

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia

**CRESCIMENTO DE *Vernonia cognata* LESS.,
UMA ESPÉCIE HERBÁCEA DE CERRADO**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato a)

Fabiano Cesarino

e aprovada pela Comissão Julgadora.

Fabiano Cesarino

24/06/96 Lilian B. Zaidan
Orientador: Dra Lilian B.P. Zaidan

CAMPINAS
1996

Fabiano Cesarino

**CRESCIMENTO DE *Vernonia cognata* LESS.,
UMA ESPÉCIE HERBÁCEA DE CERRADO**

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

Orientador: Dra Lilian B.P.Zaidan

CAMPINAS
1996

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

| | |
|-----------|-------------------------------------|
| UNIDADE | BC |
| CHAMADA: | UNICAMP |
| | C337c |
| Ex. | |
| COMBO BC/ | 28452 |
| PROC. | 667/96 |
| C | <input type="checkbox"/> |
| D | <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO | R\$ 11,00 |
| DATA | 04/09/96 |
| I* CPD | |

CM-00091845-6

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

C337c Cesarino, Fabiano
Crescimento de *Vernonia cognata* Less., uma
espécie herbácea de cerrado / Fabiano Cesarino.
-- Campinas, SP [s.n.], 1996.

Orientador: Lilian Beatriz Penteado Zaidan.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Biologia.

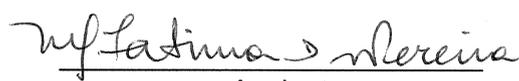
1. Crescimento (Plantas). 2. Vernonia. 3. Cerrados
I. Zaidan, Lilian Beatriz Penteado. II. Universidade
Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

LOCAL E DATA: Campinas, 24 de junho de 1996

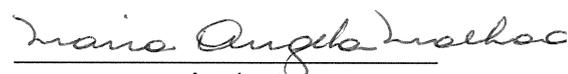
BANCA EXAMINADORA:

TITULARES:

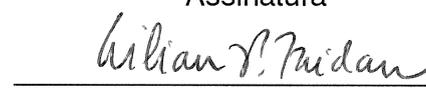
Profa. Dra. MARIA DE FATIMA D.A. PEREIRA


Assinatura

Dra. MARIA ANGELA MACHADO DE CARVALHO


Assinatura

Dra. LILIAN B.P. Z Aidan


Assinatura

SUPLENTE:

Prof. Dr. GIL MARTINS FELIPPE

Assinatura

AGRADECIMENTOS

- . A Dra. Lillian B. P. Zaidan pela orientação;
- . Ao Dr. Gil Felipe pelas sugestões enriquecedoras;
- . A Dra. Maria de Fatima pela gentileza de participar deste desfecho de trabalho;
- . A Dra. Maria Angela Machado de Carvalho pela revisão cuidadosa e pelo trabalho de laboratório, em que me socorria;
- . Ao Instituto de Botânica de São Paulo e seus funcionários, pelas condições fornecidas à execução deste trabalho;
- . Aos colegas da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica pelo apoio;
- . À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e à Capes pelas bolsas que financiaram este período de trabalho.

Dedico à minha esposa Flavia.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1-Introdução..... | 1 |
| 2-Objetivos..... | 7 |
| 3-Material e Métodos..... | 8 |
| 3.1-Material vegetal..... | 8 |
| 3.2-Germinação..... | 8 |
| 3.3-Obtenção de plântulas..... | 10 |
| 3.4-Condições de crescimento..... | 11 |
| 3.5-Parâmetros de crescimento..... | 14 |
| 3.6-Parâmetros derivados..... | 15 |
| 3.7-Floração..... | 16 |
| 3.8-Extração de frutanos..... | 16 |
| 3.9-Análises estatísticas..... | 19 |
| 4-Resultados..... | 20 |
| 4.1-Germinação..... | 20 |
| 4.2-Floração..... | 27 |
| 4.3-Crescimento..... | 28 |
| 4.4-Análise de crescimento..... | 45 |
| 4.5-Análise preliminar dos frutanos..... | 54 |
| 5-Discussão..... | 56 |
| 6-Resumo..... | 66 |
| 7-Bibliografia..... | 68 |

1-INTRODUÇÃO

A procura por terras de preço reduzido, com longas extensões planas, tornando possível a mecanização da agricultura, e próximas aos grandes centros consumidores, faz do cerrado um bioma ameaçado. Sua importância pode ser avaliada tanto pela área que ocupa no território brasileiro (1,8 milhão de quilômetros quadrados), como pela biodiversidade que possui, só comparável à das florestas tropicais úmidas, e que ainda hoje permanece praticamente inexplorada (Coutinho,1992).

Cerrado é a denominação geral de uma ampla gama de fisionomias que vão dos campos sujos, dominados por gramíneas, aos cerradões onde predominam espécies arbóreas, porém sempre com uma composição básica comum, ou seja, a existência de um estrato herbáceo, um estrato arbustivo e um estrato arbóreo. Este tipo de vegetação ocorre sobre tipos variados de solos, geralmente pobres e lixiviados, com alta concentração de alumínio (Coutinho,1992).

A maior parte dos cerrados desenvolve-se sob clima tropical. As médias mensais de temperatura não variam muito no decorrer do ano, mas a distribuição das chuvas apresenta acentuada variação, concentrando-se nos meses de novembro a março. De maio a setembro, ocorre um período de seca que coincide com os meses mais frescos do inverno. A curta duração e a intensidade média desse período de seca permitem incluir a maioria dos cerrados, segundo a classificação internacional das savanas, no grupo das savanas tropicais úmidas (Coutinho,1992). O período de seca corresponde, ainda, aos meses em que os dias são mais curtos, ou

seja, o fotoperíodo natural chega a ser cerca de duas horas e trinta minutos mais curto que os dias mais longos do verão (ver Smithsonian Meteorological Tables, Table 171, 6th ed., 1951).

Para as plantas do estrato herbáceo / subarbustivo, que de um modo geral apresentam raízes superficiais distribuídas nos primeiros 10-20cm do solo, o período de seca provoca o dessecamento e a morte de suas partes aéreas. Daí a importância do desenvolvimento de sistemas subterrâneos, tais como rizóforos e xilopódios, que permitem às plantas atravessarem tal período, configurando uma importante adaptação morfológica e/ou fisiológica às condições ambientais prevalentes (Paviani, 1987).

Também em espécies arbóreas a existência de xilopódios vem assegurar a rebrota após a perda da parte aérea durante a seca ou passagem do fogo. Medina & Bilbao (1991) relatam que diversas espécies de leguminosas das savanas venezuelanas podem alocar mais de 30% de sua biomassa total nos órgãos subterrâneos, sendo a porcentagem de nitrogênio e fósforo acumulados nesses órgãos proporcional à sua biomassa.

É bem estabelecido também que a estratégia de crescimento de diversas espécies arbóreas de cerrado envolve como primeiro e mais forte dreno, a parte subterrânea (Godoy & Felipe, 1992b, Arasaki, 1993; Paulillo & Felipe, 1994; Sasaki, 1995) o mesmo ocorrendo com algumas espécies herbáceas (Isejima et al, 1991; Figueiredo, 1993). Porém não é esta a única estratégia de crescimento, ocorrendo também o maior crescimento da parte aérea, seguido de floração e do desenvolvimento da parte subterrânea como em *Vernonia oxylepis*

(Figueiredo, 1994).

Ainda que pesem razões de ordem climática e pedológica, Arasaki (1993) sugere que a maior proporção de matéria destinada às raízes durante o crescimento inicial de *Kielmeyera coriacea* deve-se ao padrão de crescimento fixado no pool genético da população por ele estudada, pois mesmo em condições ótimas é à raiz que se destina a maior parte dos produtos da fotossíntese.

Foi com o intuito de detectar espécies vegetais nativas possuidoras de órgãos subterrâneos com potencial de utilização na alimentação ou para fins medicinais, que Figueiredo-Ribeiro et al. (1986) realizaram uma primeira triagem identificando e quantificando compostos de reserva existentes em diversas espécies. Esse trabalho revelou aspectos interessantes de fisiologia e bioquímica vegetal que poderiam ser aprofundados, principalmente em relação ao metabolismo de frutanos.

Frutanos são polímeros de D-frutose que consistem de séries homólogas de oligo e polissacarídeos não redutores, onde cada membro da série contém um resíduo a mais de frutose que o membro anterior (Edelman & Jefford, 1968). Esses polímeros de frutose carregam um resíduo de D-glicose unido por uma ligação α 1,2 que geralmente está localizado na extremidade da cadeia (Kandler & Hopf, 1980). Nos vegetais superiores os frutanos são encontrados principalmente em órgãos subterrâneos de reserva, não sendo porém restritos a essas estruturas. São encontrados, em menores quantidades em caules, folhas, inflorescências, frutos e sementes (Meier & Reid, 1982). A presença de frutanos parece constituir uma adaptação de plantas expostas periodicamente a baixas temperaturas e períodos de baixa disponibilidade de água (Pontis, 1990), como

ocorre no período de inverno em áreas de cerrado (Eiten, 1972). Ao contrário do amido, os frutanos encontram-se solúveis no vacúolo celular ou em estado coloidal, altamente hidratados, o que facilita sua mobilização na planta e sugere seu envolvimento em processos de osmorregulação (Edelman & Jefford, 1968).

Triagens realizadas em plantas herbáceas da família Asteraceae (Compositae) mostraram a presença de frutanos em várias espécies ocorrentes em cerrado (Figueiredo-Ribeiro et al., 1986; Tertuliano & Figueiredo-Ribeiro, 1993).

A reprodução sexuada nos vegetais é sincronizada, de modo a permitir que processos morfogênicos sejam acionados, dependendo das condições ambientais existentes. Assim, observam-se respostas fotoblásticas e de dormência, permitindo que as sementes germinem e as plântulas se estabeleçam quando é maior a probabilidade de se desenvolverem e chegarem à maturidade reprodutiva. Roberts & Tofferdel (1981) exemplificam essa periodicidade.

Felippe & Silva (1984), em sua revisão sobre germinação de espécies de cerrado, citam *Porophyllum lanceolatum* e *Bidens gardneri* como espécies que apresentam fotoblastismo positivo a 25°C, muito embora a maioria das sementes das espécies estudadas seja indiferente à luz. O período de viabilidade, por sua vez, varia bastante, desde 125 dias em *Zeyhera digitalis* (Joly & Felippe, 1979) a mais de 5 anos, em *Dalbergia miscolobium* (Sasaki & Felippe, 1992).

Os processos de desenvolvimento vegetal estão intimamente relacionados à luz (Salisbury & Ross, 1992), tanto por sua importância na produção de fotossintetizados como por representarem um sinal seguro de mudança de estação, garantindo à planta preparar-se para condições adversas como geadas,

deficiência hídrica e altas temperaturas (Vince-Prue, 1975). Esta adaptação dos ciclos vegetais às alterações no fotoperíodo ao longo do ano ocorre sob comprimentos de onda diferentes daqueles necessários à fotossíntese (400-550 nm); ocorrem em 660 nm e 730 nm respectivamente nos picos de absorção máxima da luz vermelha e vermelho longo, indicando o envolvimento do sistema fitocromo nesse processo (Vince-Prue, 1975).

No que se refere à floração, as respostas são variadas, sendo a condição de luminosidade que promove a floração em algumas espécies a causa da inibição em outras, existindo ainda espécies indiferentes a essas condições. Às plantas que florescem sob períodos de luz maiores que um período crítico damos o nome de plantas de dias longos; às plantas que florescem sob períodos de luz menores que um período crítico, damos o nome de plantas de dias curtos, existindo ainda plantas indiferentes ao fotoperíodo e outras que precisam de dias longos seguidos de dias curtos ou ainda, de dias curtos seguidos de dias longos (Salisbury & Ross, 1992).

Enquanto fotoperíodo e temperatura não variem drasticamente durante o ano em regiões tropicais, certas espécies são, no entanto, suficientemente sensíveis para responder a pequenas mudanças nestes fatores, como por exemplo, alguns cultivares de **Oryza** (Njoku, 1958; Dore, 1959; Katayama, 1964); também tem se atribuído o florescimento à chegada das primeiras chuvas (Mantovani & Martins, 1988).

Espécies tropicais não cultivadas ou de interesse ornamental têm sido estudadas em relação ao fotoperíodo (Válio, 1966; Aleixo & Válio, 1976; Válio &

Rocha,1977;Stubblebine et al.,1978; Kirszenzaft & Válio,1979; Zaidan et al.,1991). Zaidan & Felipe (1994) apresentam uma revisão do que já foi estudado em relação à floração em plantas de cerrado. Por esse trabalho vê-se que poucas espécies foram estudadas e é claramente desejável ampliar o número delas, tanto para confirmar padrões conhecidos de comportamento, como para estabelecer novos, que poderiam facilitar outras abordagens na pesquisa de processos fisioecológicos.

Em **Bidens gardneri**, Zaidan & Felipe (1981) encontraram características de estenofotoperiodismo pois a espécie floresce apenas entre 12 e 16 horas,o que foi posteriormente confirmado por Klein et al. (1992). Isejima et al. (1991), estudando a partição de matéria seca em **Viguiera discolor**, observaram maior acúmulo no órgão subterrâneo na fase de floração, ou seja, em dias curtos de 8 e 10 horas. Cesarino et al. (1994) relataram que **Viguiera aff. robusta** no primeiro ciclo de crescimento floresce em fotoperíodos curtos e longos, porém apresenta resposta quantitativa, dias curtos antecipando o processo de floração, apesar de formar um número menor de flores por capítulo nessa condição fotoperiódica.

A ocorrência de **Vernonia cognata** Less. em áreas de cerrado já havia sido observada por Leitão Filho (1972), sendo sua presença também sido notada em áreas abertas, como beiras de estradas e terrenos baldios, florescendo durante os meses de fevereiro a abril (Lorenzi, 1991). **Vernonia cognata** é uma planta herbácea, perene, que se reproduz sexualmente através de sementes (aquênios), produzidas em grande quantidade, e também por reprodução vegetativa, por meio da brotação de gemas quando ocorre a divisão do rizóforo, denominação dada ao seu órgão subterrâneo (Tertuliano & Figueiredo-Ribeiro, 1993), à semelhança do

nome dado por Menezes et al. (1979) ao órgão de reserva de espécies do gênero *Vernonia*.

2- Objetivos

O presente trabalho teve por objetivo verificar a sobrevivência e os efeitos do fotoperíodo no crescimento e no acúmulo de frutanos em plantas de *Vernonia cognata* (órgão subterrâneo e parte aérea) quando cultivadas em solos mais ricos do que os de cerrado, como o solo de mata do Instituto de Botânica. Como garantia da manutenção de um estoque de plantas verificaram-se também algumas condições de germinação e o período de viabilidade das sementes armazenadas.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Material Vegetal

Foram utilizadas plantas de *Vernonia cognata* Less., obtidas a partir de aquênios (aqui utilizados como sementes) coletados no Horto Florestal da FEPASA, no município de São Carlos (SP), em janeiro de 1993. Também procedeu-se à coleta de alguns indivíduos dessa população de *V. cognata* que foram depositados no herbário Maria Eneyda P. Kauffman Fidalgo (SP), do Instituto de Botânica de São Paulo, sob número de coletor 001 e 002 (Fabiano Cesarino) e respectivos números de registro: SP 276.636 e SP 276.638. Na figura 1, estão ilustrados a planta e um detalhe de seu órgão subterrâneo.

3.2- Germinação

As sementes foram conservadas em frascos escuros à temperatura ambiente ($25 \pm 4^\circ\text{C}$) e a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ e sua viabilidade determinada pelo teste de tetrazólio (Delouche et al., 1962). As sementes intactas previamente embebidas em água destilada por 48 horas eram cobertas com a solução de tetrazólio 1% durante 72 horas, no escuro e a 25°C constantes, seguindo-se observação sob microscópio estereoscópico. Foram consideradas viáveis as sementes com embrião rosado, que neste caso foram as que geralmente apresentavam coloração da casca mais escura. Por esta razão para a germinação apenas sementes de cor mais escura foram colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com duas folhas de papel de filtro umedecidas com 5 ml de água destilada.



Figura 1. Plantas de *Vernonia cognata* com aquênios, no canto inferior esquerdo detalhe de seu órgão subterrâneo (rizóforo).

Foi averiguado o efeito de armazenamento nas duas condições descritas acima na germinação sob temperaturas constantes de 15°C e 25°C, sob condições constantes de luz branca, acompanhadas por um espectralradiômetro LICOR 1800, e cuja média foi de $437\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ na altura das placas, e escuro constante com as placas revestidas por dois sacos plásticos pretos que impediam totalmente a penetração da luz. Todos os tratamentos consistiram de 5 repetições de 50 aquênios. A germinação foi determinada a cada 2 meses em câmaras de germinação BOD FANEM, por um período de 2 anos.

As placas eram observadas diariamente, sendo anotado o número de sementes com protrusão da radícula, aqui considerada germinação. Sob escuro constante, o acompanhamento do processo de germinação se deu sob luz verde de segurança (Labouriau, 1976).

3.3- Obtenção de plântulas

As sementes que germinaram permaneceram nas placas de Petri e foram mantidas à temperatura constante de 25°C em câmara BOD FANEM sob luz branca constante de irradiância já citada acima. As plântulas com os cotilédones expandidos (2 dias após a germinação) foram então transferidas para bandejas contendo vermiculita e cobertas com uma placa de vidro, mantidas úmidas e à sombra, e aí permaneceram durante aproximadamente 2 meses até a transferência para vasos plásticos individuais de 1 dm³ de capacidade contendo solo de mata do Instituto de Botânica cuja composição encontra-se na tabela 1.

Tabela 1. Análise química do solo de mata do Instituto de Botânica utilizado no crescimento de plantas de *Vernonia cognata*. Seção de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas do Instituto Agronômico de Campinas.

| P_{resina} $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ | Matéria orgânica (%) | Índice de acidez (pH CaCl_2) | K | Ca | Mg | H+Al meq/100 cm^3 | SB | CTC | V % |
|---|-------------------------|---|------|-----|-----|-------------------------------|-----|------|--------|
| 25 | 6,4 | 5,1 | 0,28 | 5,7 | 1,0 | 3,4 | 7,0 | 10,4 | 67 |

Onde:

H+Al = acidez potencial

SB = soma de bases

CTC = capacidade de troca catiônica: SB+ (H+Al)

V = saturação de bases: SB/CTCx100

3.4 Condições de crescimento

Os vasos contendo as plântulas foram mantidos à sombra durante uma semana para adaptação e então levados para a casa de vegetação no Instituto de Botânica, em São Paulo (23°33' S, 46°37' W, 756 m) sob condições naturais de fotoperíodo (12 a 13,5 h diárias de luz) ou em fotoperíodos diários de 8h, 14h e 20h. O experimento foi iniciado com plantas de aproximadamente 2 meses de idade, tempo que a partir daqui será denominado de 0. Todas as plantas receberam 8 horas de iluminação natural em casa de vegetação e complementação do período de luz em câmaras controladas automaticamente através de relógios elétricos. A iluminação dentro das câmaras foi obtida por uma lâmpada fluorescente "luz do dia" e uma lâmpada incandescente de 100 watts, perfazendo uma iluminância total de 3,5 $\mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Klein et al., 1992).

A temperatura foi medida diariamente com termômetros de máxima e mínima, tanto na casa de vegetação (figuras 2 e 3) como nas câmaras de fotoperíodo (figura 3), durante o período em que foram realizados os experimentos.

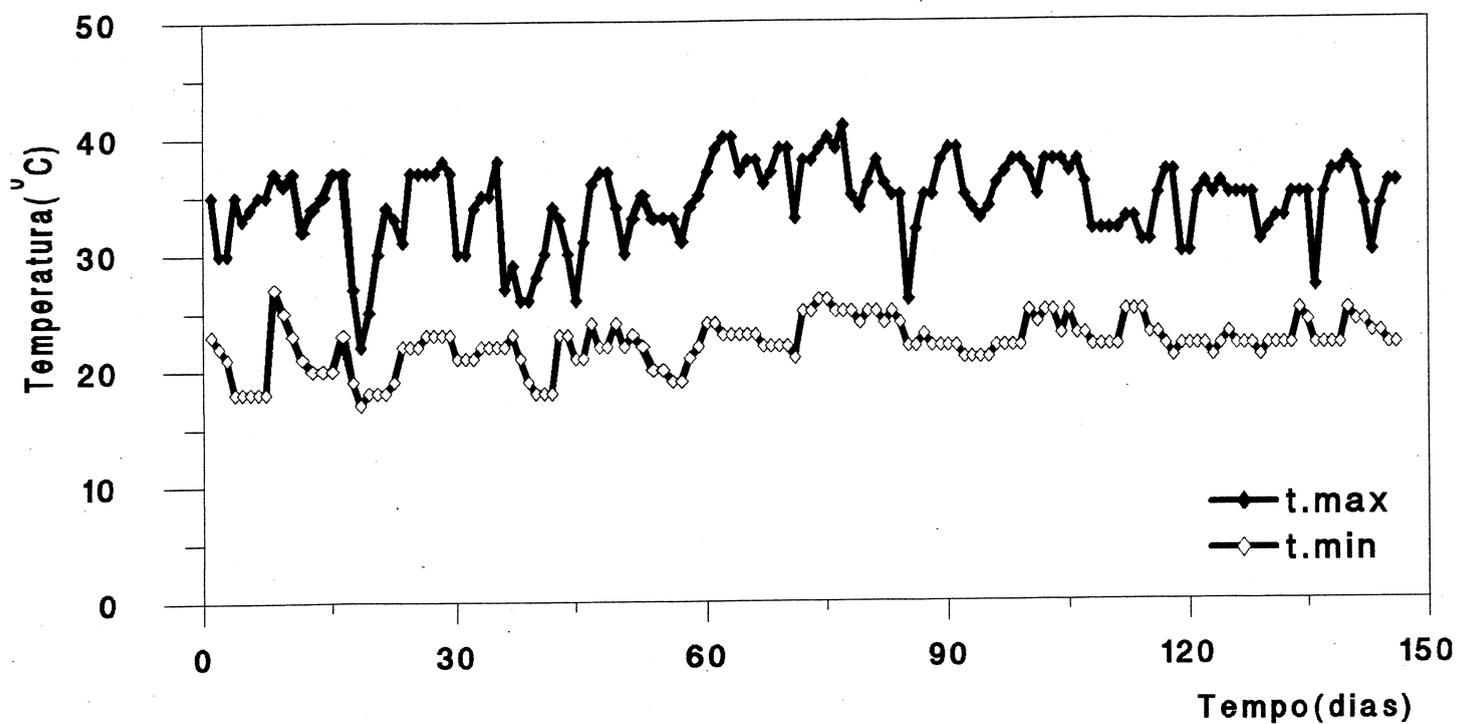


Figura 2. Temperaturas máximas e mínimas na casa de vegetação, no período de 19 de outubro de 1992 a 15 de março de 1993.

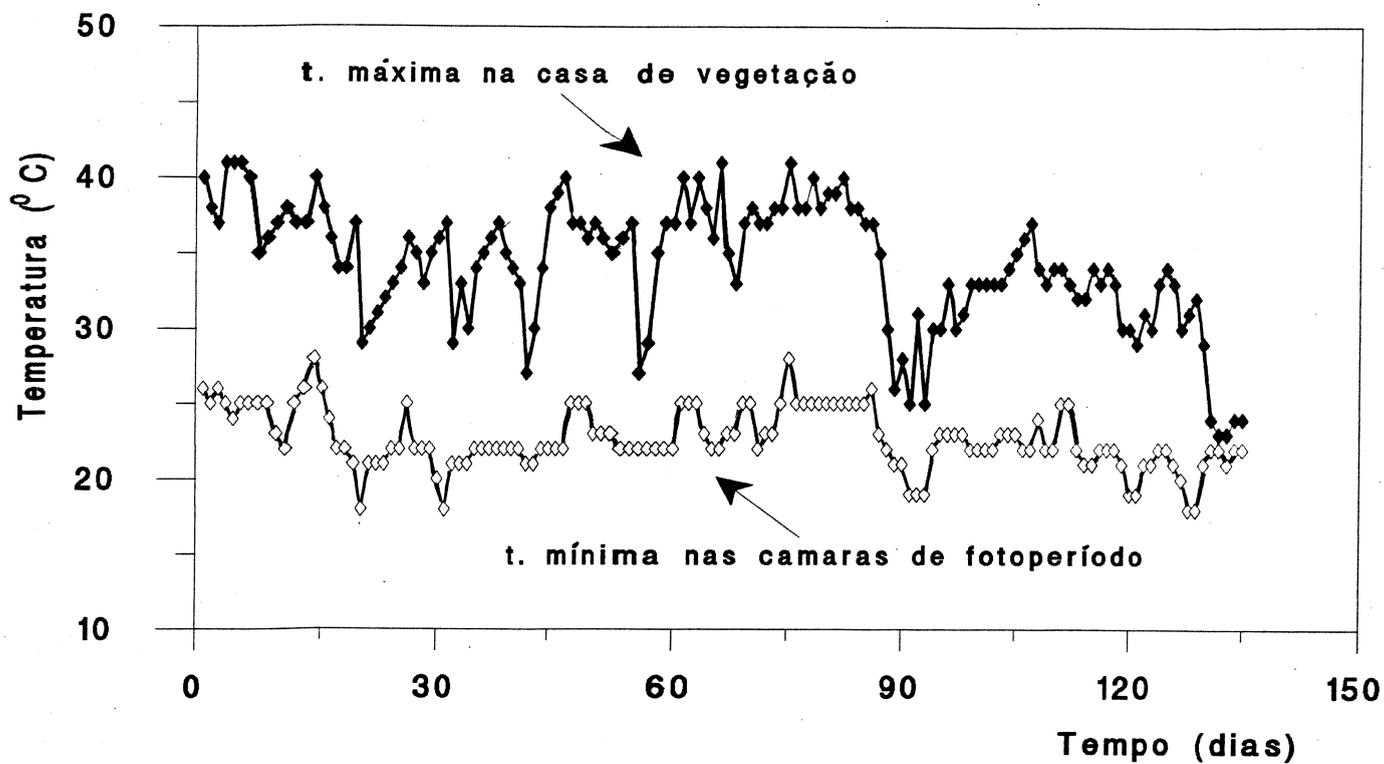


Figura 3. Temperaturas máximas na casa de vegetação e mínimas nas câmaras de fotoperíodo, no período de 1 de dezembro de 1993 a 20 de abril de 1994.

3.5 Parâmetros de crescimento

Para as plantas mantidas em fotoperíodo natural optou-se por sortear mensalmente três números referentes às plantas existentes nos vasos. Foram determinados, tanto para as plantas em fotoperíodo natural como para as plantas em 8h, 14h e 20h diárias de luz, os seguintes parâmetros:

a. área foliar da planta em cm^2 (somatória das áreas foliares individuais). Por meio de um medidor de área foliar (LI-3000A Portable area meter) determinaram-se comprimento, largura e área foliar de 60 folhas de tamanhos e de indivíduos diferentes. Através da fórmula: comprimento X largura X fator de correção (FC), foi encontrado o valor de $FC = 0,57$ que a partir de então foi utilizado para o cálculo de cada área foliar;

b. comprimento do ramo: expresso em centímetros, medido da região mais apical ao colo da planta, através de uma régua milimetrada. Quando as plantas apresentavam mais de uma ramificação, foi medido o comprimento do maior ramo;

c. massa de matéria fresca em gramas ;

d. massa de matéria seca em gramas: o material vegetal separado em parte aérea (caule e folhas) e parte subterrânea (rizóforo e raízes) foi colocado em câmara de secagem com ventilação a 70°C até massa constante. Foi também aferida a massa de material liofilizado ao tempo final usando-se um liofilizador VirTis modelo nº 10-145 MR-BA, para deste material se extrair frutanos.

Para as plantas em tratamento fotoperiódico foi utilizado um intervalo de aproximadamente 4 semanas entre a coleta das amostras e, além dos parâmetros anteriores, foi também avaliado o número de folhas que incluiu todas as

folhas $\geq 5\text{mm}$ de comprimento.

3.6- Parâmetros derivados

Estes foram estimados de acordo com Williams (1946) e Hunt (1982).

Calculou-se para o período de 20 semanas em intervalos de 35 dias, a taxa média de crescimento relativo ($\overline{\text{TCR}}$). Foi calculada a $\overline{\text{TCRA}}$ para a parte aérea (caule e folhas) e a $\overline{\text{TCRS}}$ para os órgãos subterrâneos (rizóforo e raízes).

$$\overline{\text{TCR}} = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}, \text{ expressa em } \text{mg} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$$

onde:

\ln = logaritmo natural

$t_2 - t_1$ = intervalo de tempo, em dias, decorrido entre duas medidas

$W_2 - W_1$ = incremento em massa seca ou liofilizada entre o tempo t_1 e o

tempo t_2

Também foram calculadas:

-Taxa média de assimilação líquida:

$$\overline{\text{TAL}} = \frac{(W_2 - W_1 / t_2 - t_1) \cdot (\ln A_2 - \ln A_1 / A_2 - A_1)}{t_2 - t_1}, \text{ expressa em } \text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}; \text{ onde}$$

A_1 = área foliar ao tempo t_1

A_2 = área foliar ao tempo t_2

-Razão de área foliar:

$$\text{RAF} = A/W, \text{ expressa em } \text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$$

sendo A = área foliar

W = massa de matéria seca total

- Área foliar específica média :

$$\overline{AFE} = A/W_f \text{ , expressa em cm}^2 \cdot \text{mg}^{-1}$$

sendo W_f = massa de matéria seca ou liofilizada das folhas

-Taxa assimilatória aparente média:

$$\overline{TAA} = \overline{TCR} / \overline{RAF} \text{ , expressa em mg} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$$

3.7- Floração

O efeito dos tratamentos fotoperiódicos na floração foi avaliado através do número de dias decorridos do início do tratamento até a visualização dos primeiros capítulos, assim como o número destes por indivíduo.

3.8- Extração de frutanos

Para o estudo preliminar de frutanos após 20 semanas de crescimento das plantas em casa de vegetação, utilizou-se uma alíquota de 200 mg proveniente de um pool de 600 mg, formado por partes iguais de material liofilizado proveniente de todos os indivíduos de cada tratamento. Este procedimento foi feito tanto para caule e folhas, como para a parte subterrânea.

A extração, conforme Pollock & Jones (1979), modificado, consistiu das etapas que se seguem (também resumidas na figura 4):

a) inicialmente, as amostras liofilizadas foram homogeneizadas e tiveram suas enzimas inativadas sob fervura em etanol 80% por 5 minutos;

- b) seguiram-se mais duas extrações em etanol 80% a 80°C por 15 minutos, em volume de etanol equivalente a três vezes a massa do material liofilizado, sendo o sobrenadante separado do resíduo por centrifugação;
- c) o resíduo obtido após a separação do último sobrenadante foi extraído em H₂O destilada a 60°C por 30 minutos, duas vezes. Após cada extração os resíduos foram filtrados em funil de Büchner;
- d) os filtrados e sobrenadantes dos extratos aquosos e etanólicos, respectivamente, foram então reunidos, constituindo o extrato total, o qual foi concentrado em evaporador rotatório (Büchler Instruments Co- USA) a 37°C;
- e) Os extratos concentrados foram congelados a -20°C, durante uma noite;
- f) os extratos foram descongelados à temperatura ambiente e centrifugados a 13.000 x g, por 20 minutos, a 5°C;
- g) o precipitado foi resuspendido em H₂O destilada e constituiu a fração dos polifrutanos;
- h) o sobrenadante foi concentrado e a seguir foram acrescentados 5 volumes de etanol absoluto. Essa mistura permaneceu a 5°C, durante uma noite, e depois foi centrifugada a 9.000 x g, por 10 minutos, a 5°C;
- i) o sobrenadante constituiu a fração dos oligofrutanos e o precipitado os fru-tanos de cadeia intermediária.

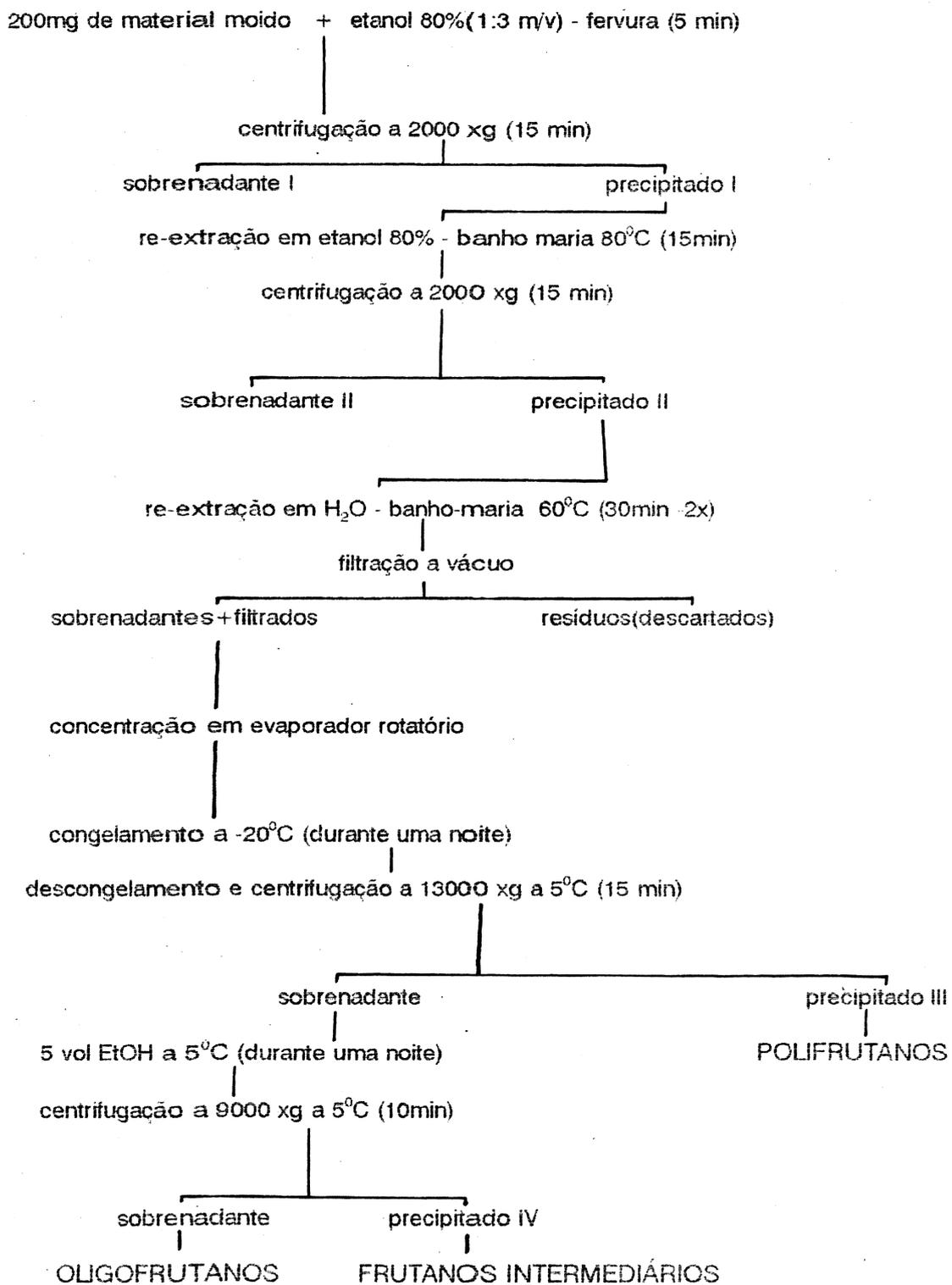


Figura 4. Fluxograma do procedimento de extração de frutanos

3.9-Análises estatísticas

Os resultados de germinação em porcentagem foram transformados em valores angulares ($\arcsin \sqrt{\%}$) para os cálculos estatísticos. Foi feita a análise de variância dos tratamentos pelo teste de Tukey, sendo o nível de 5% de significância o adotado (Snedecor & Cochran, 1967). Utilizou-se para as análises o programa para microcomputador P.C., fornecido pelo Prof. Dr. Ladaslav Sodek (Depto de Fisiologia Vegetal-UNICAMP).

Para as plantas em crescimento em condições fotoperiódicas naturais calculou-se apenas a média e para os demais tratamentos foi feita a análise de variância pelo teste de Tukey, sendo o nível de 5% o adotado.

Além da análise de variância, foi calculada a correlação simples (Snedecor & Cochran, 1967) entre os diversos índices de crescimento e a taxa de crescimento relativo.

4. RESULTADOS

4.1. Germinação

Os resultados do teste de germinação de sementes recém-coletadas podem ser vistos na figura 5 onde, sob temperatura de 15°C e luz contínua, observou-se uma porcentagem final de germinação de 32,8%; no escuro, 21,2% das sementes germinaram. A 25°C e luz contínua, a porcentagem de germinação foi de 27,6% e, no escuro, 22,4%. Na germinação sob temperaturas de 20°C e 30°C, usou-se apenas iluminação constante. Os dados obtidos não tiveram diferenças significativas por análise de variância ao nível de 5% de probabilidade. A germinação foi sempre baixa, nunca ultrapassando 35%.

Na figura 6 são mostrados os dados da germinação a 15°C e a 25°C, sob luz contínua, de aquênios recém-coletados, mostrando o comportamento das sementes em relação à temperatura. Observa-se que o padrão germinativo varia em relação ao tempo necessário para esta resposta, em função da temperatura, 25°C acelerando o processo. Nesta temperatura após 10 dias de embebição, 25% das sementes já haviam germinado, sendo que a 15°C, somente após 16 dias a germinação atinge essa porcentagem .

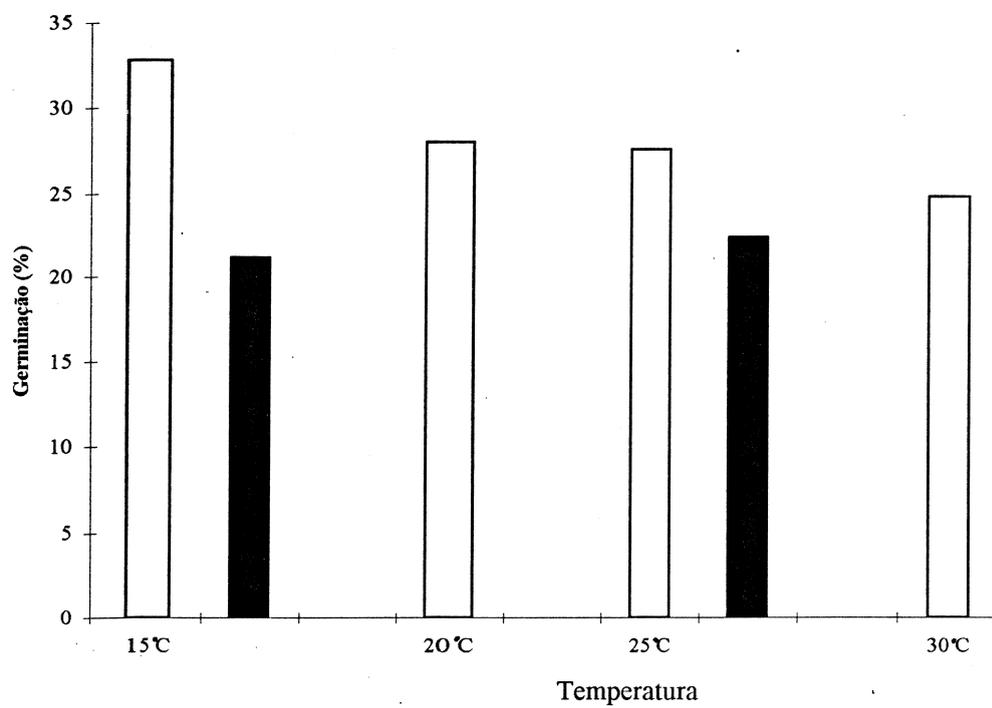


Figura 5. Germinação 30 dias após embebição de aquênios recém coletados de *Vernonia cognata* sob 4 temperaturas constantes, sob luz branca contínua. Em 15^oC e 25^oC, a germinação foi verificada também no escuro(barras cheias).

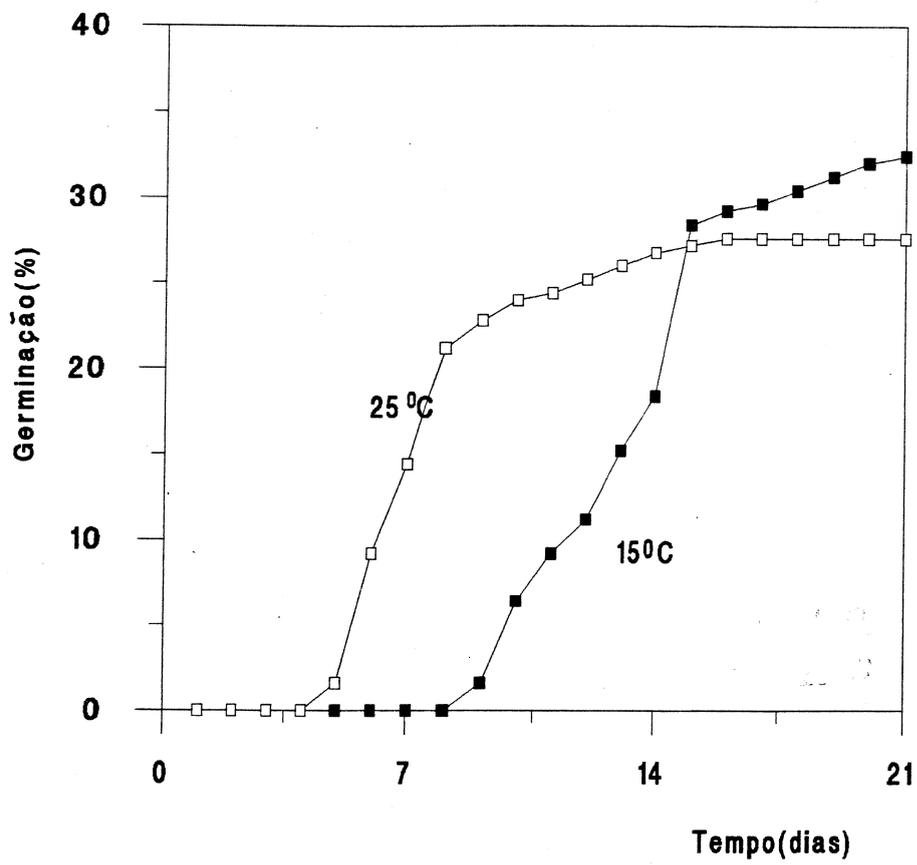


Figura 3. Germinação de aquênios de *Vernonia cognata* sob luz branca contínua a 15°C e 25°C.

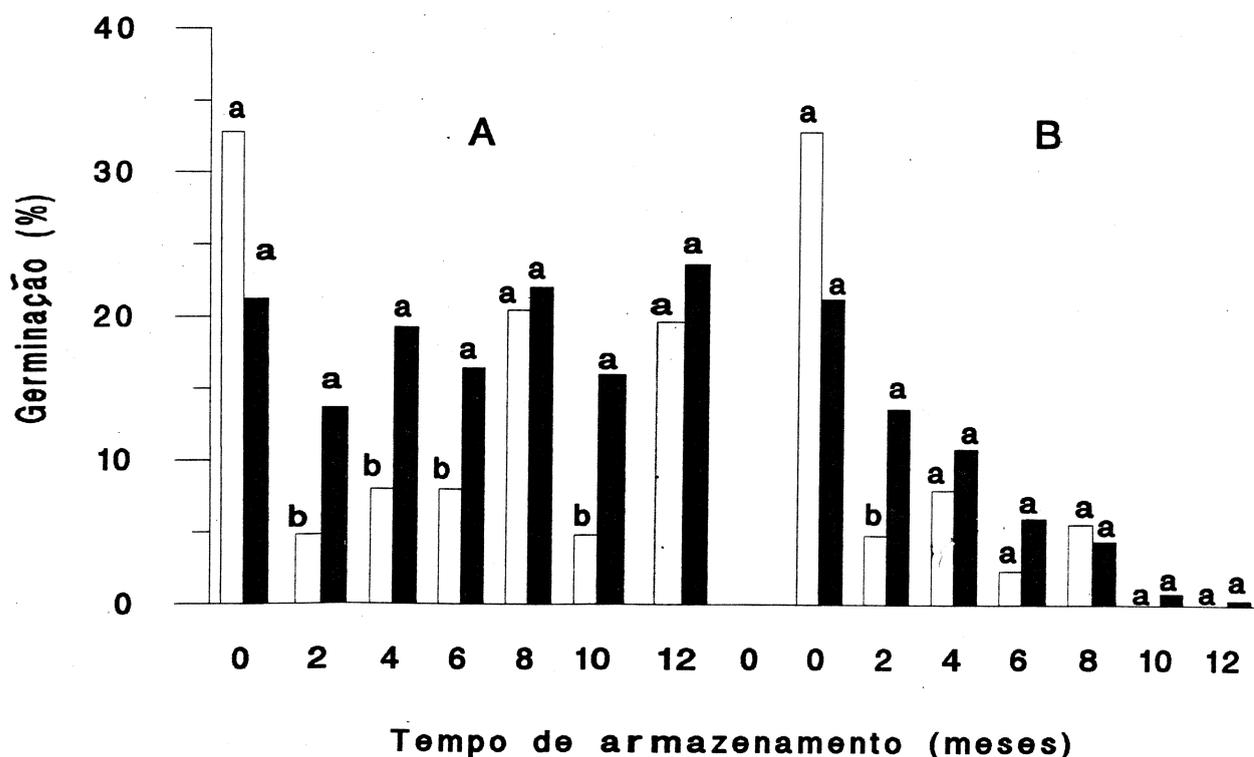
Verificou-se pelo teste de tetrazólio que sementes armazenadas por 12 meses a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ possuem 36% de seus embriões viáveis. Em sementes armazenadas por igual período à temperatura ambiente, o número de embriões viáveis foi de apenas 26% (Tabela 2).

O efeito do armazenamento a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ e à temperatura ambiente foi verificado na germinação a cada 2 meses, por um período de 1 ano. Quando a germinação foi ensaiada a 15°C e 25°C sob luz contínua, nas sementes armazenadas em temperatura ambiente, houve uma acentuada queda ao longo do tempo (figuras 7B e 8B). A germinação dessas sementes a 15°C no escuro teve por sua vez uma queda gradual da porcentagem de germinação, até o 12º mês.

Sementes armazenadas a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ e colocadas para germinar a 15°C e 25°C (figuras 7A e 8A) mostraram maior viabilidade que as sementes armazenadas em temperatura ambiente. A estatística mostra que não houve queda na germinação entre 0 e 12 meses, quando as sementes eram armazenadas a 4°C e houve uma nítida diminuição quando armazenadas a 25°C (figuras 7B e 8B) o que pode ser visto pelos valores da correlação. Só houve diferença significativa na germinação sob luz e escuro constantes aos 2 e 12 meses de armazenamento, tanto à temperatura ambiente como a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Tabela 2. Aquênios de *Vernonia cognata* armazenados por 1 ano em duas condições de armazenamento, corados pelo teste do tetrazólio.

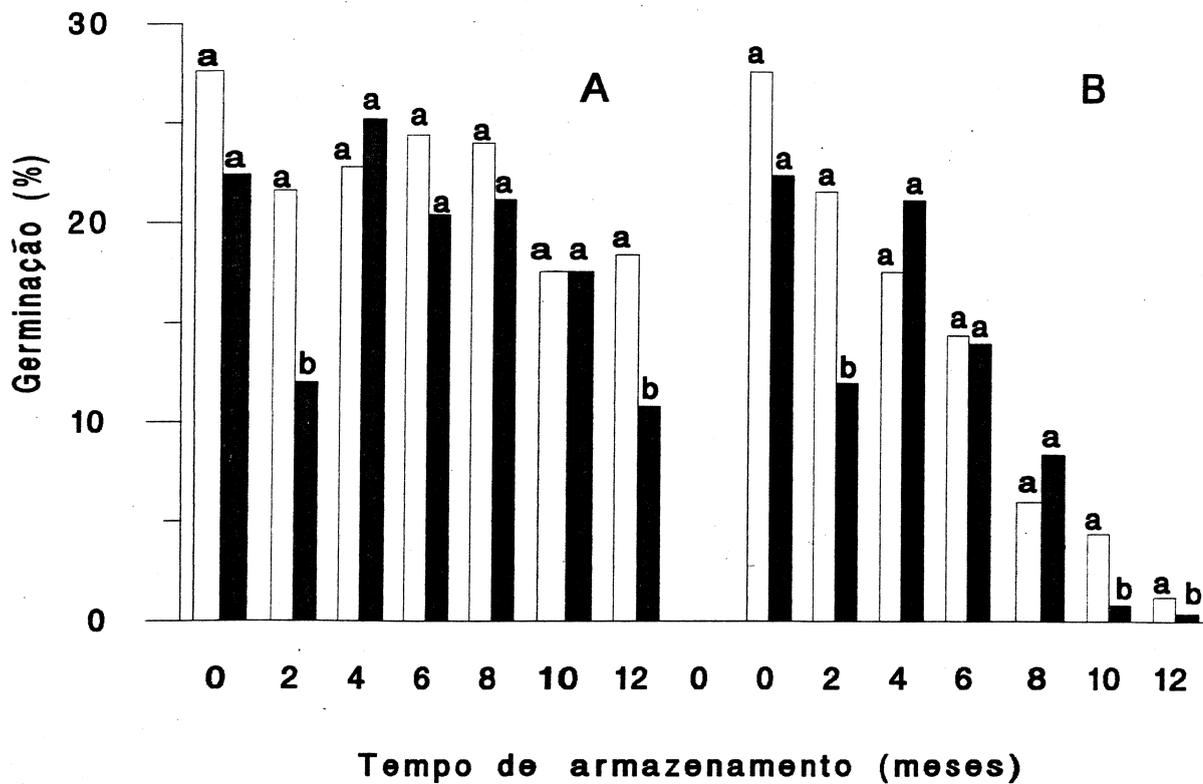
| Armazenamento temperatura | Eixo embrionário corado(%) |
|------------------------------|-------------------------------|
| $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ | 36 |
| temp. amb. | 26 |



Comparação entre os diferentes tempos de armazenamento em uma mesma condição

| | 4°C | | | | | | | | temperatura ambiente | | | | | | | |
|--------|-----|---|----|----|----|----|----|--------|----------------------|----|-----|-----|-----|----|----|--------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | r | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | r |
| luz | A | C | BC | BC | AB | C | AB | -0.199 | A | B | B | B | B | C | C | -0.742 |
| escuro | A | A | A | A | A | A | A | -0.451 | A | AB | ABC | BCD | BCD | CD | D | -0.968 |

Figura 7. Efeito do armazenamento a $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (A) e a temperatura ambiente (B) na germinação final de aquênios de *Vernonia cognata* a 15°C , sob luz (□) e escuro (■) constantes. Letras minúsculas comparam luz e escuro em um mesmo ponto. No quadro encontram-se a comparação entre os períodos de armazenamento e o valor da correlação r entre a germinação final e o tempo de armazenamento. Dados obtidos após 30 dias de embebição.



Comparação entre os diferentes tempos de armazenamento em uma mesma condição.

| | 4°C | | | | | | | | temperatura ambiente | | | | | | | |
|--------|-----|----|----|----|----|----|----|--------|----------------------|----|---|----|----|----|----|--------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | r | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | r |
| luz | A | AB | AB | AB | AB | B | AB | -0.759 | A | A | A | AB | BC | BC | C | -0.989 |
| escuro | AB | AB | A | AB | AB | AB | B | -0.396 | A | AB | A | AB | B | C | C | -0.885 |

Figura 8. Efeito do armazenamento a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ (A) e a temperatura ambiente(B) na germinação final de aquênios de *Vernonia cognata* a 25°C , sob luz (□) e escuro (■) constantes. Letras minúsculas comparam luz e escuro em um mesmo ponto. No quadro encontram-se a comparação entre os períodos de armazenamento e a correlação r entre a germinação final e o tempo de armazenamento. Dados obtidos após 30 dias de embebição.

4.2 Floração

Não houve floração em plantas mantidas com 8 horas de luz diária, 14 horas teve o número de indivíduos com flor semelhante ao encontrado no tratamento de 20 horas e este mais capítulos por planta (tabela 3). Em fotoperíodo natural, as plantas também floresceram três meses após o início do tratamento.

Tabela 3. Floração em *Vernonia cognata* em função do tempo decorrido do início do tratamento fotoperiódico à visualização de capítulos na primeira planta a florir, porcentagem de plantas com flores em cada tratamento e número médio de capítulos por planta.

| Fotoperíodo | tempo (dias) | % de plantas floridas | nº médio de capítulos/plta |
|-------------|--------------|-----------------------|----------------------------|
| 8h | 141 | 0 | 0 |
| 14h | 100 | 21 | 26 |
| 20h | 80 | 18 | 43 |

4-3 Crescimento

Área foliar

As plantas mantidas sob condições fotoperiódicas não controladas (fotoperíodo natural) foram colocadas em casa de vegetação quando possuíam em média $2,5 \text{ cm}^2$ de área foliar (considerando-se todas as folhas de um indivíduo) ; em um mês, as plantas já possuíam 22 cm^2 , houve uma curva exponencial entre o 2º e o 3º mês, posteriormente, à época da floração, houve uma estabilização da área foliar total, por volta de 520 cm^2 (figura 9).

A área foliar média inicial de plantas em tratamento com fotoperíodo controlado foi de $3,31 \text{ cm}^2$ e a curva de crescimento que se segue não apresenta estabilização. Plantas mantidas em 8 horas diárias de luz, apresentaram área foliar reduzida em relação ao fotoperíodo de 20 horas já aos 3 meses e em relação ao de 14 horas após o terceiro mês, portanto após o início da floração. Na ausência de número suficiente de plantas, interrompeu-se o experimento por volta do quarto mês (figura 10).

Após 4 meses, as plantas nos tratamentos de 20 horas e 14 horas tinham respectivamente cerca de três e duas vezes mais área foliar que as plantas em dias curtos de 8 horas

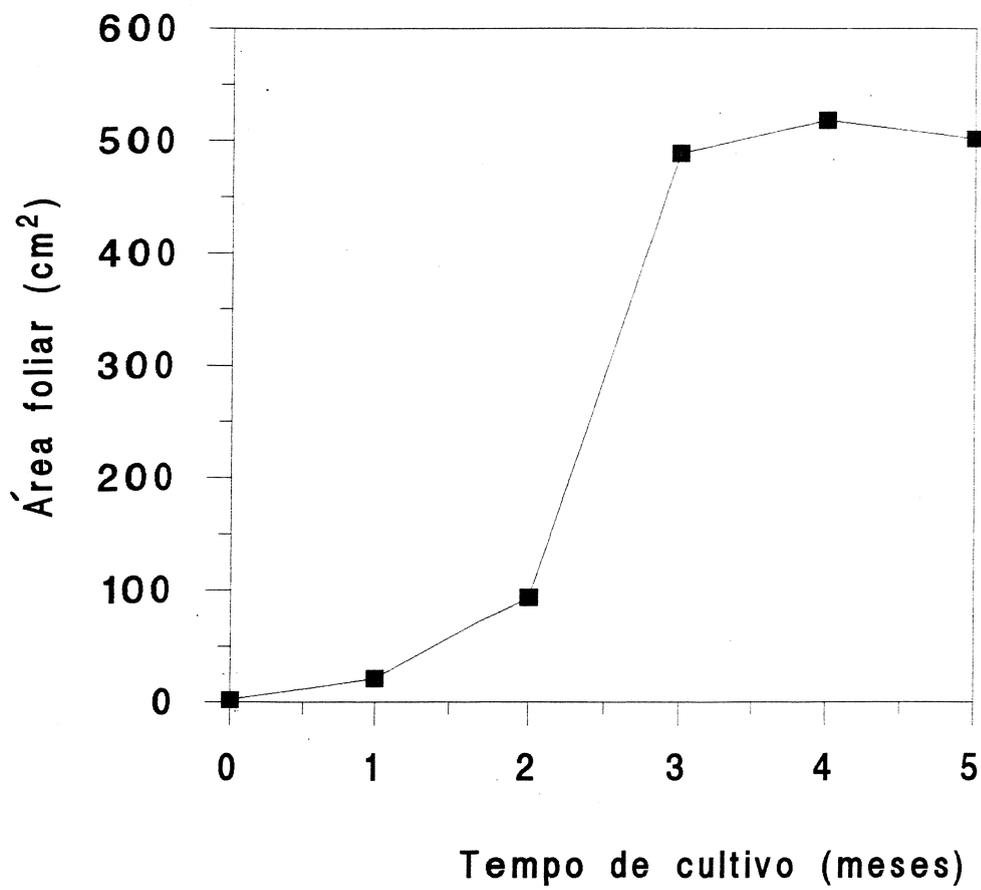


Figura 9. Área foliar média total de plantas de *Vernonia cogata* mantidas em fotoperíodo natural. A partir daqui considera-se tempo inicial (0) como o 1^o dia de tratamento fotoperiódico.

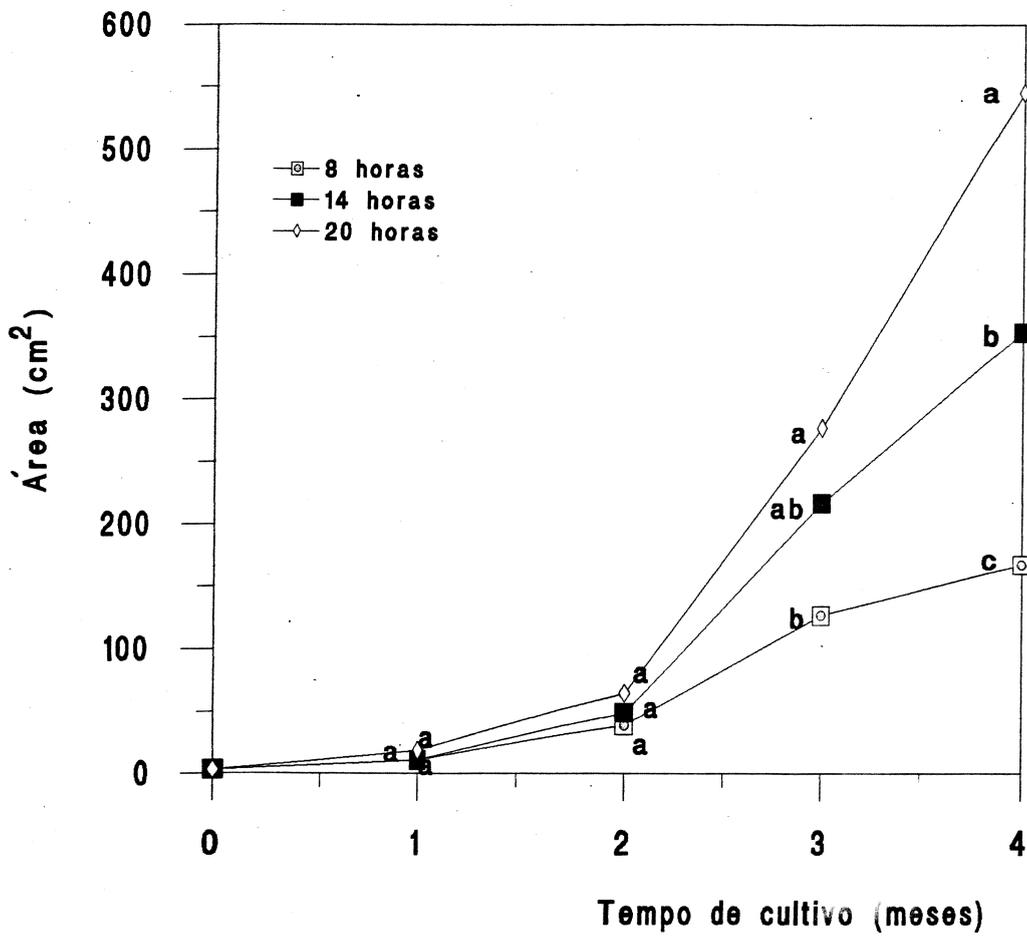


Figura 10. Área foliar média de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodos diários de 8 horas, 14 horas e 20 horas. As letras comparam os três fotoperíodos em um mesmo ponto.

Comprimento do ramo

O crescimento em termos de comprimento do ramo em plantas sob fotoperíodo natural é demonstrado na figura 11. A curva obtida é uma sigmóide típica, sendo o crescimento mais acelerado no período que vai do 2^o ao 4^o mês, correspondendo à fase exponencial do crescimento .

O maior desenvolvimento de plantas mantidas em fotoperíodos mais longos (figura 12) fica evidente no decorrer do tempo e com 3 meses as plantas em 8h são significativamente menores que nos demais fotoperíodos.

Número de folhas

O número médio de folhas variou em plantas mantidas em condições fotoperiódicas naturais de 4, ao início das observações a 27 ao final de 5 meses (figura 13), tendo este último mês número menor de folhas em relação ao quarto mês devido à abscisão das folhas mais velhas.

Ao final de 4 meses as plantas no tratamento de 20 horas tinham um número de folhas significativamente maior que em 14 horas e neste também era estatisticamente maior que no tratamento de 8 horas (figura 14).

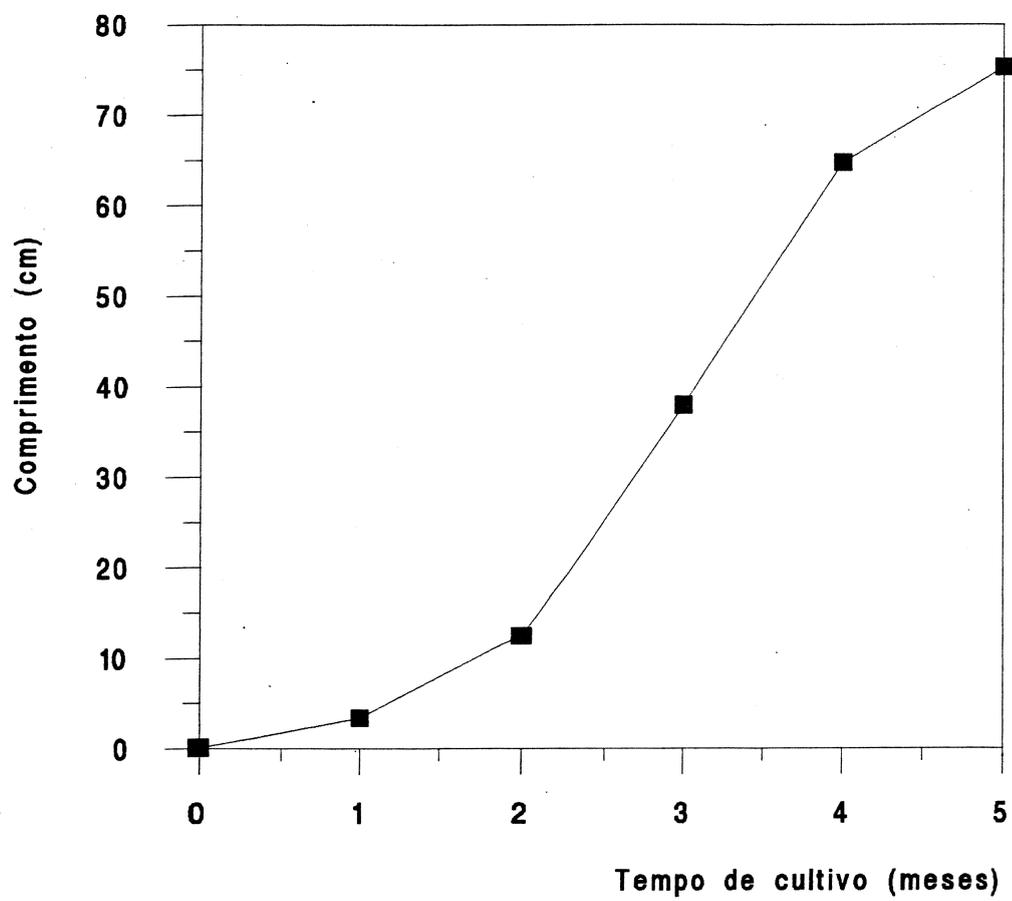


Figura 11. Comprimento do maior ramo, de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo natural.

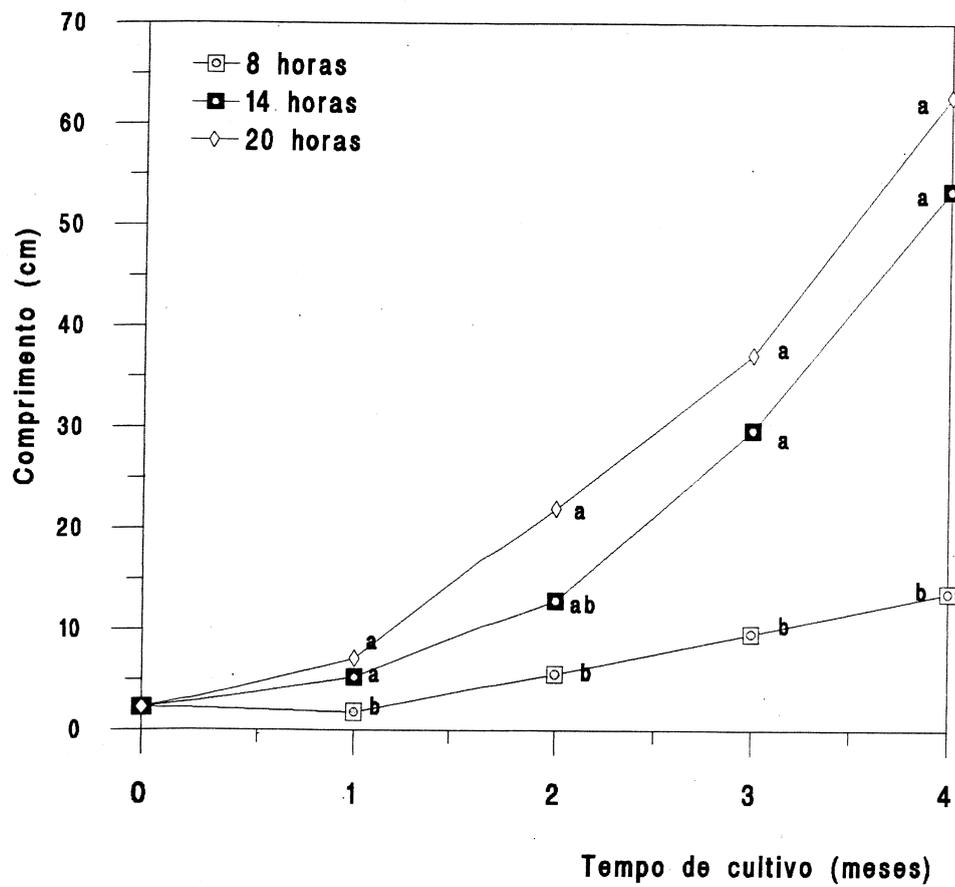


Figura 12. Comprimento de plantas de *Vernonia cognata* mantidas sob fotoperíodos de 8 horas, 14 horas e 20 horas. As letras comparam os três fotoperíodos em um mesmo ponto.

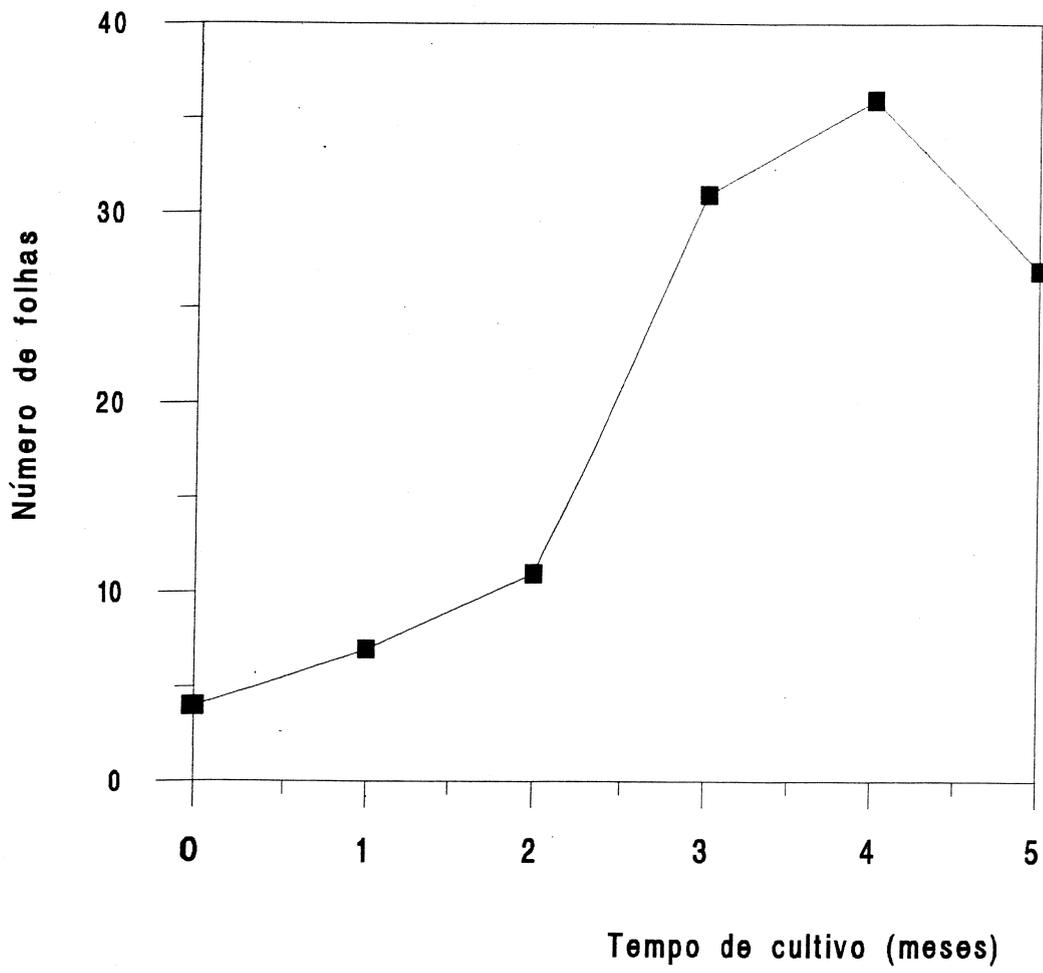


Figura 13. Número médio de folhas em plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo natural.

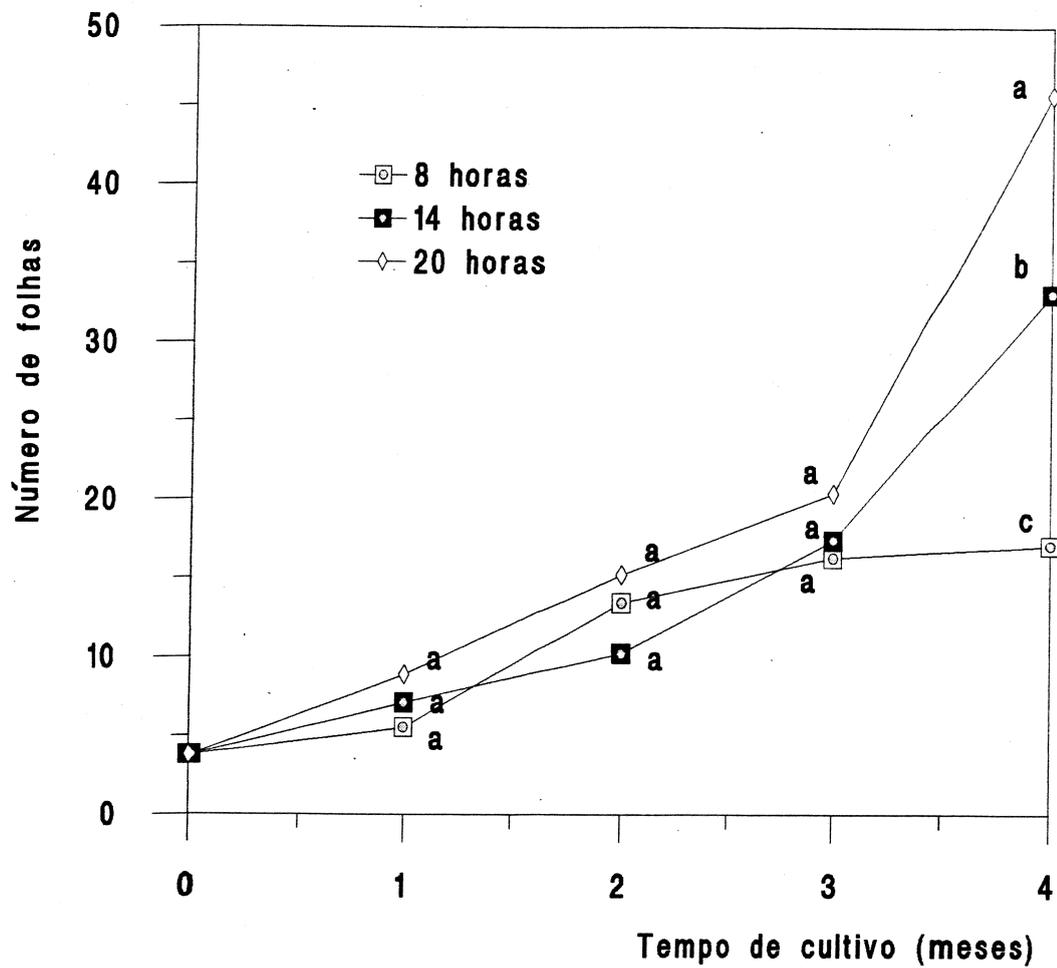


Figura 14. Número médio de folhas em plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodos de 8 horas, 14 horas e 20 horas. As letras comparam os três fotoperíodos em um mesmo ponto.

Massa de matéria fresca

Na figura 15 tem-se a massa de matéria fresca total de plantas mantidas em condições naturais de fotoperíodo, cuja curva em muito se assemelha à curva de comprimento do maior ramo, obtida para as mesmas plantas, isto é, com um maior crescimento entre o segundo e o quarto mês de cultivo.

A massa média total de matéria fresca com que se iniciou os tratamentos fotoperiódicos foi 0,111 g, dos quais 0,083 g referentes à parte aérea (figura 16). Após 3 meses, o tratamento fotoperiódico de 20 horas havia promovido a produção de aproximadamente 18 g de massa total, enquanto o tratamento fotoperiódico de 8 horas promoveu a produção de apenas 6 g, aproximadamente.

A massa de matéria fresca da parte aérea sempre foi maior que a da parte subterrânea (figura 16), tanto para as plantas mantidas em 14 horas como para as plantas em 20 horas diárias de luz havendo valores semelhantes para plantas em 8 horas aos 4 meses.

Massa de matéria seca ou liofilizada

O crescimento em termos de massa de matéria seca de plantas sob condições fotoperiódicas naturais pode ser acompanhado pela figura 17, onde é evidente o grande acúmulo de matéria após o segundo mês de observação.

O aumento na massa de matéria seca da parte aérea e subterrânea das plantas em 8 h, 14 h e 20 horas é mostrado nas figuras 18, 19 e 20, respectivamente.

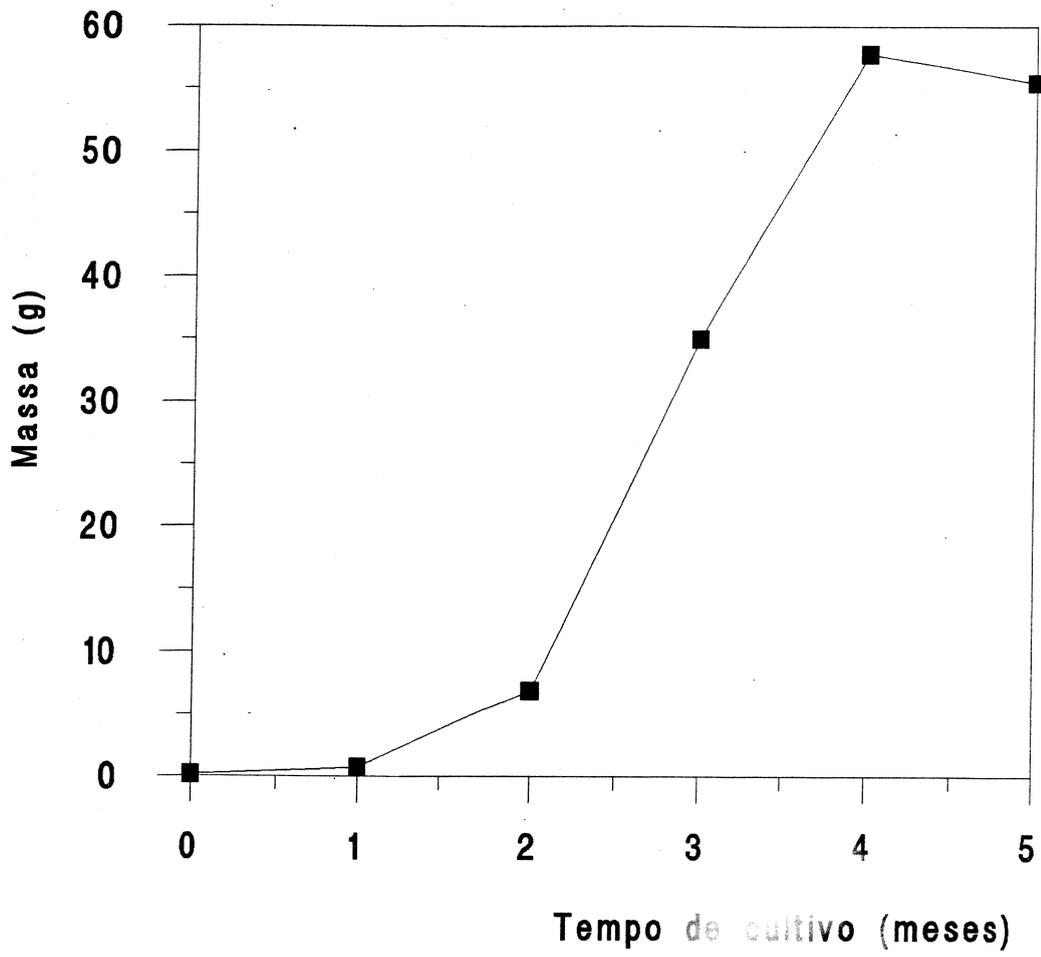


Figura 15. Massa de matéria fresca total em plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo natural.

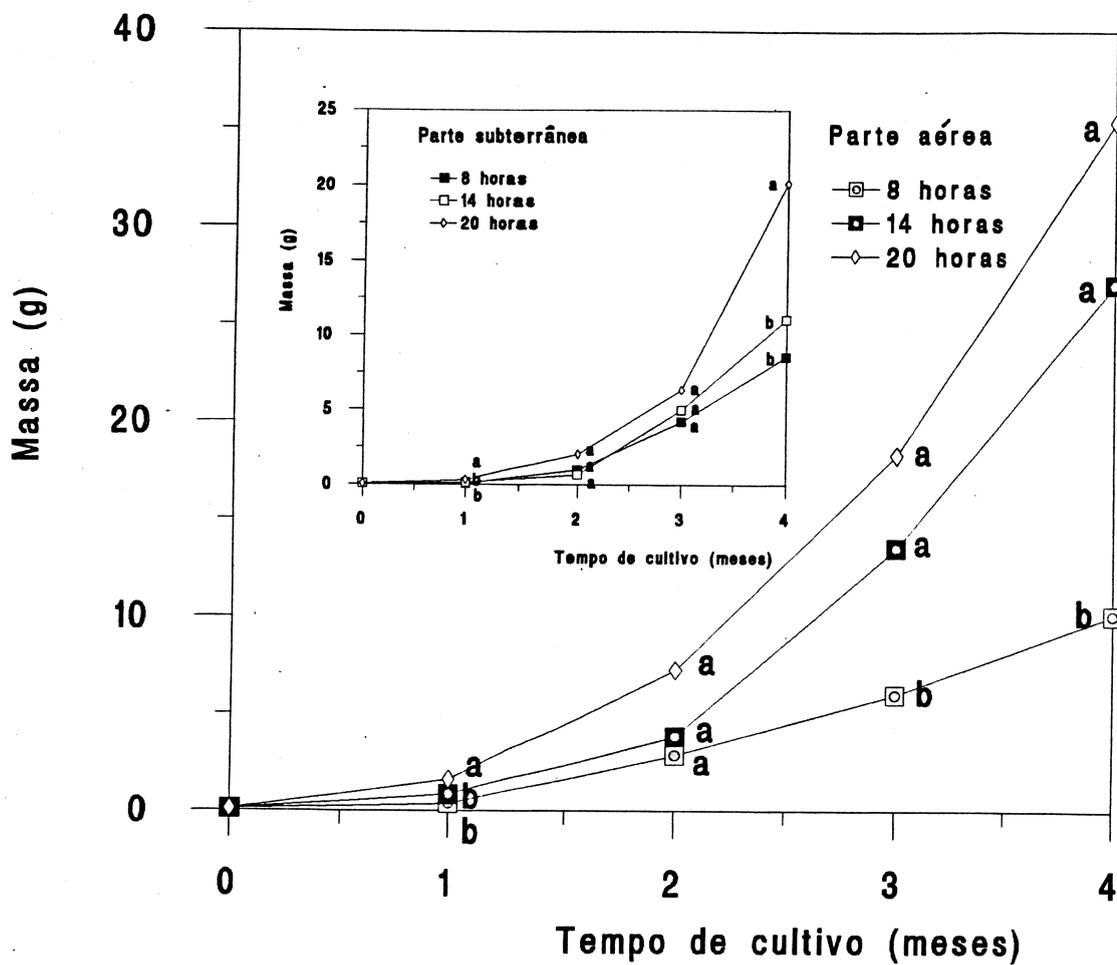


Figura 16. Massa de matéria fresca em plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodos de 8 horas, 14 horas e 20 horas. Letras comparam valores de um mesmo tratamento e porção das plantas, em diferentes tempos.

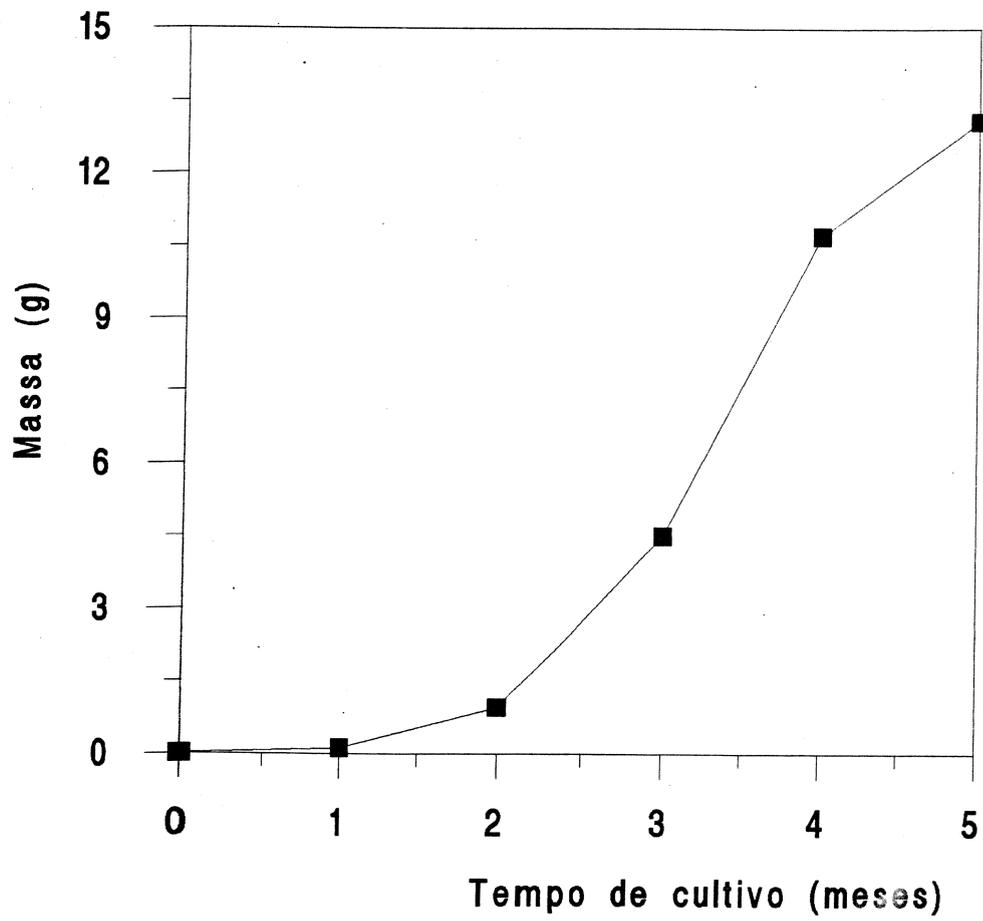


Figura 17. Massa de matéria seca total em plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo natural.

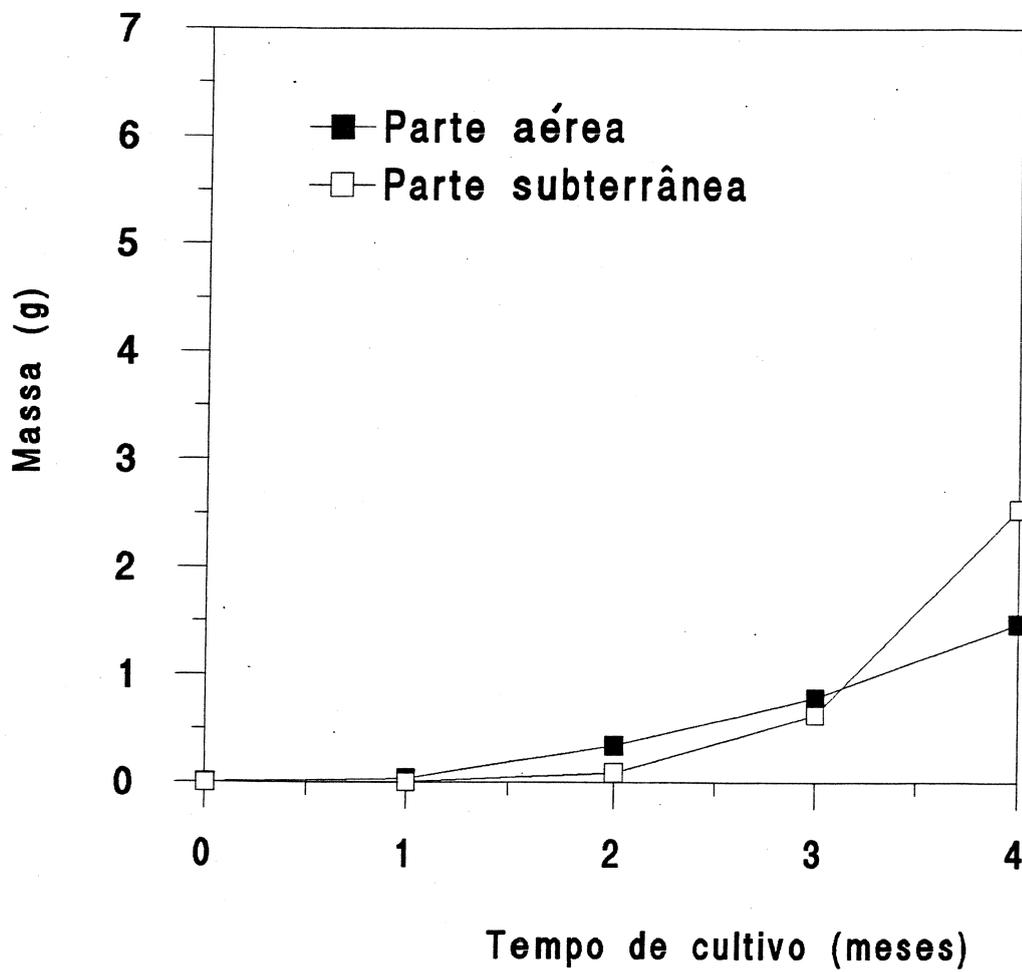


Figura 18. Massa de matéria seca de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodos de 8 horas.

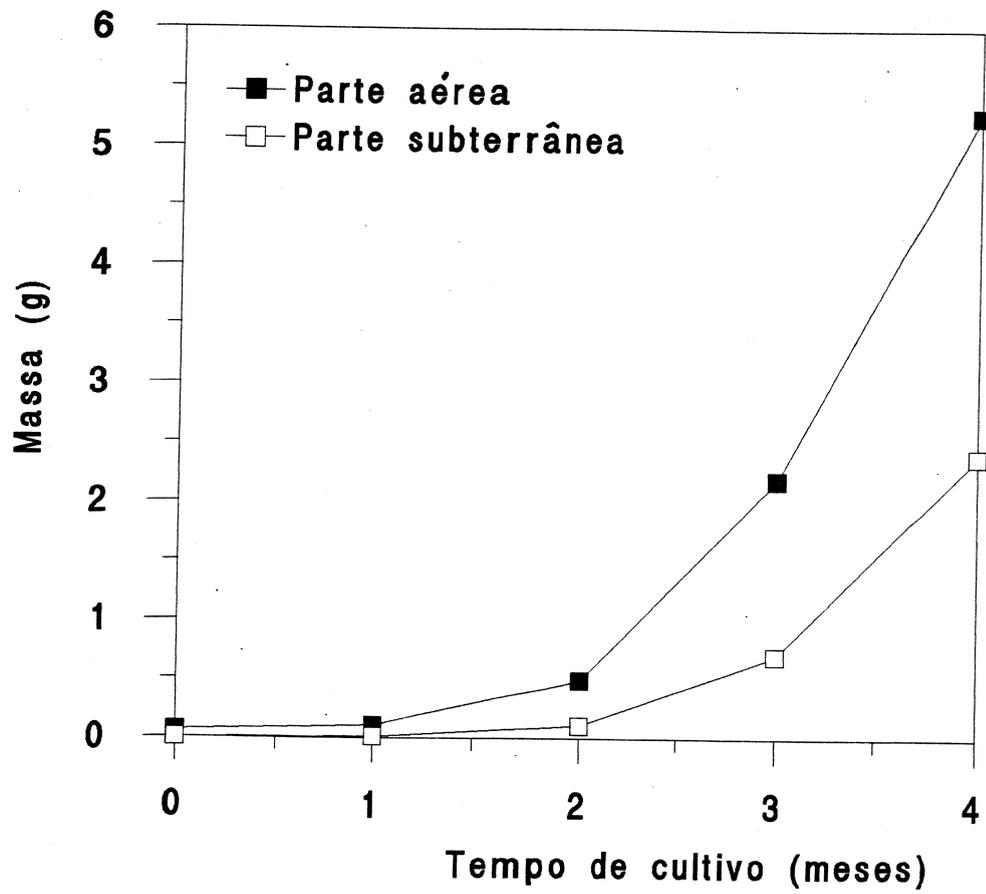


Figura 21. Massa de matéria seca de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo de 14 horas.

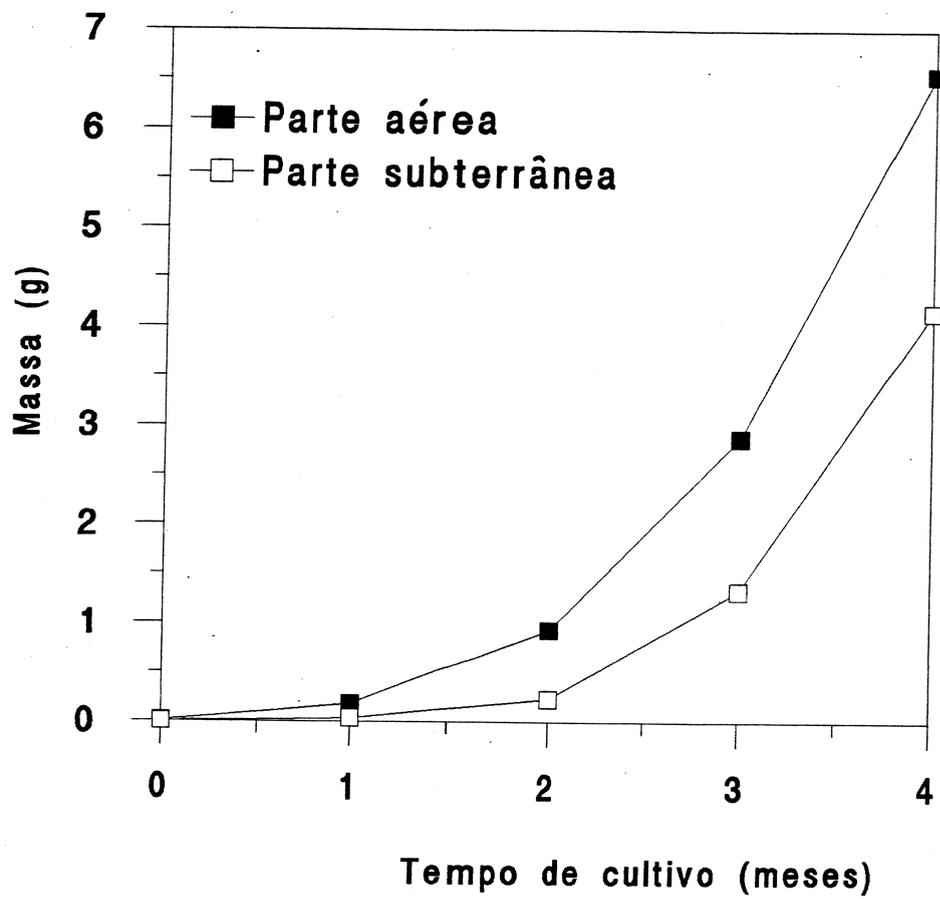


Figura 20. Massa de matéria seca de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo de 20 horas.

Com relação à razão parte subterrânea /parte aérea (tabela 4) apenas as plantas mantidas em 8 horas de luz diária apresentaram esta razão maior que 1. Esta razão é significativamente maior no fotoperíodo de 8 horas em relação aos demais com 3 e 4 meses de tratamento.

Tabela 4. Razão massa da parte subterrânea/ massa da parte aérea de plantas de *Vernonia cognata* cultivadas em solo de mata em três condições fotoperiódicas: 8 horas, 14 horas e 20 horas diárias de luz. Letras maiúsculas comparam os três fotoperíodos em um mesmo mês e letras minúsculas comparam o mesmo fotoperíodo em diferentes meses.

| Tempo meses | Tratamento | | |
|----------------|------------|-----------|-----------|
| | 8 horas | 14 horas | 20 horas |
| 0 | 0,315 Ab | 0,315 Aab | 0,315 Aab |
| 1 | 0,153 Ab | 0,110 Bb | 0,185 Ab |
| 2 | 0,277 Ab | 0,192 Bb | 0,235 Ab |
| 3 | 0,872 Aab | 0,303 Bab | 0,574 Bab |
| 4 | 1,869 Aa | 0,469 Ba | 0,683 Ba |

4.4 Análise de crescimento através de parâmetros derivados

Plantas mantidas em fotoperíodo natural têm um valor de \overline{TCR} de 111 $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ao final do primeiro mês de tratamento, valor este que decresce até atingir 6,2 $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ao final das observações (figura 21), estando sempre a \overline{TCRA} próxima aos valores da \overline{TCR} , porém a \overline{TCRS} foi mais variável ao longo do período de observações.

Sob tratamentos fotoperiódicos controlados, a \overline{TCR} variou bastante como é mostrado pela análise estatística; as plantas em dias curtos de 8 horas com apenas 48 $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (figura 22) ao final do primeiro mês e as plantas em 20 horas (figura 22) com 110 $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, valor este bem próximo ao obtido para as plantas em condições fotoperiódicas naturais. Também para o quarto mês de observação a \overline{TCR} calculada para as plantas em 20 horas se assemelha à das plantas em fotoperíodo natural: 28 $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ e 30 $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, respectivamente. Quatorze horas diárias de luz promoveram ao final de um mês uma \overline{TCR} de 75 $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, valor que varia ao longo dos meses porém menos que nos demais tratamentos, tendo ao fim de 4 meses atingido a marca de 32 $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (figura 22), portanto pouco menos da metade da primeira \overline{TCR} obtida.

A taxa média de assimilação líquida (\overline{TAL}) em plantas sob condições fotoperiódicas naturais variou de 0,5 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ a 0,1 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ (figura 23).

Em fotoperíodos controlados, o comportamento é diverso (figura 24). Plantas em dias curtos de 8 horas variam mais sua capacidade fotossintetizante que as plantas mantidas em 14 e em 20 horas diárias de luz. A \overline{TAL} foi muito semelhante, no decorrer do experimento, para as plantas nos fotoperíodos de 14 horas e 20

horas (figura 24).

Para a razão de área foliar (RAF) e a área foliar específica média (\overline{AFE}), vale notar que os valores calculados para as plantas em 8 horas (tabela 5) estão sempre próximos do maior valor ou ainda acima dos valores encontrados para os demais fotoperíodos.

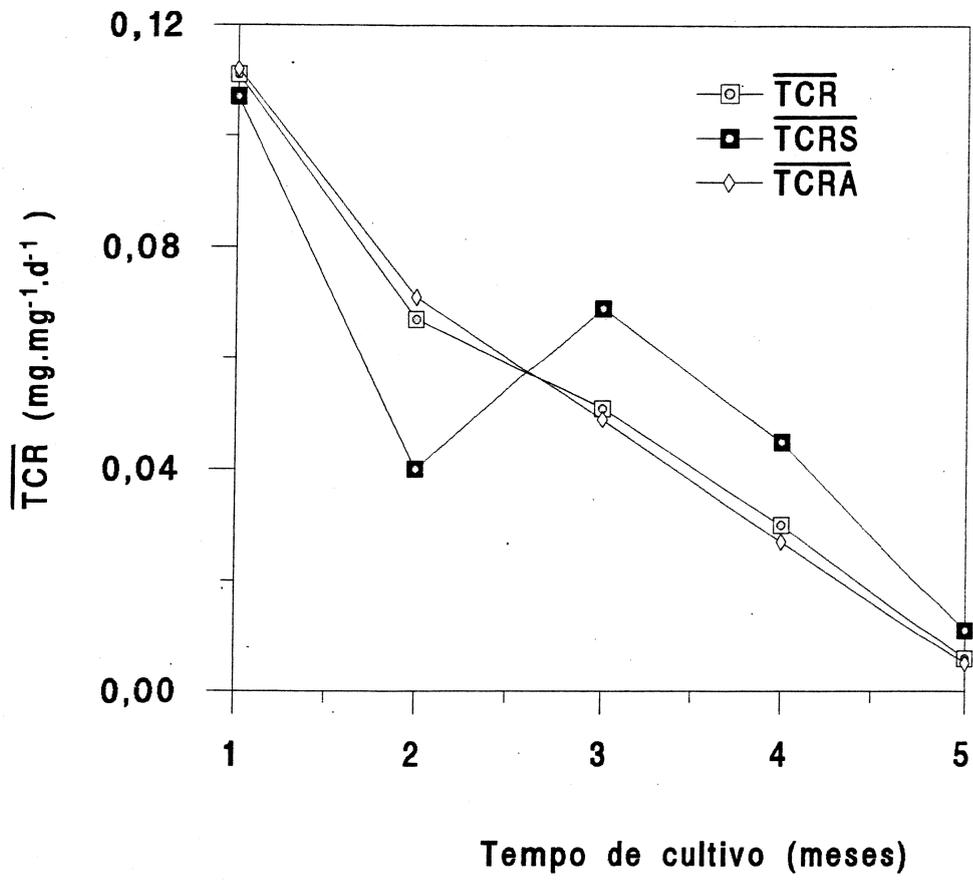


Figura 21. Taxas médias de crescimento relativo referentes à parte aérea (\overline{TCRA}), à parte subterrânea (\overline{TCRS}) e à soma de ambas (\overline{TCR}), em plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo natural.

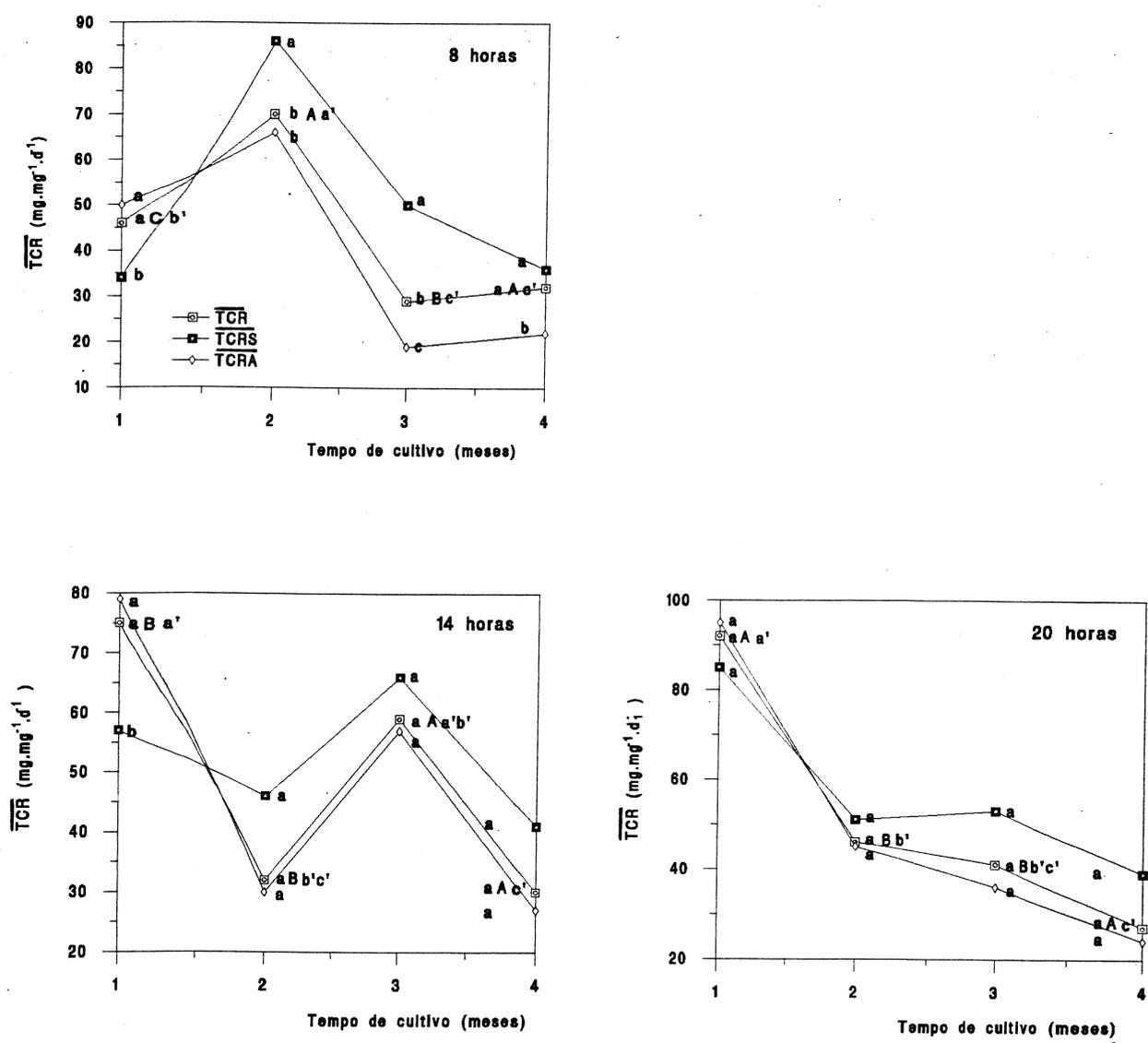


Figura 22. Taxas médias de crescimento relativo referentes à parte aérea (\overline{TCRA}), à parte subterrânea (\overline{TCRS}) e à soma de ambas (\overline{TCR}) de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodos de 8 horas, 14 horas e 20 horas. Letras minúsculas comparam valores da \overline{TCR} na vertical, letras maiúsculas comparam somente os valores da \overline{TCR} nos três fotoperíodos e letras minúsculas seguidas de apóstrofo comparam valores da \overline{TCR} na horizontal.

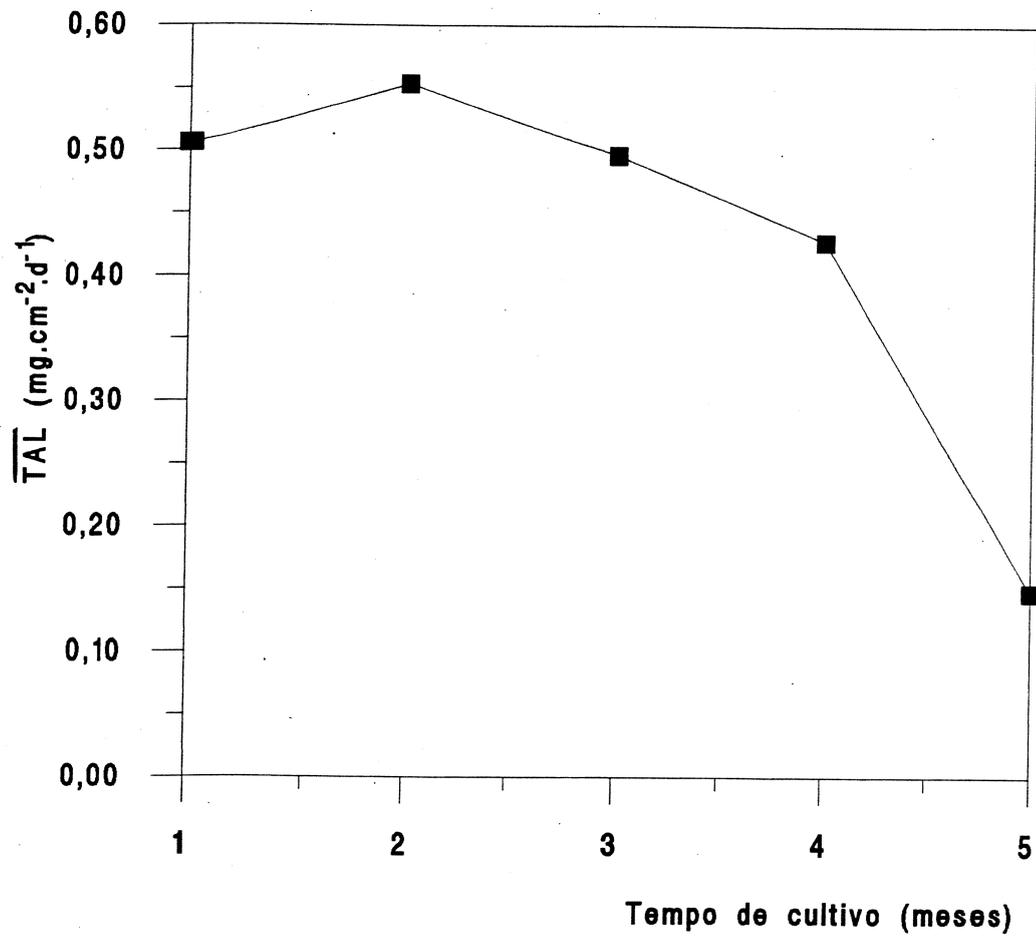


Figura 23. Taxa média de assimilação líquida de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo natural.

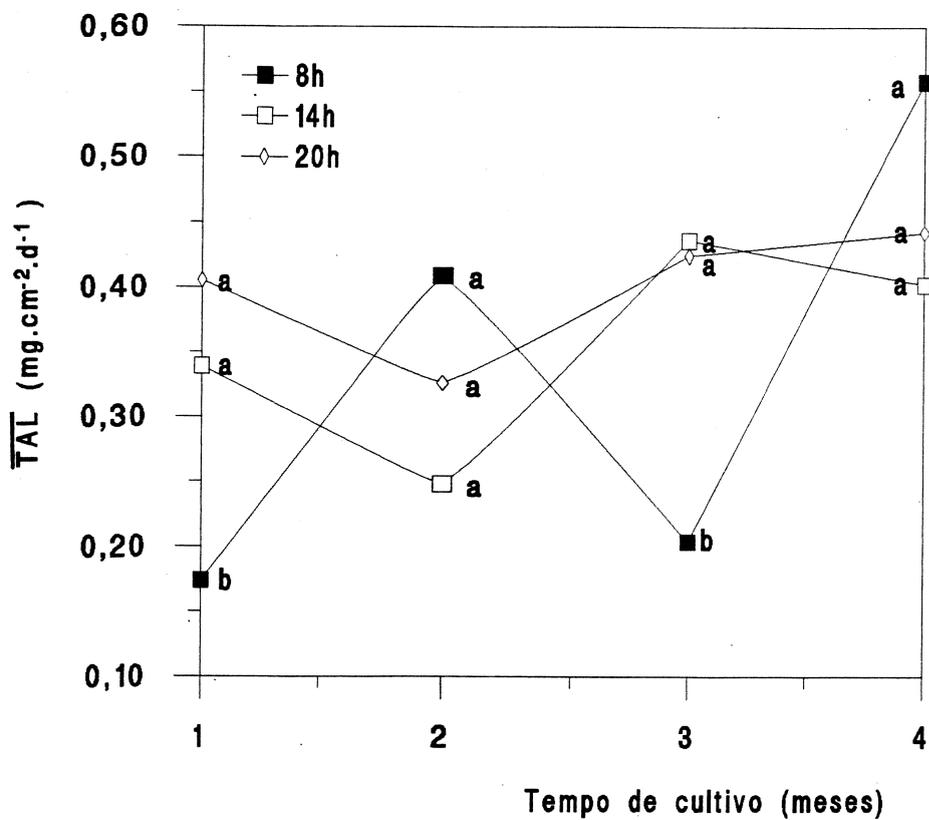


Figura 24. Taxa média de assimilação líquida de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodos de 8 horas, 14 horas e 20 horas. As letras comparam os três fotoperíodos em um mesmo ponto.

Tabela 5. Área foliar específica (\overline{AFE}) e razão de área foliar (RAF) de plantas de *Vernonia cognata* mantidas nos fotoperíodos de 8 h, 14 h e 20 horas.

Média \pm desvio padrão

| fotoperíodo | mês 1 | mês 2 | mês 3 | mês 4 |
|------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 8 h RAF | 212,70 \pm 45,09 | 160,39 \pm 39,66 | 166,57 \pm 102,72 | 57,28 \pm 3 |
| \overline{AFE} | 295,02 \pm 39,75 | 240,08 \pm 44,22 | 165,36 \pm 55,12 | 164,48 \pm 31,38 |
| 14 h RAF | 174,63 \pm 24,09 | 152,51 \pm 46,68 | 133,72 \pm 62,85 | 50,80 \pm 15,12 |
| \overline{AFE} | 308,49 \pm 152,79 | 260,03 \pm 66,33 | 250,81 \pm 104,16 | 129,13 \pm 24,69 |
| 20 h RAF | 181,83 \pm 28,02 | 130,09 \pm 31,29 | 81,92 \pm 18,00 | 53,33 \pm 9,60 |
| \overline{AFE} | 278,45 \pm 30,18 | 231,51 \pm 30,66 | 221,32 \pm 75,21 | 195,04 \pm 35,22 |

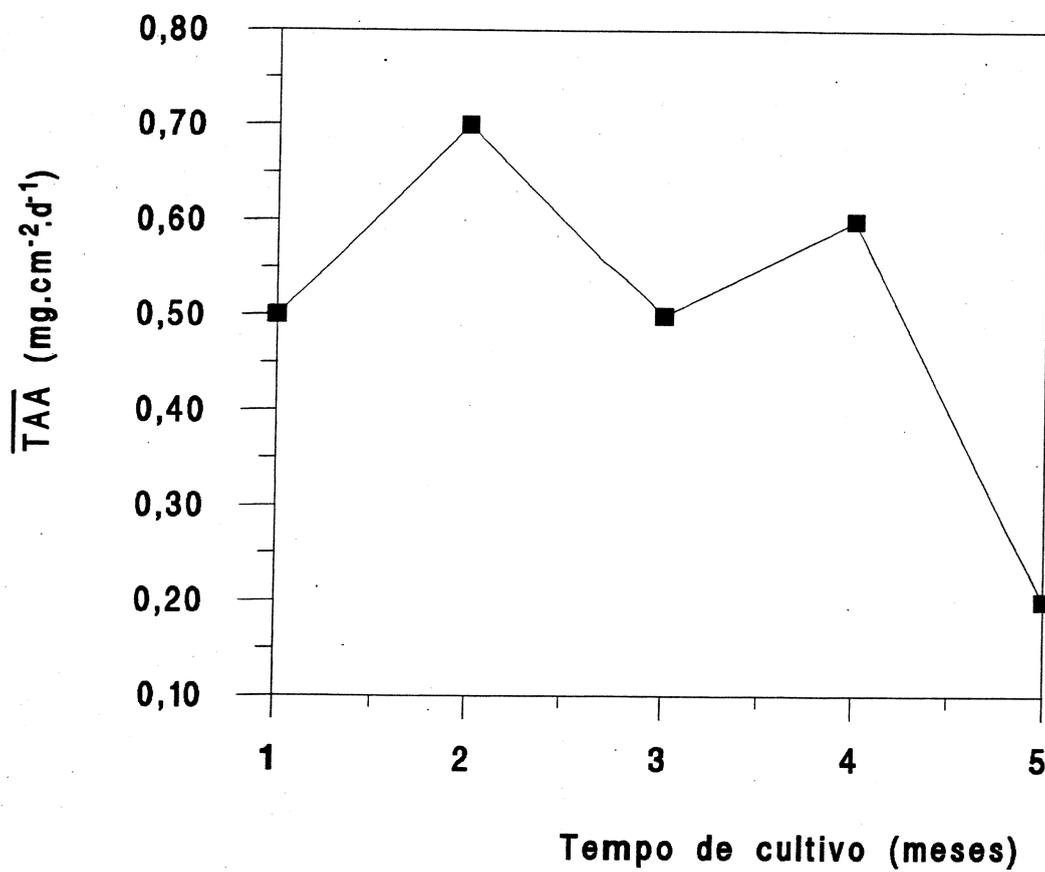


Figura 25. Taxa assimilatória aparente média (\overline{TAA}) de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodo natural.

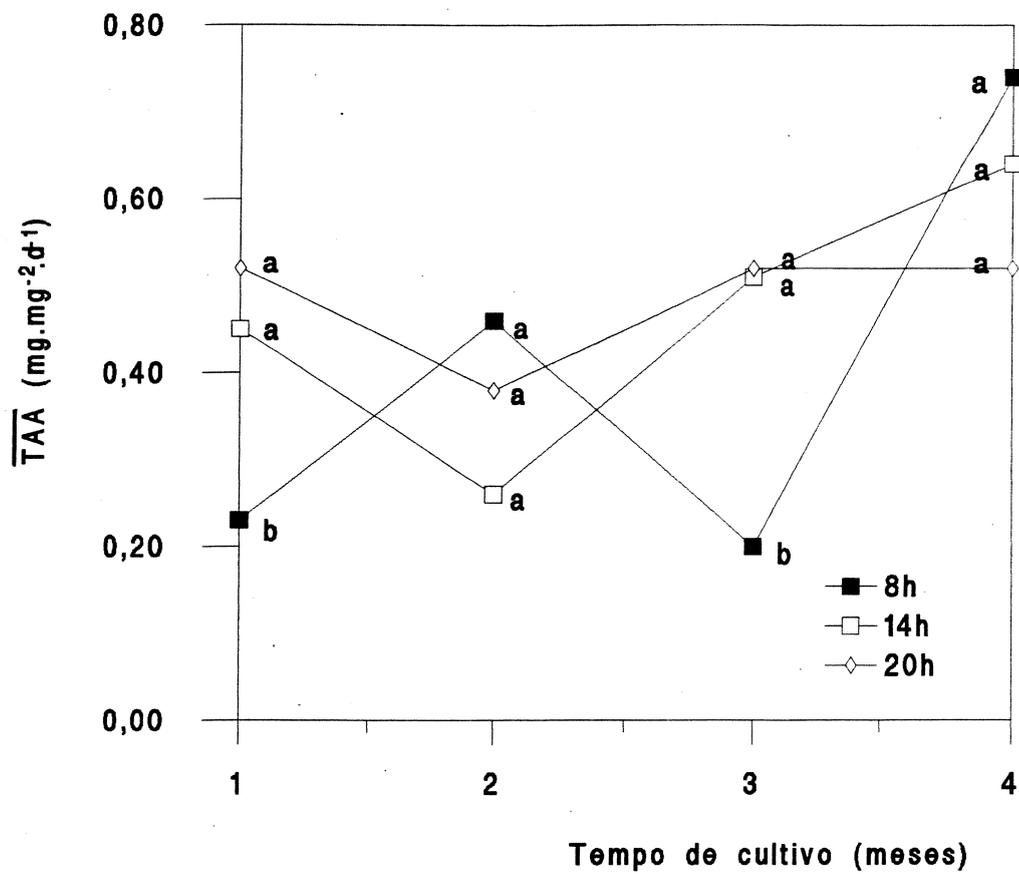


Figura 26. Taxa assimilatória aparente média (\overline{TAA}) de plantas de *Vernonia cognata* mantidas em fotoperíodos de 8 horas, 14 horas e 20 horas. As letras comparam os três fotoperíodos em um mesmo ponto.

4.5 Análise preliminar dos frutanos

O conteúdo de frutanos em diversos órgãos de plantas de *V.cognata* após 4 meses de cultivo, é representado na tabela 7, onde se pode verificar também como estes frutanos se encontram distribuídos em relação ao comprimento relativo das cadeias. Esta análise preliminar dá a idéia de que os maiores teores de frutanos foram encontrados em rizóforos. Em todos os órgãos da planta os valores mais altos ocorreram nas plantas mantidas em 8 horas diárias de luz.

Em plantas mantidas em 20 horas de luz, os teores de polifrutanos foram consideravelmente menores que os teores de oligofrutanos; nos demais fotoperíodos os oligofrutanos também predominaram, mas esta diferença não está tão evidente nos rizóforos.

Tabela 7. Análise preliminar do conteúdo de frutanos em mg por grama de peso seco, de baixo (oligos), intermediário (médios) e alto (polis) peso molecular e a somatória destes (total), nos diversos órgãos de plantas de *Vernonia cognata* cultivadas por 4 meses em condições fotoperiódicas controladas.

| Fotoperíodo | | oligos | médios | polis | total |
|-------------|----------|--------|--------|--------|--------|
| 8h | folhas | 16,24 | 1,57 | 1,33 | 19,14 |
| | caule | 18,16 | 12,09 | 2,29 | 32,54 |
| | rizóforo | 224,89 | 145,08 | 164,99 | 534,96 |
| 14h | folhas | 9,30 | 0,24 | 0,5 | 1,07 |
| | caule | 15,73 | 1,07 | 1,25 | 18,05 |
| | rizóforo | 178,86 | 141,98 | 112,12 | 432,96 |
| 20h | folhas | 10,73 | 1,0 | 0,72 | 12,45 |
| | caule | 15,20 | 0,52 | 0,98 | 16,70 |
| | rizóforo | 162,38 | 106,73 | 14,15 | 283,26 |

5 - Discussão

Os aquênios de *V. cognata* são facilmente diferenciados externamente em claros e escuros, e um experimento preliminar demonstrou não ocorrer germinação nos primeiros assim como o observado em aquênios de *Stevia rebaudiana* (Felippe et al., 1971), uma herbácea nativa do sul do continente. Monteiro (1980) aprofundando-se no caso chegou à conclusão de que os aquênios claros de *S. rebaudiana* não possuem embriões. Os aquênios escuros de *V. cognata* têm baixa porcentagem de germinação (ao redor de 30%).

No caso de plantas de cerrado, Achutti (1978) observou que em 2300 aquênios de *Piptocarpha rotundifolia* havia embrião em apenas 6 deles. Felippe (1990) observou que *Qualea grandiflora* apresenta sementes claras e escuras, porém aqui, são as sementes claras as viáveis (90,7% destas foram coradas pela solução de tetrazólio indicando a existência de embrião viável) e apenas 2% das sementes escuras testadas foram coradas pela solução de tetrazólio. O mesmo ocorreu com *Qualea cordata* (Godoy & Felippe, 1992a) em que apenas 17,7% das 11397 sementes examinadas eram claras e das escuras nenhuma possuía embrião.

A julgar pela baixa germinação em todas as condições experimentadas, *Vernonia cognata* possui muitos aquênios inviáveis como se verificou naqueles abertos para avaliação do teste de tetrazólio, e pode mesmo, ser grande o número de aquênios sem embrião. Isto, entretanto, não foi averiguado neste trabalho.

O período de viabilidade das sementes, armazenadas à temperatura ambiente, caiu mais rapidamente que as armazenadas a 4°C, e já com 8 meses a

viabilidade é bastante baixa (ver figura 8B). Não foram encontradas diferenças significativas constantes entre luz e escuro.

A viabilidade de aquênios de *V. cognata* armazenados em geladeira se mantém por 10 meses, período no qual não foi encontrada diferença significativa com a germinação inicial; esta forma de armazenamento também não alterou o caráter de indiferença à luz na germinação destas sementes, característica comum em espécies de cerrado (Felippe & Silva, 1984).

Santos et al. (1992) estudaram a viabilidade de aquênios de *Eupatorium laevigatum* e *Eupatorium maximiliani*, duas espécies freqüentes no cerrado da Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu, local onde estes aquênios foram coletados. A viabilidade dos aquênios armazenados à temperatura ambiente manteve-se por dez meses (tempo que durou o experimento). Houve uma queda na porcentagem de germinação; os aquênios de *E. laevigatum* apresentaram 6% de germinação no décimo mês (sendo de 40% ao início do experimento) e de *E. maximiliani* 20%, tendo sido de 70% em aquênios recém-coletados.

No presente trabalho foi feita a análise de crescimento de plantas cultivadas em terra de mata, na casa de vegetação do Instituto de Botânica, São Paulo, em fotoperíodo natural durante o verão. Essas plantas, aparentemente sem limitações nutricionais, hídricas ou de temperatura, já a partir do segundo mês de cultivo, iniciam a fase log de crescimento, com produção de massa dirigida principalmente à parte aérea e, mais especificamente, à produção de folhas, como atestam os altos valores de área foliar e de massa na parte aérea ao início do

experimento. A partir do momento em que a planta floresce, deixa de produzir folhas e parte da matéria seca passa a se acumular no caule; o excedente de carbono fixado é mobilizado para a parte subterrânea. Isto foi demonstrado através da diminuição na área foliar, como resultado da queda de folhas mais velhas, da maior massa da parte aérea (apesar desta já não crescer em termos de comprimento) e, mesmo com este crescimento da parte aérea, do aumento da razão de massa da parte subterrânea/massa da parte aérea neste período.

A extrapolação destes dados para o ambiente de cerrado juntamente com observações fenológicas podem constituir importante informação sobre a estratégia evolutiva e adaptativa da espécie. Estas características evoluíram como adaptações das populações aos ambientes que encontraram através de sua história e permitem que as espécies sobrepujem as dificuldades ambientais e sobrevivam às condições competitivas de seu ecossistema. O ciclo anual de eventos fenológicos de uma espécie, dado pela sucessão ou sobreposição de suas fenofases, constitui a fenodinâmica daquela população num determinado local e ecossistema, enquanto que os ritmos anuais das fenofases constituem seu fenorrítmo para aquele período de observação. O conceito de estratégia fenológica refere-se à relação entre a fenodinâmica de uma espécie e as condições ambientais e competitivas em que ela completa seu ciclo anual (Monastério & Sarmiento, 1976).

Isejima & Figueiredo-Ribeiro (1991) estudaram a partição de matéria em diversas fases fenológicas de *Viguiera discolor*, outra espécie de cerrado, também crescendo experimentalmente em solo de mata, e encontraram no início do crescimento maior investimento na parte subterrânea, com baixos valores de TCR na

parte aérea; na floração houve maior investimento na parte aérea, agora com valores da TCR maiores que da parte subterrânea. Além da partição de matéria seca foi estudada a composição dos frutanos em órgãos subterrâneos de plantas de *Viguiera discolor* em diversos fotoperíodos (Isejima et al.,1991), tendo sido observado o aumento das cadeias de frutanos em fotoperíodos indutores de floração (8h e 10h).

Também foi estudada a composição de frutanos e a partição de matéria em outras espécies herbáceas de cerrado, como *Gomphrena macrocephala* (Vieira & Figueiredo-Ribeiro,1993) e *Vernonia herbacea* (Carvalho & Dietrich,1993) e, em *Vernonia oxylepis* (Figueiredo, 1994), apenas a partição de matéria. Nestas é mostrado inicialmente um quadro geral de investimento na brotação e crescimento; após a floração, os fotoassimilados são então dirigidos à parte subterrânea e acumulados na forma de polímeros de frutose de alto peso molecular (polifrutanos), durante a fase de dormência.

Em dias curtos de 8 horas *V. cognata* não floresce, como foi possível constatar em plantas mantidas por mais de um ano sob este fotoperíodo, porém não mantêm crescimento da parte aérea por tempo indefinido. Na verdade o fotoperíodo de 8 horas tem em *V. cognata* efeitos mais notáveis : folhas e caule se desenvolvem menos, o acúmulo de matéria se dá praticamente apenas na parte subterrânea e algumas plantas chegam a apresentar clorose nas folhas mais velhas. Para acentuar os efeitos da menor área foliar, as folhas pequenas se sobrepõem, em função dos entrenós curtos.

Em 8 horas o tamanho relativo do aparelho fotossintetizante destas plantas, representado pela RAF, é sempre superior que os dos demais tratamentos,

assim como a espessura (\overline{AFE}), que só chega a ser menor no terceiro mês. Talvez estas plantas procurem compensar a menor fotossíntese através de uma maximização da área foliar produzida com a menor quantidade de matéria possível, o que resultaria em maiores valores de \overline{AFE} e RAF, o que também está relacionado com menores valores de respiração (Charles-Edwards, 1986).

Em um trabalho com plantas de *Hippeastrum* (espécie possuidora de órgão subterrâneo), Stancato (1992) manteve as plantas sob condições limitantes de luz e relacionou os altos valores de \overline{AFE} encontrados à baixa intensidade luminosa. É interessante notar que plantas de *V. cognata* em dias curtos de 8 horas parecem compensar as inúmeras modificações fisiológicas causadas pelo longo período de escuro com mecanismo semelhante, como seria de se esperar em condições limitantes ao crescimento da planta.

Nos demais tratamentos fotoperiódicos há uma queda pronunciada da RAF no quarto mês de crescimento, associada ao aumento de matéria seca em caules e raízes, e à floração, como descrito para plantas mantidas em fotoperíodo natural. Em fotoperíodo de 20 horas, o valor da área foliar específica média permaneceu igual no terceiro e no quarto meses de tratamento, em função do crescimento de algumas plantas que ainda não haviam florescido. O tratamento de 14 horas provocou comportamento semelhante ao de 20 horas no que se refere a RAF.

Ao se analisar a partição de matéria, nota-se que em todos os fotoperíodos aplicados houve um aumento constante da matéria destinada à parte subterrânea, porém em 8 horas de luz as plantas acumularam proporcionalmente

mais nos rizóforos que em qualquer outro tratamento. O acúmulo de matéria na parte subterrânea fica mais evidente se for tomado como parâmetro a taxa média de crescimento relativo (\overline{TCR}) comparada aos seus componentes (\overline{TCRA} e \overline{TCRS}); assim, temos em 8 horas \overline{TCRS} maior que a \overline{TCR} em todos os pontos, com exceção do primeiro; em 20 horas não há diferença estatística entre as componentes e a \overline{TCR} , denotando um equilíbrio na partição de matéria; 14 horas muito se assemelha a 20 horas nesse aspecto.

Em *Viguiera discolor*, uma outra asterácea de cerrado, o crescimento da parte subterrânea também se dá em dias curtos de 8 horas (Isejima & Figueiredo-Ribeiro, 1991), porém em *Sinningea alagophila* (Gesneriaceae), 8 horas de luz falhou em promover o crescimento do tubérculo (Almeida, 1994); a primeira espécie citada apresenta, ainda, o interessante aspecto de equilibrar a força de dreno tanto da parte aérea (dreno de utilização) como da parte subterrânea (dreno de armazenamento), processo que deve ocorrer também em *V. cognata*, dado os valores de crescimento de ambas as partes não serem diferentes e estarem estas plantas induzidas a florescer nos fotoperíodos de 14 horas e 20 horas.

Essa coexistência de drenos compartilhando os fotoassimilados pode ser a razão do acelerado crescimento das plantas em dias longos, pois como se sabe a fotossíntese pode ser fortemente influenciada pela demanda do dreno (Gifford & Evans, 1981).

Uma outra forma de analisar a taxa de crescimento advém do fato desta não ser apenas função da eficiência fotossintética da planta (medida pela \overline{TAA} e \overline{TAL}) como também de sua eficiência como produtora de área assimiladora,

medida pela RAF e \overline{AFE} (Beadle, 1986). Matematicamente pode-se determinar o papel relativo de cada um destes parâmetros no crescimento da planta, usando uma correlação simples entre estes e a \overline{TCR} ; tomando estes cálculos, torna-se evidente que apenas o aumento da área foliar não explica o crescimento em termos de produção de matéria. Ao invés disso, é a eficiência fotossintética da planta que deve ter sido modulada nos fotoperíodos em questão.

Infelizmente existem poucos trabalhos que abordam o crescimento de plantas herbáceas da maneira feita neste trabalho. A maioria dos estudos já realizados (Godoy & Felipe, 1992; Paulilo & Felipe, 1994; Sasaki, 1995) tratam de espécies arbóreas, que possuem, como acima frisado, um comportamento diferente das espécies herbáceas; em termos de espécies de cerrado, isto se torna ainda mais restritivo. No caso de *V. cognata* seria interessante um estudo comparando plantas crescendo em solo de cerrado.

O que se nota da literatura existente é que espécies herbáceas de cerrado têm seu primeiro ciclo de vida voltado para o estabelecimento de estruturas que garantam seu caráter perene, como é o caso de *Viguiera discolor* com seu xilopódio e de *Vernonia oxylepis*. (Figueiredo, 1994) e seu rizóforo (portanto, com partição de matéria e TCR voltadas à parte subterrânea nos primeiros meses). Só mais tarde estas plantas apresentam qualquer estratégia de crescimento semelhante à de *V. cognata*.

Obviamente o quadro traçado acima é moldado pelo ambiente, que no presente trabalho não é o ambiente natural da espécie. Como o tratamento fotoperiódico mostrou, há menor crescimento da parte aérea e maior formação de

rizóforos em condições de dias curtos em solo de mata, o que talvez se aplique também a outras condições de crescimento desta espécie, possibilitando assim o seu estabelecimento .

Podemos citar como fator adverso ao crescimento destas plantas, em condição natural, a pequena disponibilidade de nutrientes em solos de cerrado (Eiten,1972). Como apontado por Henry & Raper (1991), a escassez de nitrogênio pode resultar numa redução do crescimento foliar, paralelamente a um aumento no crescimento radicular; isto é acompanhado de um aumento na concentração de carboidratos solúveis na raiz , pré-requisito necessário para que possa ocorrer uma rápida absorção de nitrogênio e outros nutrientes. O déficit hídrico também tem implicações no crescimento da porção subterrânea e sua ação é mediada pelo mesmo mecanismo envolvido na resposta à deficiência nutricional: aumento da concentração de ácido abscísico e redução no transporte de citocininas, alterando a extensibilidade da parede celular (Chapin,1991). Em condições de deficiência hídrica, haveria ainda um direcionamento de matéria seca para a raiz, garantindo o seu rápido alongamento e aumentando assim a possibilidade de absorção de água e, conseqüentemente, a razão raiz:parte aérea (Huck et al , 1986). Com esse direcionamento de carbono para o sistema radicular, pode haver também uma redução no crescimento da parte aérea (Schulze et al.,1983).

Tem sido proposto que os frutanos tenham papel na adaptação de diversas espécies submetidas periodicamente ao frio (Pontis & Del Campillo,1985; Pollock,1986) e à seca (Dias-Tagliacozzo, 1995). O ajuste osmótico de plantas submetidas ao déficit hídrico é devido ao acúmulo de solutos, entre eles os

carboidratos que também são usados no crescimento (Thomas & Evans, 1989); Pilon-Smits et al. (1995) propõem mesmo, que os frutanos possam promover também a formação de raízes.

Embora neste trabalho as plantas tenham sido cultivadas em solo de mata rico em nutrientes, como grande quantidade de matéria orgânica e alto índice de CTC (tabela 1) e sobretudo mantidas sob regas diárias, plantas mantidas em 8 horas chegaram a apresentar sintomas de deficiência de magnésio (Salisbury & Ross, 1992) e a matéria seca produzida, como acima frisado, foi claramente direcionada à parte subterrânea, o que indica mecanismos fisiológicos e bioquímicos muito próximos às condições de deficiência mineral e hídrica.

A análise dos frutanos em plantas submetidas aos fotoperíodos de 8 horas, 14 horas e 20 horas constitui uma indicação forte do papel adaptativo do acúmulo de açúcares, pois mesmo que o fotoperíodo de 8 horas iniba o processo de desenvolvimento da planta, não o faz na mesma medida em relação à fotossíntese. O produto líquido desta é então acumulado na forma de polímeros de frutose de diversos tamanhos, todos sendo encontrados em maior quantidade em plantas mantidas neste fotoperíodo. Nos demais tratamentos, o carbono fixado é desviado principalmente para construção de tecidos (caule, folhas e flores) em função da quantidade de nutrientes disponíveis. Caso isto não ocorresse, poderia haver uma inibição das reações de fotossíntese por acúmulo de seu produto: sacarose. Também tem sido proposto (Stitt, 1986; Foyer, 1987) que a sacarose produzida nas células do mesófilo conduz à síntese da frutose 2,6 bifosfato, a qual é reconhecida como importante reguladora da síntese de sacarose e, portanto, da

fotossíntese como um todo.

Resumindo, pode-se dizer pelos resultados obtidos:

a) os aquênios de *V. cognata* apresentam baixa germinação e são indiferentes à luz:

b) o armazenamento à temperatura ambiente só é possível por um ano enquanto o armazenamento em geladeira preserva as características de germinação por 10 meses.

c) o 1º ciclo de crescimento em solo de mata com regas frequentes é caracterizado pela formação do órgão subterrâneo de reserva, que permite a fixação e a perenidade das plantas;

d) a floração ocorre em dias longos (14 e 20 horas) e há grande produção de aquênios.

RESUMO

Aquênios de *Vernonia cognata* Less, uma espécie herbácea perene de cerrado, foram coletados no Horto Florestal da Fepasa no município de São Carlos (SP) e armazenados em frascos de vidro âmbar em geladeira e à temperatura ambiente. Foram realizados testes de germinação bimestrais a 25 °C e 15 °C para verificação do período de viabilidade das sementes.

Também foi estudado o crescimento de plantas em solo de mata, em casa de vegetação sob fotoperíodo não controlado (fotoperíodo natural), assim como nos fotoperíodos de 8, 14 e 20 horas diárias de luz; estes últimos consistiram de oito horas de luz natural em casa de vegetação e complemento do período de iluminação em câmaras com lâmpadas fluorescentes e incandescentes, com uma energia total de $3,5 \mu\text{Em}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. A floração nestas plantas foi avaliada através da determinação do número de plantas com capítulos, do número de dias decorridos para a formação destes, e do número de capítulos por planta.

Além do comprimento e número de folhas, foram determinadas as massas de matéria fresca e seca mensalmente para 9 plantas de cada tratamento. Estes dados foram utilizados para o cálculo dos parâmetros : taxa média de crescimento relativo (TCR) e suas frações constituintes referentes à parte aérea (TCRA) e subterrânea (TCRS), taxa média de assimilação líquida (TAL), taxa média de assimilação aparente (TAA), razão de área foliar (RAF) e área foliar específica (AFE).

Ao final do experimento foi feita a extração fracionada dos frutanos existentes na parte aérea e na parte subterrânea das plantas sob fotoperíodos controlados.

O armazenamento em geladeira manteve a viabilidade dos aquênios de *V. cognata* por um ano, enquanto o armazenamento em temperatura ambiente revelou-se pouco propício à manutenção da viabilidade dos aquênios, comprovado pelo tratamento estatístico feito para os testes de germinação.

O crescimento de plantas de *V. cognata* em dias curtos de 8 horas foi significativamente menor que o dos demais tratamentos em quase todos os parâmetros analisados aos três e quatro meses de experimento. No entanto, estas plantas acumularam mais frutanos por massa seca em ambas as partes analisadas.

Os resultados obtidos nos fotoperíodos de 14 horas e 20 horas foram muito semelhantes entre si quanto ao crescimento, tendo as plantas do último tratamento florescido antes e produzido mais capítulos por planta. No tratamento de 8 horas não houve floração.

O acúmulo de matéria na parte subterrânea de plantas em dias longos de 14 horas e 20 horas manteve-se constante e equivalente ao acúmulo de matéria na parte aérea, ao contrário das plantas em 8 horas que acumularam proporcionalmente mais na parte subterrânea. A partir do início da floração, nota-se um maior acúmulo de matéria na parte subterrânea, denotando a partilha de drenos, em função do que é utilizado para floração e para o acúmulo de reservas. Atribui-se este fato ao acelerado crescimento das plantas em dias longos, quando a fotossíntese é fortemente influenciada pela demanda do dreno, conforme reportado na literatura. Esta característica do crescimento de *V. cognata* é confirmada pelos valores de TCR, TAA e TAL, assim como pela correlação positiva encontrada entre esses parâmetros derivados de crescimento.

7-BIBLIOGRAFIA

- ACHUTTI, M.H.C. 1978. **Aspectos morfológicos e anatômicos do sistema aéreo e subterrâneo e o óleo essencial as folhas de *Piptocarpha rotundifolia* (Less) Baker (Compositae).** Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 212p.
- ALEIXO, M.F.D. & VÁLIO, I.F.M. 1976. Effect of light, temperature and endogenous growth regulators on the growth of buds of *Cyperus rotundus* L. tubers. **Z. Pflanzenphysiol.** 80: 336-347.
- ALMEIDA, V.P. 1994. **Tuberização em *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae), uma espécie de cerrado.** Tese de Doutorado, Universidade de Campinas, Campinas, 168p.
- ARASAKI, F.R. 1993. **Crescimento foliar em árvores e crescimento inicial em plântulas de *Kielmeyera coriacea* Mart.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 170p.
- BARRADAS, M. M. & HANDRO, W. 1974. Algumas observações sobre a germinação de semente do barbatimão *Stryphnodendron barbadetiman* (Vell.) Mat. (Leguminosae - Mimosoideae). **Bol. Botânica, USP** 2:139-150.
- BEADLE, C.L. 1986. Plant growth analysis. *In* **Techniques in bioproductivity and photosynthesis** (J.Coombs & D.O.Hall, eds.), Pergamon Press, Oxford, p.20-25.
- CARVALHO, M.A.M. & DIETRICH, S.M.C. 1993. Variation in fructan content in the underground organs of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. **New Phytol.** 123: 735-740.

- CESARINO, F., ZAIDAN, L.B.P. & RUGGIERO, P.G.C. 1994. Crescimento e floração em *Viguiera aff. robusta* sob três condições fotoperiódicas. *In* Resumos do XLV Congr. Nac. Bot. (Sociedade Botânica do Brasil, ed.), São Leopoldo, p.194.
- CHAPIN, F.S. 1991. Integrated responses of plants to stress : a centralized system of physiological responses. **Bioscience** **41**: 29-36.
- CHARLES-EDWARDS, D.A.; DOLEY, D. & RIMINGTON, G.M. 1986. *In* **Modelling plant growth and development** (H.B. Jovanovich, ed.), Academic Press, Sidney, 235 p.
- COUTINHO, L.M. 1992. O Cerrado e a ecologia do fogo. **Clênc. Hoje volume especial Eco Brasil**: 130-139.
- DELOUCHE, J.C., STILL, T.W., RASPET, M. & LIENHARD, M. 1962. The tetrazolium test for seed viability. **Miss. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull.** **51**:1-63.
- DIAS TAGLIACOZZO, G.M. 1995. **Frutanos de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby : variações em função da temperatura e da disponibilidade de água.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 104p.
- DIONELLO, S.B. 1978. **Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Kielmeyera coriacea* Mart.** Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 123 p.
- DORE, J. 1959. Response of rice to small difference in length of day. **Nature** **183**: 413-414.
- EDELMAN, J. & JEFFORD, T.G. 1968. The mechanism of fructan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus*. **New Phytol.** **67**: 517-531.
- EITEN, G. 1972. The cerrado vegetation of Brazil. **Bot. Rev.** **38**:201-341.

- FELIPPE, G.M. & SILVA, J.C.S. 1984. Estudos de germinação em espécies do cerrado. **Revta brasil. Bot.** 7: 157-163.
- FIGUEIREDO, D. 1994. **Desenvolvimento de *Vernonia oxylepis*, uma espécie herbácea do cerrado.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 121p.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L., DIETRICH, S.M.C., CHU, E.P., CARVALHO, M.A.M., VIEIRA, C.C.J. & GRAZIANO, T.T. 1986. Carboidratos de reserva em órgãos subterrâneos de plantas nativas brasileiras. **Revta brasil Bot.** 9:159-166.
- FOYER, C.H. 1987. The basis for source-sink interaction in leaves. **Plant Physiol. Biochem.** 25: 649-657.
- GIFFORD, R.M. & EVANS, L.T. 1981. Photosynthesis, carbon partitioning and yield. **Annu. Rev. Plant Physiol.** 32: 485-509.
- GODOY, S.M.A. de & FELIPPE, G.M. 1992a. *Qualea cordata*. a semente e sua germinação. **Revta brasil. Bot.** 15: 17-21.
- GODOY, S.M.A. de & FELIPPE, G.M. 1992b. Crescimento inicial de *Qualea cordata*, uma árvore dos cerrados. **Revta brasil. Bot.** 15: 23-29.
- HENRY, L.T. & RAPER, D.Jr. 1991. Soluble carbohydrate allocation to roots, photosynthetic rate of leaves, and nitrate assimilation as affected by nitrogen stress and irradiance. **Bot. Gaz.** 152: 23 - 33.
- HENDRY, G.A.F. & WALLACE, R.K. 1993. The origin distribution and evolutionary significance of fructans. *In Science and Technology of Fructan* (M. Suzuki & J.N.Chatterton, eds.) Boca Raton, CRC Press,

- HUCK, M.G.; PETERSON, C.M.; HOOGENBOOM, G. & BUSCH, C.D. 1986. Distribution of dry matter between shoot and roots of irrigated and nonirrigated determinate soybeans. *Agron. J.* **78**: 807-817.
- HUNT, R. 1978. **Plant growth analysis**. Edward Arnold ed. London, 67p.
- ISEJIMA, E.M. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1991. Partição de matéria seca durante o desenvolvimento de *Viguiera discolor*. *Revta brasil Bot.* **14**:107-114
- ISEJIMA, E.M., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. & ZAIDAN, L.B.P. 1991. Fructan composition in adventitious tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae) as influenced by daylength. *New Phytol.* **119**:149-154.
- JOLY, C.A. & FELIPPE, G.M. 1978. Fenologia e germinação de *Rapanea guianensis* e *Zeyhera digitalis*. *Ciênc. Cult.* **30 (supl.)**:418.
- KANDLER, O. & HOPF, H. 1980. Occurrence, metabolism and function of oligosaccharids. *In The biochemistry of plants*. vol.3: carbohydrates: structure and function (J. Press, ed.) Academic Press, New York, p.221-270
- KATAYAMA, T.C. 1964. Photoperiodism in the genus *Oryza*. *Jpn.J. Bot.* **18**:309-383.
- KIRSZENZAFT, S.L. & FELIPPE, G.M. 1976. Efeito da época e local de coleta na germinação de *Bidens pilosa* L. *Ciênc. Cult.* **29(supl.)**: 562.
- KIRSZENZAFT, S.L. & VÁLIO, I.F.M. 1979. Vegetative growth of *Bidens pilosa* L. under different photoperiods. *Revta brasil. Bot.* **2**: 41-44.
- KLEIN, A.L., ZAIDAN, L.B.P. & FELIPPE, G.M. 1992. Floração e heterofilia em *Bidens gardneri* Baker. *Revta brasil. Bot.* **15**: 139-144.

- LABOURIAU, L.G. 1976. **Objetivos e instalações básicas de um laboratório de fisiologia vegetal**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro,
- LEITÃO-FILHO, H.F. 1972. **Contribuição ao conhecimento taxonômico da tribo Vernonieae no Estado de São Paulo**. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 213p.
- LORENZI, H. 1991. **Plantas daninhas do Brasil**. Ed. Plantarum, Nova Odessa, 440 p.
- MANTOVANI, W. & MARTINS, F.R. 1988. Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji Guaçu, Estado de São Paulo. **Revta. brasil. Bot.** 11(1/2): 101-112.
- MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. 1982. **The germination of seeds**, Pergamon Press, New York, 192 p.
- MENEZES, N.L.; MULLER, C. & SAJO, M.G. 1979. Um novo e peculiar tipo de sistema subterrâneo em espécies de Vernonia da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil). **Bolm. Bot., Univ. S. Paulo**, 7: 33-38.
- MEDINA, E. & BILBAO, B. 1991. Significance of nutrient relations and symbiosis for the competitive interaction between grasses and legumes in tropical savannas. *In* **Modern ecology : basic and applied aspects** (G. Esser & D. Overdieck, eds.), Elsevier Science Publ. B.V. Amsterdam, p. 295-319.
- MEIER, H. & REID, J.S.G. 1982. Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. *In* **Encyclopedia of plant physiology**. New Series, vol. 13 A. Plant carbohydrates I. (F.A. Loewes & Tanner, eds.), Springer-Verlag, p. 418-471.

- MONASTÉRIO, M. & SARMIENTO, G. 1976. Phenological strategies of plant species in the tropical savanna and semi-deciduous forest of the Venezuelan Llanos. **J. Biogeogr.** 3:325-355.
- MONTEIRO, R. 1980. **Taxonomia e biologia da reprodução de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 104p.
- NJOKU, E. 1958. The photoperiodic response of some Nigerian plants. **J. W. Afr. Sci. Ass.** 4: 1598-1599.
- PAULILO, M.T.S. & FELIPPE, G.M. 1994. Contribuição dos cotilédones e partição de matéria durante o crescimento inicial de *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). **Revta brasil. Bot.** 17: 87-91.
- PAVIANI, T.I. 1987. Anatomia do desenvolvimento do xilopódio de *Brasília sickii* G.M. Barroso. Estágio inicial. **Ciênc. Cult.** 39: 399-405.
- PILON-SMITS, E.A.H.; EBSKAMP, M.J.M.; PAUL, M.J.; JEUKEN, M.J.W.; WISBEEK, P.J. & SMEEKENS, S.C.M. 1995. Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. **Plant Physiol.** 107:125-130.
- POLLOCK, C.J. 1986. Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. **New Phytol.** 104: 1-24.
- POLLOCK, C.J. & JONES, T. 1979. Seasonal patterns of fructan and metabolism in forage grasses. **New Phytol.** 83: 8-15
- PONTIS, H.G. 1990. Fructans. *In* **Methods in plant biochemistry**. Vol. 2, carbohydrates (P.M. Dey & J.B. Harborne, eds.) Academic Press, London, p.353-369.

- ONTIS, H.G. & DEL CAMPILLO, E. 1985. Fructans *in* **Biochemistry of storage carbohydrates in green plants** (P.M.Dey & R.A.Dixon, eds.) Academic Press, London, p.205-227.
- ZZINI, C.T. 1970. Efeito tegumentar na germinação de *Eugenia dysenterica* DC (myrtaceae). **Revta brasil. Biol.** 30: 381-402.
- OBERTS, H.A. & TOFFERDEL, S. 1981. Seed dormancy in *Rumex* species in response to environmental factors. **Plant Cell Environ.** 4: 97-106.
- ALISBURY, F.B. & ROSS, C.W. 1992. **Plant Physiology**. Wadsworth Publishing Company, Belmont, 682 p.
- ANTOS, M.C. dos; LADEIRA, A.M. & YOUNG, M.C.M. 1992. Germinação e inibidores em aquênios de *Eupatorium maximiliani* e *E. laevigatum*. *In* **Resumos do IX Congr. Soc. Bot. São Paulo** (Soc. Bot. São Paulo, ed.), Ilha Solteira, p 248.
- ASSAKI, R.M. 1995. *Dalbergia miscolobium* Benth.: aspectos da biologia reprodutiva e do estabelecimento de plântulas. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 195 p.
- ASSAKI, R.M. & FELIPPE, G.M. 1992. Viabilidade de sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. (Fabaceae). **Revta brasil. Bot.** 15: 1-3.
- CHULZE, F.D.; SCHILLING, K. & NAGARAJAH, S. 1983. Carbohydrate partitioning in relation to whole plant production and water use of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Oecologia** 58: 169-177.
- NEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. 1989. **Statistical Methods**. Iowa State University Press, Iowa, 503p.

- ANCATO, G.C. 1992. **Fisiologia do crescimento em *Hippeastrum hybridum* cv. Apple Blossom: relações fonte/dreno.** Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 52 p.
- ATT, M. 1986. Regulation of photosynthetic sucrose synthesis: Integration, adaptation, and limits. *In Phloem Transport* (J. Cronshaw, W.J. Lucas & R.T. Giaquinta, eds.), Alan R. Liss, New York,
- UBBLEBINE, W., LANGENHEIM, J.M. & LINCOLN, D. 1978 . Vegetative response to period in the tropical leguminous tree *Hymenaea courbaril* L. **Biotropica** **10**: 18-29.
- ERTULIANO, M.F. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1993. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. **New Phytol.** **123**: 741-749.
- OMAS, H. & EVANS, C. 1989. Effects of divergent selection for osmotic adjustment on water relations and growth of plants of *Lolium perene*. **Ann. Bot.** **64**: 581-587.
- ILIO, I.F.M. 1966 . Efeito do fotoperiodismo na abscisão anual de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo, **Apq. Bot. S Paulo** **4**:105-108.
- ILIO, I.F.M. & ROCHA, R.F. 1977 . Effect of photoperiod and growth regulator on growth and flowering of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Jpn.J. Crop Sci.** **46**: 243-248 .
- EIRA, C.C.J. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1993. Fructose-containing carbohydrates in the tuberous root of *Gomphrena macrocephala* St.Hill. (Amaranthaceae) at different phenological phases. **Plant. Cell Environment** **16**: 919-928.
- NCE-PRUE, D. 1975. Photoperiodism in plants. McGraw Hill Book Company, London, 444p.

WILLIAMS, R.F. 1946. The physiology of plant growth with special reference to the concept of net assimilation rate. *Ann. Bot.* 10: 41-72.

ZAIDAN, L.B.P. & FELIPPE, G.M. 1981. Floração de plantas do cerrado. I. *Bidens brasiliensis*. *Ciênc. Cult.* 33(supl.): 747

ZAIDAN, L.B.P. & FELIPPE, G.M. 1994. Flowering of cerrado plants: experiments in semi-controlled environmental conditions. *Flowering Newsletter* 18: 4-11.

ZAIDAN, L.B.P., DIETRICH, S.M.C. & SCHWABE, W.W. 1991. Effects of temperature and photoperiod on flowering in *Hyptis brevipes*. *Physiol. Plant.* 81: 221-226 .