of decapitated etiolated epicotyls of *Pisum sativum* cv. Alaska. Physiol. Plant. 35: 279-85.
- DÖSTAL, R. 1967. On integration in plants, ed K.V. Thimann, Harvard Un. Press. Cambridge, Massachusetts, 218 p.
- DUNNETT, C.W. 1964. New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 20: 482-91.
- ENGELBRECHT, L. 1972. Cytokinins in leaf-cuttings of *Phaseolus vulgaris* L. during their development. Biochem. Physiol. Pflanz. 163: 335-43.
- FELIPPE, G.M. 1969a. Efeitos do cloreto de 2-cloroetil-trimetil-amônia (CCC) no desenvolvimento das plantas. Arqs. Bot. Est. S. Paulo 4: 173-86.
- FELIPPE, G.M. 1969b. Effects of the growth retardant CCC on growth of stem and roots of *Phaseolus vulgaris*. Phyton

26: 3-15.

FELIPPE, G.M. e DALE, J.E. 1972. The uptake of $^{14}\text{Co}_2$ by developing first leaves of barley and partition of the labelled assimilates. Ann. Bot. 36: 411-18.

FELIPPE, G.M. e DALE, J.E. 1973. Effects of shading the first leaf of barley plants on growth and carbon nutrition of the stem apex. Ann. Bot. 37: 45-56.

FRANKLAND, B. e WAREING, P.F. 1960. Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings. Nature 185: 255-6.

GOODWIN, P.B. e GORDON, A. 1972. The gibberellin-like substances and growth inhibitors in developing straw - berry leaves. J. Exp. Bot. 23: 970-9.

GOTO, N. e ESASHI, Y. 1975. Gibberellins in the embryonic axis of tall and dwarf beans and their changes with initial growth. Plant. Cell. Physiol. 16: 759-66.

HENSON, I.E. e WHEELER, C.T. 1976. Hormones in plants bearing nitrogen-fixing root nodules: the distribution of cytokinins in *Vicia faba* L. New Phytol. 76: 433-9.

HOAD, G.V. e BOWEN, M.R. 1968. Evidence for gibberellin-like substances in phloem exudate of higher plants. Planta 82: 22-32.

HOAGLAND, D.R. e ARNON, D.I. 1938. The water-culture method for growing plants without soil. Univ. Calif. Agric. Expt. Stn. Circ. 347.

- JACKSON, D.I. e FIELD, R.J. 1972. Light and hormone interaction in apical dominance in *Phaseolus vulgaris* L. Ann. Bot. 36: 525-32.
- JARVIS, B.C. e BOOTH, A. 1981. Influence of indole-butyric acid, boron, myo-inositol, vitamin D₂ and seedling age on adventitious root development in cuttings of *Phaseolus aureus*. Physiol. Plant. 53: 213-18.
- JINDAL, K.K. e HEMBERG, T. 1976. Influence of gibberellic acid on growth and endogenous auxin level in epicotyl and hypocotyl tissues of normal and dwarf bean plants. Physiol. Plant. 38: 78-82.
- JONES, R.L. 1973. Gibberellins: their physiological role. Annu. Rev. Plant. Physiol. 24: 571-98.
- JONES, O.P. e LACEY, H.J. 1968. Gibberellin-like substances in the transpiration stream of apple and pear trees. J. Exp. Bot. 19: 526-31.
- JONES, R.L. e PHILLIPS, I.D.J. 1964. Agar-diffusion technique for estimating gibberellin production by plant organs. Nature 204: 497-9.
- JONES, R.L. e PHILLIPS, I.D.J. 1966. Organs of gibberellin synthesis in light-grown sunflower plants. Plant Physiology. 41: 1381-6.
- JONES, R.L. e PHILLIPS, I.D.J. 1967. Effects of CCC on the gibberellin content of excised sunflower organs. Planta 72: 53-9.

- KATSU, N. e KAMISAKA, S. 1981. Effect of gibberellic acid and metabolic inhibitors of DNA and RNA synthesis on hypocotyl elongation and cell wall loosening in dark-grown lettuce seedlings. Plant Cell Physiol. 22: 327-31.
- KATSUMI, M. 1976. Auxin-gibberellin relationships in their effects on hypocotyl elongation of light-grown cucumber seedlings. V. Reversal of N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCCD) induced inhibition of section growth by some adenine nucleotides and gibberellin A₃. Plant Cell Physiol. 15: 315-19.
- KAZAMA, H. e KATSUMI, M. 1973. Auxin-gibberellin relationships in thin effects on hypocotyl elongation of light-grown cucumber seedlings. Response of sections to auxin, gibberellin and sucrose. Plant Cell Physiol. 14: 499-58.
- KELLER, P.L. e COULTER, N.W. 1982. The relationship of endogenous gibberellins to light-regulated stem elongation rates in dwarf and normal cultivars of *Pisum sativum* L. Plant Cell Physiol. 23: 409-16.
- KIGEL, J. 1980. The role of leaves in the regulation of internode elongation in *Phaseolus vulgaris*. Physiol.Plant. 49: 161-8.
- KIGEL, J. 1981. GA and IAA interactions controlling internode growth in decapited plants of *Phaseolus vulgaris* L. Bot. Gaz. 142: 7-12.
- KURAIISHI, S. e MUIR, M. 1962. Increase in diffusible auxin after treatment with gibberellin. Science 137: 760-1.

- MAASS, H. e KLAMBT, D. 1981. On the biogenesis of cytokinins in roots of *Phaseolus vulgaris*. Planta 151: 353-8.
- MC COMB, A.J. 1964. The stability and movement of gibberellic acid in pea seedlings. Ann. Bot. 28: 669-87.
- MC COMB, A.J. e MC COMB, J.A. 1970. Growth substances and the relation between phenotype and genotype in *Pisum sativum*. Planta 91: 235-45.
- MC DOUGALL, J. e HILLMAN, J.R. 1980. Distribution of indole-3-acetic acid in shoots of *Phaseolus vulgaris* L. Z. Pflanzenphysiol 97: 367-71.
- MIDDLETON, W., JARVIS, B.C. e BOOTH, A. 1980. The role of leaves in auxin and boron-dependent rooting of stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. New Phytol. 84:251-9.
- NINNEMANN, H., ZEEVART, J.A.D., KENDE, H. e LANG, A. 1964. The plant growth retardant CCC as a inhibitor of gibberellin biosynthesis in *Fusarium moniliforme*. Planta 61: 229-35.
- NISHITANI, K., SHIBAOKA, H. e MASUDA, Y. 1979. Growth and cell wall changes in azuki bean epicotyls. II. Changes in wall polyssaccharides during auxin-induced growth of excised segments. Plant Cell Physiol. 20: 463-72.
- NOODÉN, L.D. e LEOPOLD, A.C. 1978. Phytohormones and the endogenous regulation of senescence and abscission. In: Phytohormones and related compounds- a comprehensive

- treatise, volume II, ed. Letham, Goodwin e Higgins , North-Holland Biomedical Press, Elsevier, p 329-69.
- OCKERSE, R. e GALSTON, A.W. 1967. Gibberellin-auxin interaction in pea stem elongation. Plant Physiol. 42: 47-54.
- PALMER, M.V., HORGAN, R. e WAREING, P.F. 1981. Cytokinin metabolism in *Phaseolus vulgaris* L. Identification of endogenous cytokinin and metabolism of (8-¹⁴C) dihydrozeatin in stems of decapited plants. Planta 153: 297-302.
- PEREIRA, M.F.A. 1981. Regulation of seedling development in *Phaseolus vulgaris* L. by the cotyledons and primary leaves. Rev. Bras. Bot. 4: 39-42.
- PHILLIPS, I.D.J. 1971a. Maintenance of gibberellin biosynthesis in excised sunflower apical buds by exogenous sucrose or mevalonate. Planta 101: 227-82.
- PHILLIPS, I.D.J. 1971b. Factors influencing the distribution of growth between stem and axillary buds in decapited bean plants. J. Exp. Bot. 22: 465-71.
- PHILLIPS, I.D.J. 1972. Endogenous gibberellin transport and biosynthesis in relation to geotropic induction of excised sunflower shoot-tips. Planta 105: 234-44.
- PHILLIPS, I.D.J. e JONES, R.L. 1964. Gibberellin-like activity in bleeding sap of root system of *Helianthus annuus* detected by a new dwarf pea epicotyl assay and other methods. Planta 63: 269-78.

- POLO, J.M. 1982. Senescência em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- POZSAR, B.I. 1980. Peak levels of endogenous cytokinins after decapitation in leaves of leguminous plants: increase of protein and chlorophyll contents and photosynthetic $^{14}\text{CO}_2$ fixation. Acta Agron. Hung. 29: 47-9.
- PURVES, W.K. e HILLMAN, W.S. 1959. Experimental separation of gibberellin and auxin actions in etiolated pea epicotyl sections. Physiol. Plant. 12: 786-98.
- RAILTON, I.D. e REID, D.M. 1973. Effect of benzyl-adenine on the growth of waterlogged tomato plants. Planta 111: 261-6.
- REID, D.M. e CARR, D.J. 1967. Effects of a dwarfing compound CCC on the production and export of gibberellin-like substances by root systems. Planta 73: 1-11.
- REID, D.M., CROZIER, A. e HARVEY, B.M.R. 1969. The effects of flooding on the export of gibberellins from the root to the shoot. Planta 89: 376-9.
- REID, D.M. e CROZIER, A. 1970. CCC-induced increase in gibberellin levels in pea seedlings. Planta 94: 95-106.
- REID, D.M. e CROZIER, A. 1971. Effect of waterlogging on the gibberellin content and growth of tomato plants. J. Exp. Bot. 22:39-48.
- RUSSEL, S. 1975. Extration, purification and chemistry of

- gibberellins. In: Gibberellins and plant growth, ed. K. N. Krishnamoorthy, Wiley Eastern Limited, New Delhi, p 1-34.
- SACHS, R.M. 1965. Stem elongation. Annu. Rev. Plant. Physiol. 16: 73-96.
- SHEIN, T. e JACKSON, D.I. 1971. Hormone interaction in apical dominance in *Phaseolus vulgaris* L. Ann. Bot. 35:555-64.
- SHEIN, T. e JACKSON, D.I. 1972. Interaction between hormones, light and nutrition on extension of lateral buds in *Phaseolus vulgaris* L. Ann. Bot. 36: 791-800.
- SKENE, K.G.M. 1967. Gibberellin-like substances in root exudate of *Vitis vinifera*. Planta 74: 250-62.
- SOGUR, L.N. e GAMBURG, K.Z. 1979. Effect of removal of the root system or epicotyl on cytokinin content in pea seedlings. Soviet Plant Physiol. 26: 509-11.
- TANIMOTO, E., YANAGISHIMA, N. e MASUDA, Y. 1967. Effect of gibberellic acid on dwarf and normal pea plants. Physiol. Plant. 20: 291-8.
- THIMANN, K.V., SATLER, S.O. e TRIPPI, V. 1982. Further extension of the syndrome of leaf senescence. In: Plant growth substances, ed. P.F. Wareing, England Acad. Press, London, p 539-48.
- THIMANN, K.V., TETLEY, R.M. e KRIVAK, B.M. 1977. Metabolism of oat leaves during senescence. V. Senescence in light.

- Plant Physiol. 59: 448-54.
- TORREY, G.J. 1976. Root hormones and plant growth. Annu. Rev. Plant Physiol. 27: 435-59.
- TRIPPI, V. e THIMANN, K.V. 1983. The exudation of solutes during senescence of oat leaves. Physiol. Plant. 58: 21-8.
- TURGEON, R. e WEBB, J.A. 1973. Leaf development and phloem transport in *Cucurbita pepo*: transition from import to export. Planta 113:179-91.
- VÁLIO, I.F.M. e SCHWABE, W.W. 1978. Correlative growth in seedlings of *Phaseolus vulgaris* L.: inhibition of stem growth by the primary leaves. Ann. Bot. 42: 263-8.
- VAN STADEN, J. e CARMI, A. 1982. The effects of decapitation on the distribution of cytokinins and growth of *Phaseolus vulgaris* plants. Physiol. Plant. 55: 39-44.
- WHEELER, A.W. 1960. Changes in the leaf growth substances in cotyledons and primary leaves during the growth of dwarf bean seedlings. J. Exp. Bot. 11: 217-26
- WHITE, J.C., MEDLOW, G.C., HILLMAN, J.R. e WILKINS, M. B. 1975. Correlative inhibition of lateral bud growth in *Phaseolus vulgaris* L. Isolations of indoleacetic acid from the inhibitory region. J. Exp. Bot. 26: 419-24.
- WHITNEY, M. 1975. Rank test for comparing two treatments. In: Non parametric statistical methods based on ranks, ed.E. L. Lehmann, Holden Day Inc, São Francisco, p 1-52.

WITTWER, S.H. e DEDOLPH, R.R. 1963, Some effects of kinetin
on the growth and flowering of intact green plants. Am.
J. Bot. 50: 330-6.