

DARCI REIKO ONODERA MUKUNO

*Este trabalho corresponde à
Redação final da Tese defendida
pelo Dr. Darci R.O. Mukuno
e aprovada pelo Conselho
15/10/84
Orientador*

Orientador : Prof. Dr. I. F. M. VÁLIO

EFEITO DE FATORES ENDÓGENOS E EXÓGENOS
NO CRESCIMENTO DE EICHHORNIA CRASSIPES
(MART) SOLMS. (AGUAPÉ).

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.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. IVANY F. M. VÁLIO, pela orientação e apoios dados durante a realização deste trabalho.
- Aos Profs. Dr. GIL MARTINS FELIPPE, Dr. LADSLAV SODEK, e Dra. MARIA DE FÁTIMA A. PEREIRA, pelas críticas e sugestões dadas na redação deste trabalho.
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudo.
- A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	2
1. Caracteres gerais da planta	2
2. Efeito dos fatores ambientais no desenvolvimento do aguapé	2
3. Influência dos reguladores de crescimento no desenvolvimento do aguapé	4
4. Detecção de substâncias de crescimento em aguapé ...	5
III. MATERIAL E MÉTODOS	6
1. Condições gerais de crescimento	6
1.1. Crescimento Vegetativo	6
2. Fatores do meio ambiente	7
2.1. Nutrição	7
2.2. Intensidade Luminosa	7
2.3. Temperatura	7
2.3.1. Temperatura do Ar	7
2.3.2. Temperatura da Água	8
2.3.3. Temperatura do Solo	8
2.4. Fotoperíodo	8
2.5. Substrato	9
2.6. Restrição do espaço para o crescimento	9
3. Fatores Endógenos	9
3.1. Reguladores de Crescimento	9
3.2. Extração e purificação de substâncias com <u>ativi</u>	

dade giberelínica e citocinínica	11
3.3. Bioensaios	11
3.3.1. Bioensaio para Giberelinas	13
3.3.2. Bioensaio para Citocininas	13
4. Coleta de dados	14
IV. RESULTADOS	16
1. Índice de estiolamento	16
2. Condições gerais de crescimento	16
2.1. Crescimento Vegetativo	16
3. Fatores do meio ambiente	20
3.1. Nutrição	20
3.2. Intensidade Luminosa	25
3.3. Temperatura	30
3.4. Fotoperíodo	35
3.5. Fotoperíodo a diferentes temperaturas	40
3.6. Substrato	48
3.7. Restrição do espaço para o crescimento	55
4. Fatores Endógenos	65
4.1. Reguladores de Crescimento	65
4.1.1. Ácido Giberélico	65
4.1.2. Cinetina	69
4.1.3. Ácido Giberélico e Cinetina	69
4.2. Detecção de Substâncias de Crescimento	74
4.2.1. Extração e Aplicação de Bioensaios para Giberelinas e Citocininas	74
a. Giberelinas	77
b. Citocininas	77
V. DISCUSSÃO	81

VI.	CONCLUSÃO	86
VII.	RESUMO	87
VIII.	LISTA DE ABREVIATURAS	89
IX.	LITERATURA CITADA	90

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1.	Relógios utilizados no registro das temperaturas da água e do solo	10
Figura 2.	Técnica empregada no confinamento das plantas de aguapê com área circular de $0,05\text{ m}^2$.	10
Figura 3.	Extração de substâncias com atividade de gibberelinas e citocininas das raízes de plantas de aguapê	12
Figura 4.	Esquema de uma folha flutuante de aguapê com pecíolo intumescido e pequeno crescimento no comprimento da folha	17
Figura 5.	Esquema de uma folha alongada de aguapê com pecíolo afilado e um aumento acentuado no comprimento da folha	17
Figura 6.	Detalhe da planta mãe de aguapê submetida ao crescimento parcial	18
Figura 7.	Detalhe da planta mãe de aguapê submetida ao crescimento total	18
Figura 8.	Colônia de plantas de aguapê resultantes da reprodução da planta mãe (Fig. 7) mostrada acima	18
Figura 9.	Resultado do efeito do crescimento da planta	

mãe com e sem remoção das plantas filhas no alongamento das folhas do aguapê	21
Figura 10. Resultados do efeito da disponibilidade de nutrientes no alongamento das plantas de a- guapê mantidas com e sem a reprodução vege- tativa	22
Figura 11. Detalhe de plantas mãe de aguapê submetidas ao crescimento parcial em solução nutritiva de HOAGLAND	23
Figura 12. Detalhe de plantas mãe de aguapê submetidas ao crescimento total em solução nutritiva de HOAGLAND	23
Figura 13. Detalhe de 2 plantas mãe de aguapê submeti- das ao crescimento total (esquerda) e cres- cimento parcial (direita)	26
Figura 14. Vista geral do tratamento : crescimento to- tal	26
Figura 15. Vista geral do tratamento: crescimento to- tal	26
Figura 16. Plantas de aguapê submetidas a intensidades de luz alta (a), média (b) e baixa (c)	27
Figura 17. Resultado da influência da variação da in- tensidade luminosa no alongamento das fo- lhas do aguapê	29

Figura 18. Resultados da influência de 2 regimes de temperatura : $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$ e $20^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$ no alongamento das folhas de plantas de aguapê inicialmente flutuantes	31
Figura 19. Efeito de 2 regimes de temperatura: $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$ e $20^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$ em plantas de aguapê inicialmente alongadas	32
Figura 20. Resultados da influência de temperaturas diferentes : $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$ e $25^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$ em plantas de aguapê inicialmente flutuantes	34
Figura 21. Vista em detalhe de plantas de aguapê inicialmente flutuantes, após o tratamento de temperatura de $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$ (esquerda) e $25^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$ (direita)	36
Figura 22. Resultados do tratamento fotoperiódico em plantas de aguapê submetidas a temperatura de 26°C	37
Figura 23. Resultados do tratamento fotoperiódico em plantas de aguapê submetidas a temperatura de 17°C	38
Figura 24. Plantas de aguapê submetidas a fotoperíodos curtos durante a época fria (17°C)	39
Figura 25. Plantas de aguapê submetidas a fotoperíodos longos durante a época fria (17°C)	39
Figura 26. Resultados do tratamento fotoperiódico nas-	

sociado a 2 regimes diferentes de temperatura do ar em plantas flutuantes de aguapé .. 42

Figura 27. Efeito de fotoperíodos curtos associados a temperaturas de 30°C/25°C (esquerda) e 24°C/16°C (direita) em plantas de aguapé 43

Figura 28. Efeito de fotoperíodos longos associados a temperaturas de 30°C/25°C (esquerda) e 24°C/16°C (direita) em plantas de aguapé 43

Figura 29. Resultados do tratamento fotoperiódico em plantas de aguapé submetidas a temperatura de 17°C 46

Figura 30. Resultado do efeito de fotoperíodos curtos e longos a temperatura do ar de 25°C e temperaturas da água de 19°C e 27°C no alongamento das folhas do aguapé 49

Figura 31. Plantas de aguapé mantidas sob fotoperíodos curtos com temperatura do ar de 25°C e temperatura média da água a 19°C (esquerda) e 27°C (direita) 50

Figura 32. Plantas de aguapé mantidas sob fotoperíodos longos com temperatura do ar de 25°C e temperatura média da água a 19°C (esquerda) e 27°C (direita) 50

Figura 33. Resultados do tratamento fotoperiódico associado a diferentes temperaturas da água no alongamento das folhas do aguapé 51

- Figura 34. Vista geral de plantas mantidas fixas no solo (esquerda) e plantas mantidas em água, controle, (direita) durante a época fria .. 53
- Figura 35. Detalhe das raízes de uma planta de aguapê enraizada no solo (esquerda) durante a época fria e da epinastia apresentada pelas folhas de plantas fixas no substrato (direita) na época quente 53
- Figura 36. Resultados do efeito do substrato na forma das folhas de plantas de aguapê com flutuadores crescidas durante o inverno (A) e primavera (B) 54
- Figura 37. Detalhe da morfologia das folhas do aguapê, onde a multiplicação vegetativa foi permitida (esquerda) e onde somente as plantas mãe permaneceram (direita) 59
- Figura 38. Resultado do efeito da restrição do espaço na alteração da forma das folhas do aguapê durante o inverno (a); primavera (b) e sob condições artificiais a baixa temperatura (c) 63
- Figura 39. Detalhe de plantas de aguapê crescidas em espaço não limitado (esquerda) e em espaço limitado (direita) durante o inverno 64
- Figura 40. Detalhe de plantas de aguapê com folhas alongadas mantidas sem restrição do espaço (esquerda) e em espaço restrito (direita) para seu crescimento a baixas temperaturas .. 64

Figura 41. Resultado do efeito do GA_3 na mudança da forma das folhas de plantas de aguapé	67
Figura 42. Plantas de aguapé crescidas em solução de GA_3 a $10^{-6}M$ (a); somente em água, controle (b); GA_3 a $10^{-5}M$ (c) e GA_3 a $10^{-4}M$ (d)	68
Figura 43. Detalhe das folhas de plantas de aguapé mantidas em solução nutritiva com GA_3 a concentração de $10^{-4}M$	68
Figura 44. Resultado do efeito da cinetina na mudança da forma das folhas de plantas do aguapé ...	71
Figura 45. Detalhe de plantas de aguapé mantidas somente em água, controle, (a); em solução de GA_3 a $10^{-5}M$ (b); em solução de cinetina a $10^{-5}M$ (c) e em solução de $GA_3 + K$, ambos a $10^{-5}M$ (d)	73
Figura 46. Detalhe da ausência de raízes secundárias em plantas de aguapé tratadas com solução de cinetina a $10^{-5}M$ (a) e solução de $GA_3 + K$ a $10^{-5}M$ (b)	73
Figura 47. Resultado do efeito da interação entre o GA_3 e a K no alongamento das folhas do aguapé ..	75
Figura 48. Resultados do bioensaio para giberelinas com extrato de raízes de plantas alongadas de aguapé, equivalentes a 2,0 g de peso seco ...	78

Figura 49. Resultados do bioensaio para giberelinas com extrato de raízes de plantas flutuantes e de aguapé, equivalentes a 2,0 g de peso seco .. 78

Figura 50. Resultados do bioensaio para citocininas em extratos de raízes de plantas alongadas (A) e plantas flutuantes (B) de aguapé, equivalentes a 2,0 g de peso seco 79

Figura 51. Resultados do bioensaio para citocininas utilizando-se padrões de Z (A) e RbZ (B) à concentração de 10 µg/ml 79

ÍNDICE DAS TABELAS

Tabela 1.	Crescimento da planta mãe com e sem remoção das plantas filhas do aguapê	19
Tabela 2.	Efeito da disponibilidade de nutrientes no alongamento das plantas de aguapê mantidas com e sem a reprodução vegetativa	24
Tabela 3.	Variação na intensidade luminosa e seu efeito no desenvolvimento de plantas de aguapê.	28
Tabela 4.	Efeito de 2 regimes de temperatura : 30°C/25°C e 20°C/15°C em plantas de aguapê com folhas flutuantes e folhas alongadas	33
Tabela 5.	Efeito de 2 regimes de temperatura : 30°C/25°C e 25°C/20°C em plantas de aguapê com folhas flutuantes	33
Tabela 6.	Plantas submetidas a fotoperíodos curtos e fotoperíodos longos com temperatura média do ar de 26°C e 17°C	41
Tabela 7.	Efeito de fotoperíodos curtos e fotoperíodos longos associados a temperaturas de 30°C/25°C e 24°C/16°C em plantas de aguapê com folhas flutuantes	44
Tabela 8.	Efeito de fotoperíodos curtos e fotoperíodos longos associados a temperatura do ar constante a 23°C e temperatura da água de	

Tabela 9. Crescimento de plantas de aguapê com flutuadores sob fotoperíodos curtos e fotoperíodos longos a temperatura do ar de 25°C e temperatura da água de 19°C e 27°C	52
Tabela 10. Efeito do substrato na forma das folhas de plantas de aguapê com flutuadores crescidas no inverno e na primavera	56
Tabela 11. Dados da temperatura média do ar do ano de 1981	57
Tabela 12. Dados da temperatura média do ano de 1982.	61
Tabela 13. Influência da densidade das plantas de aguapê no alongamento das folhas durante o inverno, primavera e sob condições artificiais a baixa temperatura	66
Tabela 14. Efeito do ácido giberélico no crescimento das plantas de aguapê	70
Tabela 15. Efeito da cinetina no crescimento das plantas de aguapê	72
Tabela 16. Resultados da interação entre o ácido giberélico e a cinetina na concentração de $10^{-5}M$ no crescimento das plantas de aguapê	76

I. INTRODUÇÃO

Na natureza, particularmente em locais de águas fluviais e lacustres mais quentes, observa-se um desenvolvimento reprodutivo muito grande do aguapé (*Eichhornia crassipes*), o que lhe permite povoar uma superfície livre de água em poucos dias. Isto é possível, pois seu crescimento se dá não apenas no sentido vertical mas também no sentido horizontal, com um aumento no número de plantas, baseado na capacidade das mesmas se reproduzirem vegetativamente.

Também, observa-se a ocorrência de plantas de aguapé, que dependendo da época do ano ou das condições ambientais a que são submetidas, podem apresentar folhas com duas formas diferentes. O tipo de folha mais comumente encontrado, apresenta um pecíolo dilatado contendo ar em seu interior, o que lhe permite flutuar; no outro tipo de folha, o pecíolo se apresenta estreitado em toda a sua extensão, tornando-se o mesmo alongado e portanto incapaz de flutuar.

Esta variação na morfologia das folhas também pode ser observada pela aplicação de reguladores de crescimento.

Sabe-se que em plantas terrestres o meio ambiente tem influência no seu desenvolvimento, pela variação na concentração de substâncias de crescimento. É possível que o mesmo ocorra na mudança da morfologia das folhas de plantas aquáticas como o aguapé.

Assim, este estudo foi realizado para comparar os dois tipos de crescimento (crescimento da planta mãe com e sem remoção das plantas filhas) e observar se ocorrem diferenças entre ambos. Também foram verificados em ambos os casos, o efeito dos fatores ambientais e o efeito de alguns reguladores de crescimento responsáveis pela variação na forma das folhas, além de determinar a provável presença de substâncias de crescimento envolvidas no sistema radicular do aguapé.

II. REVISÃO DE LITERATURA

1. Caracteres gerais da planta

O aguapé é uma planta aquática flutuante, perene, nativa do Brasil, com larga distribuição nas regiões tropicais e subtropicais. Consiste de raízes, rizomas, estolões, folhas e inflorescências (PENFOUND e EARLE, 1948).

A reprodução destas plantas ocorre por multiplicação vegetativa de forma bastante eficiente, além da reprodução por sementes.

As raízes são purpúreas em situações de luminosidade, mas brancas quando no escuro ou quando enraizadas no solo (OLIVE, 1894).

A folha tem sido objeto de muitas discussões entre os botânicos (OLIVE, 1894). Nas plantas flutuantes típicas, as porções intumescidas dos pecíolos das folhas são referidas como flutuadores. Esta folha é composta de uma lígula membranosa, subflutuador (porção entre a base e o flutuador), flutuador (bulbo contendo ar em seu interior), istmo (porção entre o flutuador e a lâmina) e a lâmina foliar (PENFOUND e EARLE, 1948), a qual de acordo com ARBER, (1920, in PENFOUND e EARLE, 1948) não é uma lâmina verdadeira, mas meramente uma extensão do pecíolo.

Sob certas condições, a região do pecíolo se estreita não sendo possível determinar os limites entre o subflutuador, flutuador e istmo. Neste tipo de folha a planta perde a capacidade de flutuar.

2. Efeito dos fatores ambientais no desenvolvimento do aguapé

O meio ambiente parece influenciar a alteração da forma das plantas.

BORESCH (1912), observou em seus experimentos, que plantas de aguapé quando sombreadas desenvolviam pecíolos alongados.

gados, ao contrário das plantas não sombreadas que mantinham seus pecíolos inflados. Quando as condições de luminosidade foram invertidas, o autor verificou uma reversão do efeito na forma das folhas. Segundo ele, esta fotomorfose é de especial interesse pelo fato de que uma modificação relativamente pequena do estímulo desencadeia uma reação morfogênica tão nítida.

PENFOUND e EARLE (1948), determinaram em seus estudos, que o aguapé apresenta folhas flutuantes somente quando a intensidade de luz é alta e em soluções de altas pressões osmóticas.

Também foi observado que o alongamento das folhas pode ocorrer por influência de temperaturas mais altas aplicadas às plantas de aguapé (BORESCH, 1912).

Sabe-se que o fotoperíodo é um fator que atua no desenvolvimento das plantas. Há evidências que sugerem que diferenças morfológicas podem ser devidas a fatores do ambiente como o fotoperíodo e a temperatura, como foi relatado por SALISBURY e ROSS, (1969) em um grande número de espécies.

Observações preliminares mostraram que no caso do aguapé parece existir uma interação entre fotoperíodos longos e temperaturas altas, que causam o desaparecimento do flutuador, ficando a folha alongada.

Foi observado por GOEBEL, (1889 in BORESCH, 1912) ; SPRUCE, (1908 in PENFOUND e EARLE, 1948); BORESCH (1912) e PENFOUND e EARLE (1948), que também o alongamento das folhas de aguapé ocorre quando as plantas se acham enraizadas no solo, lama ou fixas na margem de lagos.

Quando plântulas ou plantas desenvolvidas foram confinadas por várias horas em recipientes cobertos, epinastia das folhas foi observada por PENFOUND e EARLE (1948), levando-os a supor que a oxigenação pobre do ar ou da água, poderia ser o fator que induziu a epinastia.

A ausência de folhas com flutuadores também pode ser observada em massas densas de plantas no campo. Durante o ve-

rão, PENFOUND e EARLE (1948) observaram uma colônia bem desenvolvida de aguapê, onde as plantas com folhas flutuantes eram evidentes somente em águas abertas. À medida que se atingia o interior da colônia as folhas mudavam progressivamente de flutuantes para um tipo intermediário com flutuadores pouco desenvolvidos até folhas alongadas típicas.

3. Influência dos reguladores de crescimento no desenvolvimento do aguapê

Além dos fatores externos mencionados, existem os fatores internos, as substâncias de crescimento. A aplicação de reguladores de crescimento resulta em mudanças no desenvolvimento das plantas. Em plantas terrestres esta influência é conhecida e bastante estudada.

Em plantas aquáticas, principalmente o aguapê, poucos trabalhos existem a respeito.

PIETERSE et al. (1976) encontraram que a formação dos flutuadores no aguapê pode ser inibida por concentrações extremamente baixas de ácido giberélico na água, com proporcional aumento do comprimento das folhas quanto maior foi a concentração de ácido giberélico testada. Além disso, foi observada uma marcante inibição na multiplicação vegetativa e indução da floração.

Por outro lado, as folhas com flutuadores, na presença de 6-benziladenina, se tornaram ligeiramente mais espessas que o controle e as plantas com folhas alongadas, tratadas anteriormente com o ácido giberélico, reproduziram flutuadores mais rapidamente na presença do que na ausência de 6-benziladenina (PIETERSE et al., 1976).

Do ponto de vista histológico, a alteração morfológica foliar do aguapê foi observada por BORESCH (1912), mostrando em corte transversal, que a região dos flutuadores nas folhas alongadas, apresentava uma relevante diminuição do número

de câmaras aéreas (aerênquimas), além de uma diminuição das dimensões transversais. Cortes longitudinais mostraram um aumento no comprimento dos aerênquimas em relação às folhas flutuantes.

Do ponto de vista fisiológico, PIETERSE et al. (1976), sugeriram que fatores externos que influenciam a formação dos flutuadores no aguapé, atuam através de giberelinas endógenas e talvez citocininas.

4. Detecção de substâncias de crescimento em aguapé

SIRCAR e KUNDU (1960) verificaram que os extratos de raiz de aguapé tinham um efeito em promover o crescimento em outras plantas intactas como o arroz, trigo, milho, feijão, ervilha e juta. Sugeriu-se então a presença de substâncias de crescimento, incluindo compostos giberelínicos.

A partir daí, BHANJA e SIRCAR (1966) trabalhando com extratos de raiz de aguapé detectaram uma substância de natureza giberelínica. As evidências para a presença de ácido giberélico foram confirmadas pelos valores idênticos de Rf obtidos em separações por cromatografia de papel e caracterização química obtida com o ácido giberélico utilizado como padrão.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram utilizadas plantas de *Eichhornia crassipes* (MART) SOLMS , o aguapé.

Métodos

1. Condições gerais de crescimento

Um estoque permanente de plantas era mantido em tanques de cimento amianto com capacidade de 1000 litros, contendo adubo foliar na proporção de 1,0 g/l.

Por ocasião da montagem dos experimentos as plantas eram transferidas para recipientes de plástico (volume de 7 a 24 litros) com solução nutritiva de HOAGLAND diluída duas vezes, e mantidas sob três condições diferentes de crescimento : ambiente natural, casa de vegetação, e câmaras de crescimento com condições controladas de luz (lâmpadas fluorescentes e incandescentes) e temperatura.

Foram selecionadas plantas homogêneas quanto ao peso fresco, número de folhas e valores do índice de estiolamento , (definido no item 4) e distribuídas ao acaso nos recipientes.

1.1. Crescimento Vegetativo

As plantas de aguapé foram submetidas a 2 padrões diferentes de crescimento:

a. crescimento parcial (somente a planta mãe foi mantida, as suas filhas eram retiradas à medida que surgiam;

b. crescimento total (tanto a planta mãe como suas filhas foram mantidas).

Um lote de plantas foi selecionado para se determinar o peso seco e o índice de estiolamento iniciais.

2. Fatores do meio ambiente

2.1. Nutrição

Em ambos os tratamentos, crescimento parcial e crescimento total, as plantas foram sujeitas a 3 concentrações de solução nutritiva de HOAGLAND.

O crescimento parcial e crescimento total foi verificado somente nestes 2 experimentos. Nos experimentos posteriores apenas o crescimento total foi estudado.

2.2. Intensidade Luminosa

Para se obter uma variação na intensidade luminosa, telas de sombrite sobre uma armação de madeira e arame foram colocadas sobre os recipientes e mantidas no interior da casa de vegetação.

Para uma redução da luz natural de 50% e 75% respectivamente uma e duas camadas de sombrite foram empregadas.

Para cada intensidade, o número inicial de plantas foi cinco.

As medidas de intensidade luminosa foram registradas por um porômetro de equilíbrio dinâmico (Steady State Porometer) LI-COR, Modelo LI 1600.

2.3. Temperatura

2.3.1. Temperatura do Ar

As plantas de aguapé foram submetidas a regimes controlados de temperatura do ar nas câmaras de crescimento com

períodos de horas de luz específicos para cada experimento.

Dados da temperatura do ar para plantas mantidas em ambiente natural foram obtidos através de cartas meteorológicas fornecidas pela Seção de Meteorologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas

2.3.2. Temperatura da Água

Em alguns experimentos a temperatura da água dos recipientes de plantas mantidas em câmaras de crescimento ou em casa de vegetação foi mantida constante com o auxílio de uma resistência ligada a um termostato.

Dados da temperatura da água dos recipientes mantidos em ambiente natural foram coletados com a ajuda de um bulbo acoplado a um registrador de temperatura (Fig. 1).

2.3.3. Temperatura do Solo

Dados da temperatura do solo contido nos recipientes, onde as plantas se desenvolveram foram coletados com a ajuda de um bulbo acoplado a um registrador de temperatura (Fig. 1).

2.4. Fotoperíodo

Basicamente 2 tratamentos fotoperiódicos foram empregados : fotoperíodos curtos (DC) e fotoperíodos longos (DL).

Nos experimentos montados em casa de vegetação as plantas submetidas aos dias curtos permaneceram expostas a apenas 8 horas diárias de luz natural, após esse período foram mantidas no escuro com uma cobertura de pano preto (16 horas). Nos dias longos, além do período normal de luz recebida pelas plantas durante o dia, uma suplementação de 6 horas de luz artificial com lâmpadas incandescentes ($180 \mu\text{W.cm}^{-2}$) era fornecida.

Nos experimentos montados em câmaras de crescimento o período de 8 horas de luz foi o mesmo utilizado para ambos os tratamentos fotoperiódicos, com um complemento de 1 hora de luz no meio do período noturno apenas para o tratamento de dias longos.

2.5. Substrato

Para se obter um substrato sólido semelhante à lama encontrada na margem de brejos, recipientes de plástico mantidos em ambiente natural foram preenchidos com uma mistura de terra e areia encharcada em solução nutritiva, fixando-se em seguida as plantas de aguapé nesse substrato.

Um lote de plantas foi selecionado para se determinar o peso seco e índice de estiolamento iniciais.

2.6. Restrição do espaço para o crescimento

Os experimentos inicialmente foram montados em vasos de barro e mantidos em ambiente natural, e posteriormente em recipientes de plástico deixados dentro da casa de vegetação, confinando-se as plantas numa área circular de $0,05 \text{ m}^2$ com tela de nylon (Fig. 2).

3. Fatores Endógenos

3.1. Reguladores de Crescimento

Os reguladores de crescimento testados foram o ácido giberélico (GA_3) nas concentrações de 10^{-6} M a 10^{-4} M e a cinetina (K) nas concentrações de 10^{-6} M a 10^{-8} M , ambos dissolvidos em solução de HOAGLAND duas vezes diluída e mantidos em câmaras de crescimento com períodos de 12 horas de luz e temperatura a 25°C .

Figura 1. Relógios utilizados no registro das temperaturas da água e do solo.

Figura 2. Técnica empregada no confinamento das plantas de aguapé com área circular de $0,05 \text{ m}^2$.

FIGURA 1

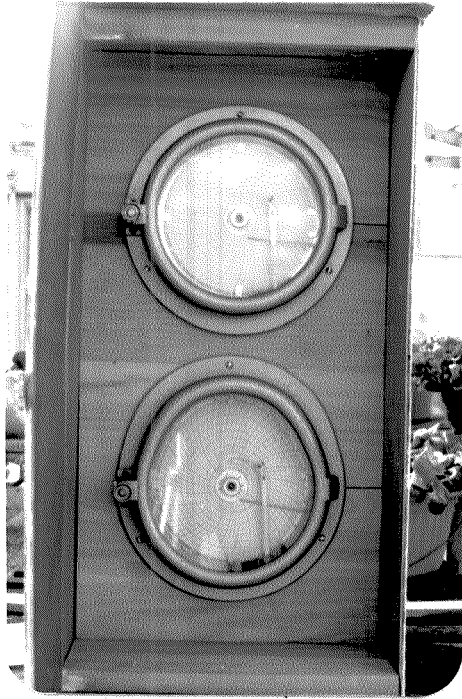
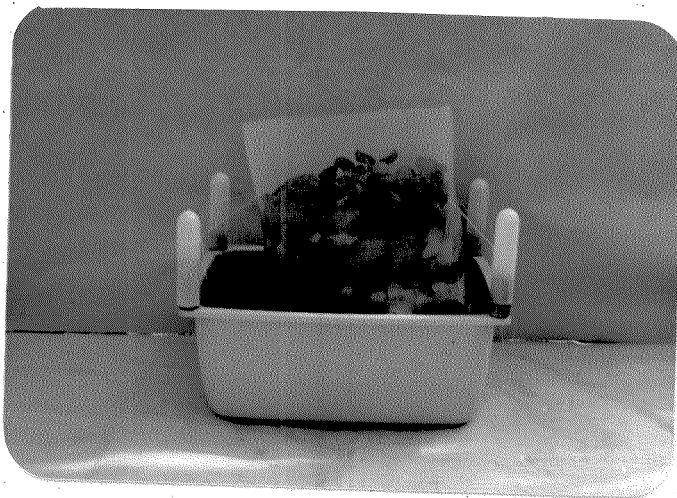


FIGURA 2



3.2. Extração e purificação de substâncias com atividade giberelínica e citocinínica

Região apical das raízes de plantas com folhas flutuantes e alongadas foram coletadas após lavagem prévia, e extraídas em solventes orgânicos, pelo método de GHERARDI e VALLIO (1976), que está mostrada na Fig. 3, e purificados por cromatografia de camada delgada com sílica gel de 0,5 mm de espessura.

Nos bioensaios os extratos cromatografados foram eluídos em placas de Petri com água destilada por 24 horas.

Para as giberelinas o solvente utilizado foi benzeno: n-butanol:ácido acético (14:5:1 v/v), para as citocininas : clorofórmio:metanol (9:1 v/v).

3.3. Bioensaios

Um bioensaio baseado na dosagem de amarantina, uma betacianina encontrada em plântulas de *Amaranthus* sp foi desenvolvida para giberelinas e citocininas.

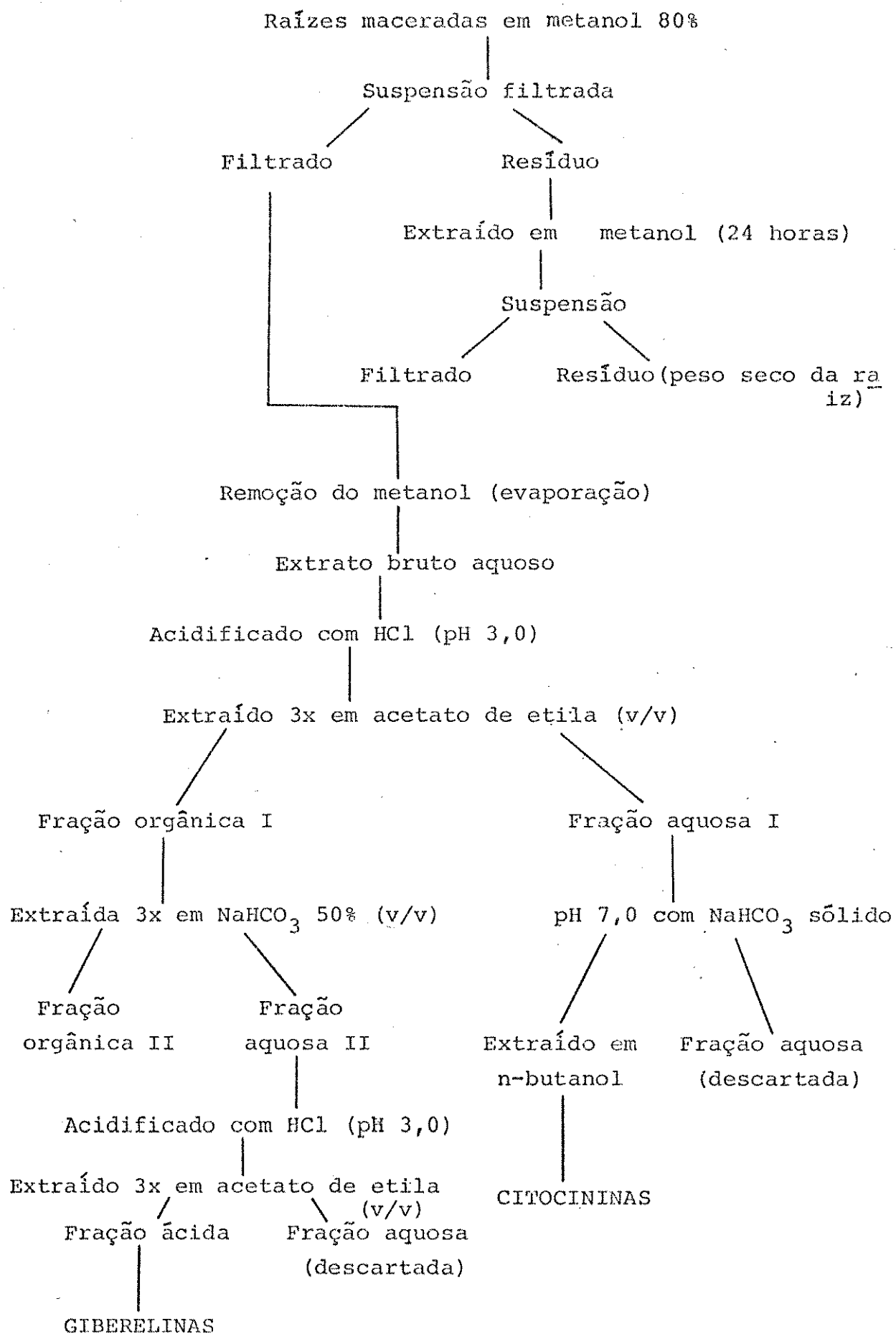
STOBART et al. (1970), observaram que o ácido giberélico inibia a síntese da amarantina induzida pela luz em plântulas de *Amaranthus caudatus* L.. A partir deste fenômeno inibitório, KINSMAN et al. (1975 a,b) desenvolveram um bioensaio para giberelinas rápido e sensível.

LETHAM (1967), observou que havia uma promoção de síntese de betacianina pela cinetina na presença do precursor tirosina nos cotilédones e hipocótilo de *Amaranthus*. A partir daí, ELLIOTT (1979 a,b,c,d), desenvolveu um bioensaio para citocininas.

Para a detecção destas substâncias de crescimento 2 bioensaios adaptados dos trabalhos originais foram utilizados:

1. inibição da síntese de betacianina pelas giberelinas, descrito por KINSMAN et al., 1975 a.

Figura 3 - Extração de substâncias com atividade de giberelinas e citocininas das raízes de plantas de aguapé



2. promoção da síntese de betacianina pelas citocininas, segundo o método de ELLIOTT, 1979b.

3.3.1. Bioensaio para Giberelinas

O bioensaio para giberelinas foi realizado de acordo com a seguinte sequência :

- germinação das sementes de *Amaranthus* sp a 34°C por 48 horas no escuro ;

- 50 plântulas foram colocadas por placa de PETRI de 5,0 cm de diâmetro com papel de filtro, em 2,0 ml do eluato das cromatoplacas ;

- as placas foram mantidas em luz com lâmpadas fluorescentes a 25°C por 24 horas ;

- após esse período, as plântulas foram maceradas em 4,0 ml de água destilada, acrescidos de mais 1,0 ml de ácido tricloroacético 25% ;

- após a centrifugação a 3000 rpm durante 15 minutos a leitura da absorbância do sobrenadante foi feita a A_{537} nm e A_{620} nm, obtendo-se o valor real pela diferença entre ambos.

Para verificar a sensibilidade do teste, foram empregadas soluções de GA_3 padrão a concentrações que variaram de 0,01 µg/ml a 10,0 µg/ml.

3.3.2. Bioensaio para Citocininas

O bioensaio para as citocininas foi realizado de acordo com a seguinte sequência :

- germinação das sementes de *Amaranthus* sp a 34°C durante 48 horas no escuro em placas de PETRI de 9,0 cm de diâmetro ;

- transferir rapidamente 40 plântulas em uma placa de PETRI de 15,0 cm de diâmetro com papel de filtro embebido em água destilada (para evitar a perda de água) cortando-se tam-

bém rapidamente as raízes com um bisturi. Retiram-se as cascas das sementes e transferem-se para placas de PETRI com 5,0cm de diâmetro, com 2,0 ml do eluato das cromatoplasmas ;

- após serem mantidas no escuro a 25°C por 24 horas, as plântulas foram transferidas para os tubos de ensaio com o ácido acético 3,33 mM e congeladas ;

- após o descongelamento e a maceração dos cotilédones e hipocótilo, a centrifugação foi realizada a 37000 g por 20 minutos e a leitura da absorbância feita a $A_{537\text{ nm}}$ e $A_{620\text{ nm}}$.

Para se verificar a sensibilidade do teste foram utilizadas soluções de 6-benziladenina padrão, variando as concentrações de 10^{-7} M a 10^{-5} M com tirosina 1,0 mM em tampão fosfato a pH 6,8.

4. Coleta de dados

Para demonstrar de forma numérica o grau de estiolamento do pecíolo, foi estabelecido um índice a partir da relação entre o comprimento total da folha (compreendida da base até a extremidade da lâmina foliar) e o perímetro do pecíolo.

As medidas do índice de estiolamento (C/P) foram feitas tanto nas folhas pré-existentes denominadas de "folhas velhas", como naquelas desenvolvidas durante os experimentos, as "folhas novas". Para o reconhecimento das folhas velhas um fio de nylon foi colocado em torno da folha.

Os parâmetros verificados foram : peso fresco e seco da parte aérea (folha + pecíolo + caule) e raiz da planta mãe e de suas filhas, índice C/P das folhas novas, número de plantas filhas, comprimento e peso fresco e seco dos estolões.

O peso seco das plantas foi obtido após 3 dias em estufa com temperatura de 80°C.

Os pesos fresco e seco tanto da parte aérea como das raízes foram expressos em gramas.

No caso em que eram comparados apenas 2 tratamentos, foi aplicado o teste da Diferença Mínima Significativa ($DMS_{5\%}$). Quando eram mais de 2 tratamentos foi aplicado o Teste de Tukey ($\Delta p \leq 0,05$), (SNEDECOR e COCHRAN, 1967), representados por letras diferentes nos tratamentos com valores estatisticamente diferentes.

IV. RESULTADOS

1. Índice de estiolamento

Folhas que apresentaram índices de estiolamento baixos de 0,8 a 1,5 foram consideradas flutuantes (Fig. 4) e folhas que apresentaram índice de estiolamento a partir do valor 2,0 foram consideradas alongadas (Fig. 5). As folhas cujos valores variaram de 1,6 a 1,9 foram consideradas intermediárias, pois embora houvesse um crescimento no comprimento total das folhas, seus flutuadores permaneceram, o que lhes permitia flutuarem.

2. Condições gerais de crescimento

2.1. Crescimento Vegetativo

Partindo-se das observações de campo a respeito da multiplicação vegetativa das plantas de aguapê, um experimento foi desenvolvido para avaliar a capacidade reprodutiva dessas plantas, submetendo-as a 2 tratamentos durante 8 semanas.

1. crescimento parcial : um lote com número fixo de plantas (apenas plantas mãe)

2. crescimento total : um lote onde a multiplicação vegetativa das plantas foi permitida (plantas mãe e filhas).

Os resultados podem ser vistos na Tab. 1 e Figs. 6, 7 e 8.

Quando se analisou o aumento de peso seco somente da planta mãe de ambos os tratamentos, observou-se uma maior incorporação de matéria seca no tratamento em que não foi permitido o crescimento das plantas filhas (Tab. 1). Porém no segundo tratamento, crescimento total, onde o peso seco da planta

Figura 4. Esquema de uma folha flutuante de aguapê com pecíolo intumescido e pequeno crescimento no comprimento da folha.

Lâmina foliar (A) ; pecíolo intumescido (B);
base (C).

Figura 5. Esquema de uma folha alongada de aguapê, com pecíolo afilado e um aumento acentuado no comprimento da folha.

Lâmina foliar (A) ; pecíolo estiolado (B); base (C).

FIGURA 4

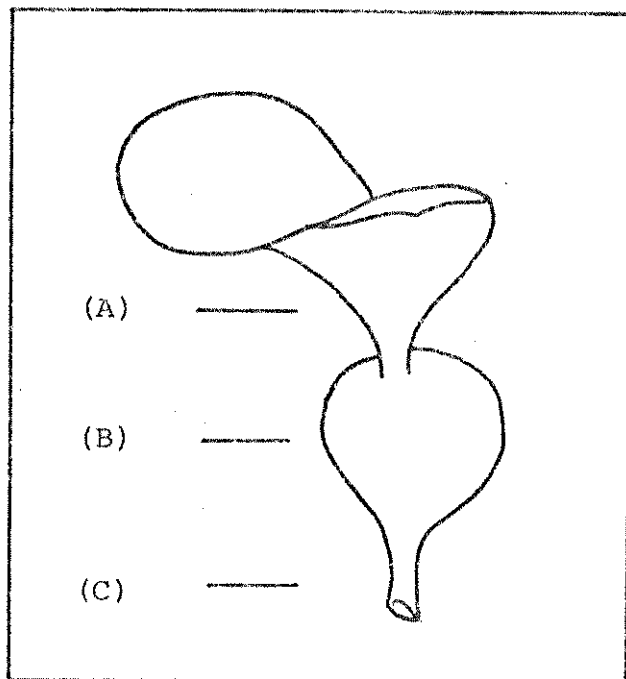


FIGURA 5

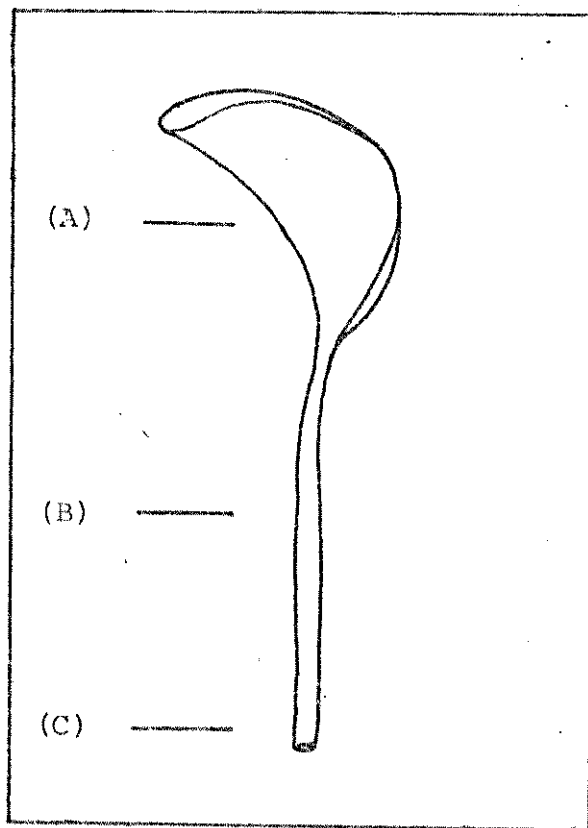


Figura 6. Detalhe da planta mãe de aguapé submetida ao crescimento parcial.

Figura 7. Detalhe da planta mãe de aguapé submetida ao crescimento total.

Planta retirada da colônia para fotografia.

Figura 8. Colônia de plantas de aguapé resultantes da reprodução da planta mãe (Fig. 7) mostrada a cima.

FIGURA 6

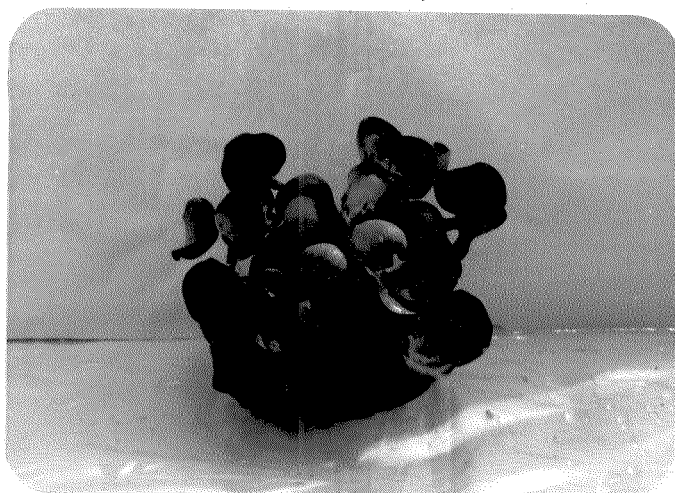


FIGURA 7



FIGURA 8



TABELA 1 - Crescimento da planta mãe com e sem remoção das plantas filhas do aquapê.

	T_0	Plantas filhas removidas	Plantas filhas não removidas	
		Planta mãe	Planta mãe	Plantas filhas
P.F.P.A.	26,6	173,0	64,5	526,0
P.S.P.A.	1,6	20,0	5,7	41,2
P.F.R.	6,3	66,0	25,0	143,0
P.S.R.	0,26	5,3	2,2	9,9
P.F.E.	—	—	—	105,5
P.S.E.	—	—	—	5,1
peso médio por planta mãe = g				
Nº.P.F.				55

T_0 = valores iniciais

mãe com suas filhas foi considerado (parte aérea e estolões) , verificou-se que o peso seco foi maior que no primeiro tratamento. Assim no caso do aguapé, não somente o aumento em matéria seca da planta mãe é um indicador de crescimento, mas também a sua multiplicação vegetativa.

Em ambos os tratamentos, não foram observadas mudanças nos índices de estiolamento (Fig. 9), mostrando que não ocorreram alterações na forma das folhas.

3. Fatores do meio ambiente

3.1. Nutrição

Para determinar se o estado nutricional e o estado de propagação vegetativa da planta são fatores que influenciam o alongamento das folhas, 3 concentrações de solução nutritiva de HOAGLAND foram testadas. As concentrações utilizadas (100 vezes diluída, 10 vezes diluída e sem diluição) foram as mesmas para ambos os tratamentos (crescimento parcial e total). Para cada concentração foram empregadas 3 plantas. O crescimento das plantas se deu em ambiente natural por um período de 2 meses com renovação da solução nutritiva a cada mês.

Na Fig. 10, verifica-se que não houve diferença nos índices de estiolamento entre os tratamentos e entre as concentrações utilizadas, pois as plantas desenvolveram folhas novas com pecíolos intumescidos.

Desse modo, não foi observada relação entre o estado nutricional e o alongamento da planta, o que indica que a concentração de nutrientes não interfere na modificação da forma das folhas (Figs. 11, 12, 14). Pelo contrário o crescimento da planta e o número de plantas filhas foram afetadas pela concentração de nutrientes (Tab. 2).

Plantas submetidas ao crescimento parcial tiveram

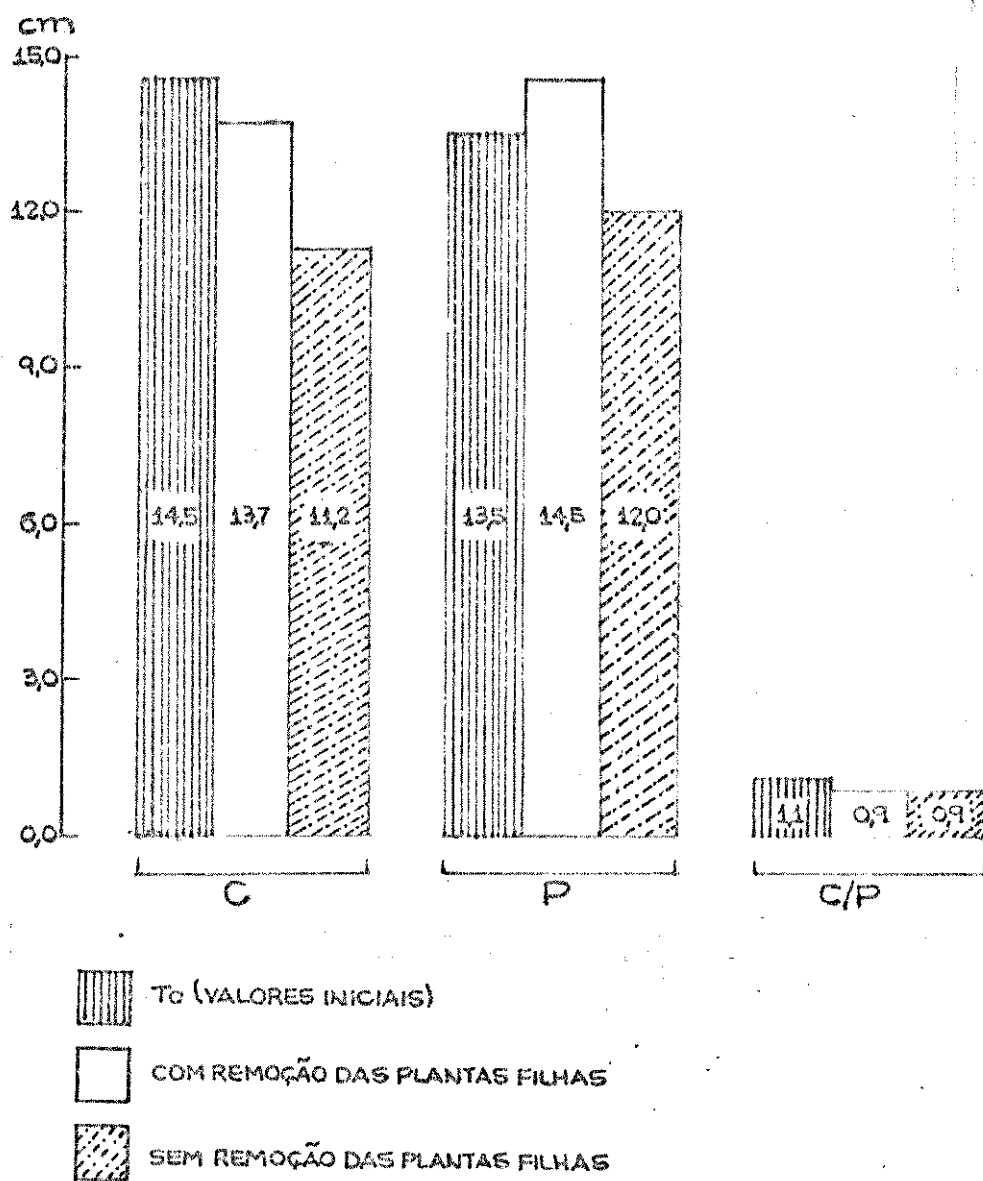


Figura 9 - Resultado do efeito do crescimento da planta mãe com e sem remoção das plantas filhas no alongamento das folhas do aguapê.

Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

Figura 11. Detalhe de plantas mãe de aguapé submetidas ao crescimento parcial em solução nutritiva de HOAGLAND diluída 100 (a), 10 vezes (b), e sem diluição (c).

Figura 12. Detalhe de plantas mãe de aguapé submetidas ao crescimento total em solução nutritiva de HOAGLAND diluída 10 vezes (esquerda) e sem diluição (direita).

FIGURA 11



(a)



(b)



(c)

FIGURA 12



TABELA 2 - Efeito da disponibilidade de nutrientes
no alongamento das plantas de aguapê
mantidas com e sem a reprodução vegeta-
tiva.

T_o	Crescimento parcial						Crescimento total			
	Planta mãe			Planta mãe			Plantas filhas			
	1/100	1/10	1/1	1/100	1/10	1/1	1/100	1/10	1/1	
P.F.P.A.	36,0	64,5	89,0	208,5	24,4	31,3	62,0	89,3	168,3	1252,0
P.S.P.A.	2,5	7,5	10,8	26,2	2,6	3,5	5,2	7,0	15,3	85,0
P.F.R.	5,0	24,0	51,0	82,0	27,0	32,0	23,5	31,0	53,0	176,0
P.S.R.	0,4	2,2	4,0	5,4	2,2	2,6	1,8	2,6	4,0	10,4
P.F.E.	-	-	-	-	-	-	-	15,0	36,5	273,0
P.S.E.	-	-	-	-	-	-	-	1,1	2,3	10,6

peso médio por planta mãe = g

Nº.P.F.	10	25	146
---------	----	----	-----

T_o = valores iniciais

peso seco da planta maior que as plantas mães do crescimento total (Tab. 2, Fig. 13). Porém quando as plantas filhas e esto-lões foram incluídos, o peso seco foi maior que o peso das plantas mantidas sob crescimento parcial nas 3 concentrações testadas, de forma que o crescimento da planta de aguapê pode ser medido não somente pelo seu aumento em peso seco, mas também pela sua potencialidade em produzir novas plantas (Figs. 14 e 15).

3.2. Intensidade Luminosa

A influência da intensidade luminosa na mudança da forma da folha pode ser observada na Fig. 16. Plantas com folhas flutuantes após submetidas a uma intensidade alta de luz (100%), desenvolveram folhas novas com flutuadores (Fig. 16a).

Quando as plantas com flutuadores foram submetidas a intensidade de luz média (50%), foi possível observar uma alteração no pecíolo (Fig. 16b); e quando a intensidade de luz foi baixa (25%), notou-se uma grande mudança na forma foliar com o estreitamento do pecíolo e consequente perda dos flutuadores nas novas folhas (Fig. 16c). A análise estatística do índice C/P, confirmou os resultados obtidos, acusando diferenças significativas entre os tratamentos.

Pelos resultados da Tab. 3, observa-se uma diminuição dos pesos fresco e seco da parte aérea e raízes com a queda da intensidade luminosa.

A Fig. 17, mostra que o crescimento da folha foi maior e o perímetro do pecíolo menor com a diminuição da intensidade luminosa, indicando que sua redução promove a alteração da forma foliar.

Figura 13. Detalhe de 2 plantas mãe de aguapê submetidas ao crescimento total (esquerda) e crescimento parcial (direita). Ambos crescidos em solução de HOAGLAND normal.

Figura 14. Vista geral do tratamento : crescimento total, em solução nutritiva diluída 100 vezes.

Figura 15. Vista geral do tratamento : crescimento total mantido em solução nutritiva diluída 10 vezes (esquerda) e sem diluição (direita).

FIGURA 13



FIGURA 14



FIGURA 15



Figura 16. Plantas de aguapê submetidas a intensidades de luz alta (a), média (b) e baixa (c).

FIGURA 16



(a)



(b)



(c)

TABELA 3 - Variação na intensidade luminosa e seu efeito no desenvolvimento de plantas de aguapé.

	Intensidade Luminosa		
	100%	50%	25%
P.F.P.A.	56,2	45,4	41,6
P.S.P.A.	3,2	2,6	2,2
P.F.R.	12,2	7,6	5,4
P.S.R.	0,7	0,5	0,4

peso médio por planta mãe = g

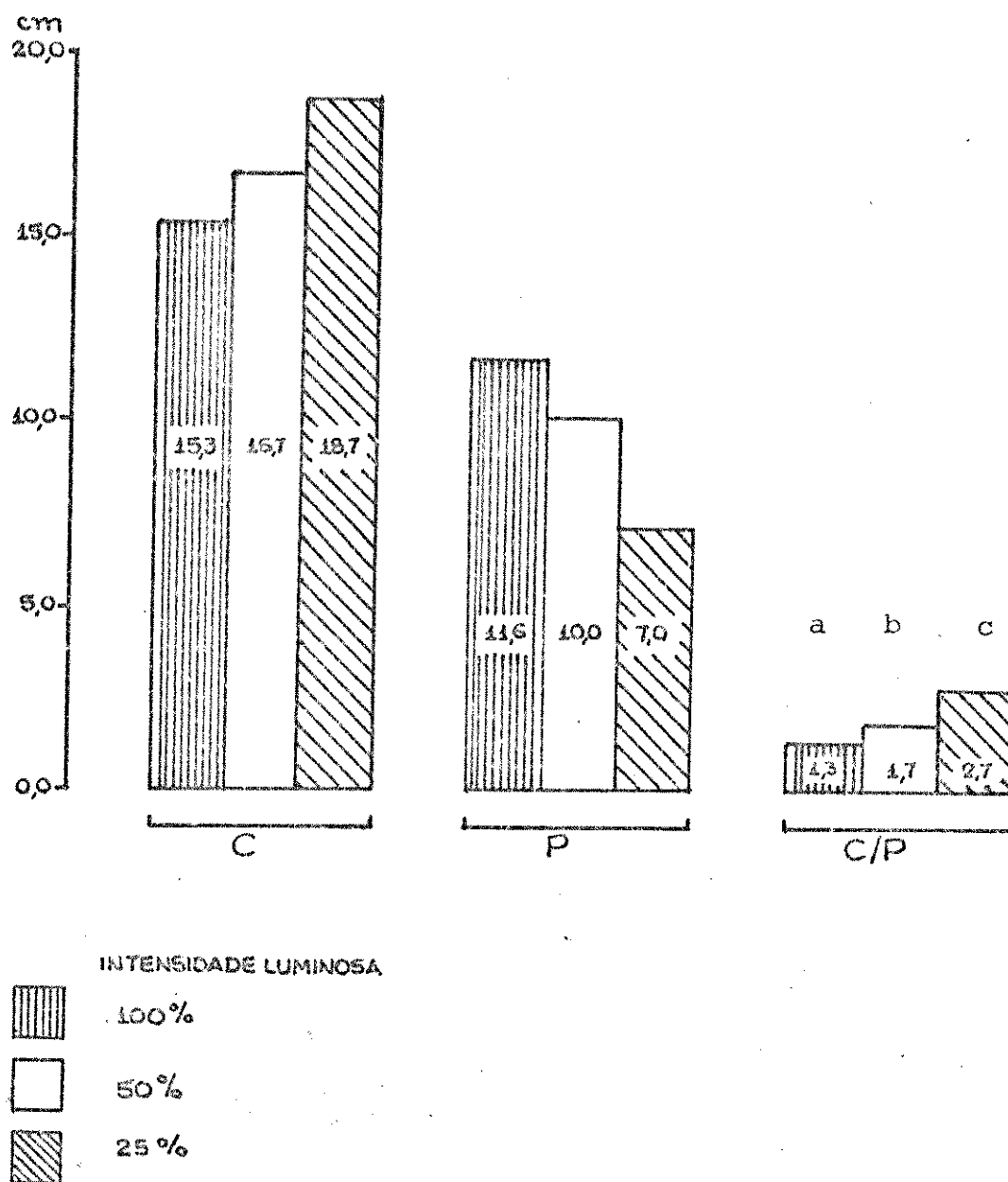


Figura 17 - Resultado da influência da variação da intensidade luminosa no alongamento das folhas do agua pé.

Comprimento total da folha (C) ; maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

3.3. Temperatura

Para verificar o efeito da temperatura na alteração da folha, 4 plantas com flutuadores foram submetidas a 2 regimes diferentes de temperatura : $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$ e $20^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$ (dia e noite) com períodos de 12 horas de luz durante 26 dias.

Os resultados mostram que os pecíolos das folhas novas se alongaram após o tratamento de $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$, enquanto que no tratamento a $20^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$, as folhas novas mantiveram sua forma original com índices de estiolamento baixos (Fig. 18).

Para confirmar os resultados foi montado um experimento com 24 plantas com folhas alongadas mantidas sob o mesmo regime de temperatura.

Ao final de 20 dias de tratamento, não se verificaram mudanças nas folhas novas mantidas a temperatura de $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$, enquanto que na temperatura de $20^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$ as folhas novas apresentaram seus pecíolos intumescidos, indicando que plantas com folhas alongadas desenvolveram folhas novas com flutuadores, quando expostas a baixas temperaturas, mostrando dessa forma uma reversibilidade do efeito da temperatura nas plantas de aguapê (Fig. 19).

Pela Tab. 4, observa-se que o regime de temperaturas mais baixas favoreceu o aumento de matéria seca da parte aérea e das raízes tanto das plantas inicialmente flutuantes (40,0% e 226,3%) como das plantas alongadas (26,6% e 78,3%), sendo que o efeito foi muito maior nas raízes.

A partir dos resultados obtidos nos experimentos anteriores, um 3º experimento foi montado com uma temperatura intermediária de $25^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$ utilizando-se 24 plantas com folhas flutuantes.

Os resultados obtidos podem ser observados na Fig. 20 onde são comparados ao tratamento de $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$.

Nota-se que as folhas novas do tratamento a $25^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$ ainda mantêm os flutuadores, apresentando um índice de estiola

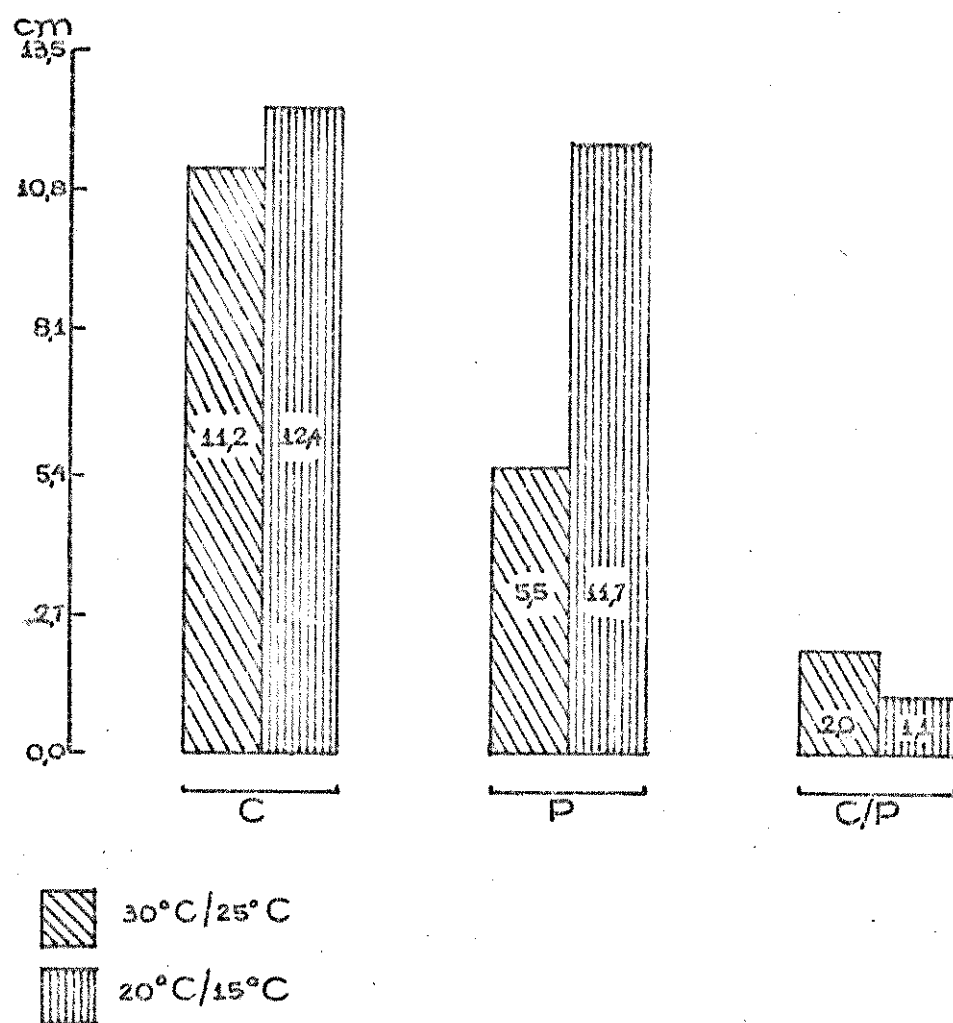


Figura 18 - Resultados da influência de 2 regimes de temperatura : 30°C/25°C e 20°C/15°C no alongamento das folhas de plantas de aguapé inicialmente flutuantes.

Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

$$DMS_{5\%} = 0,2$$

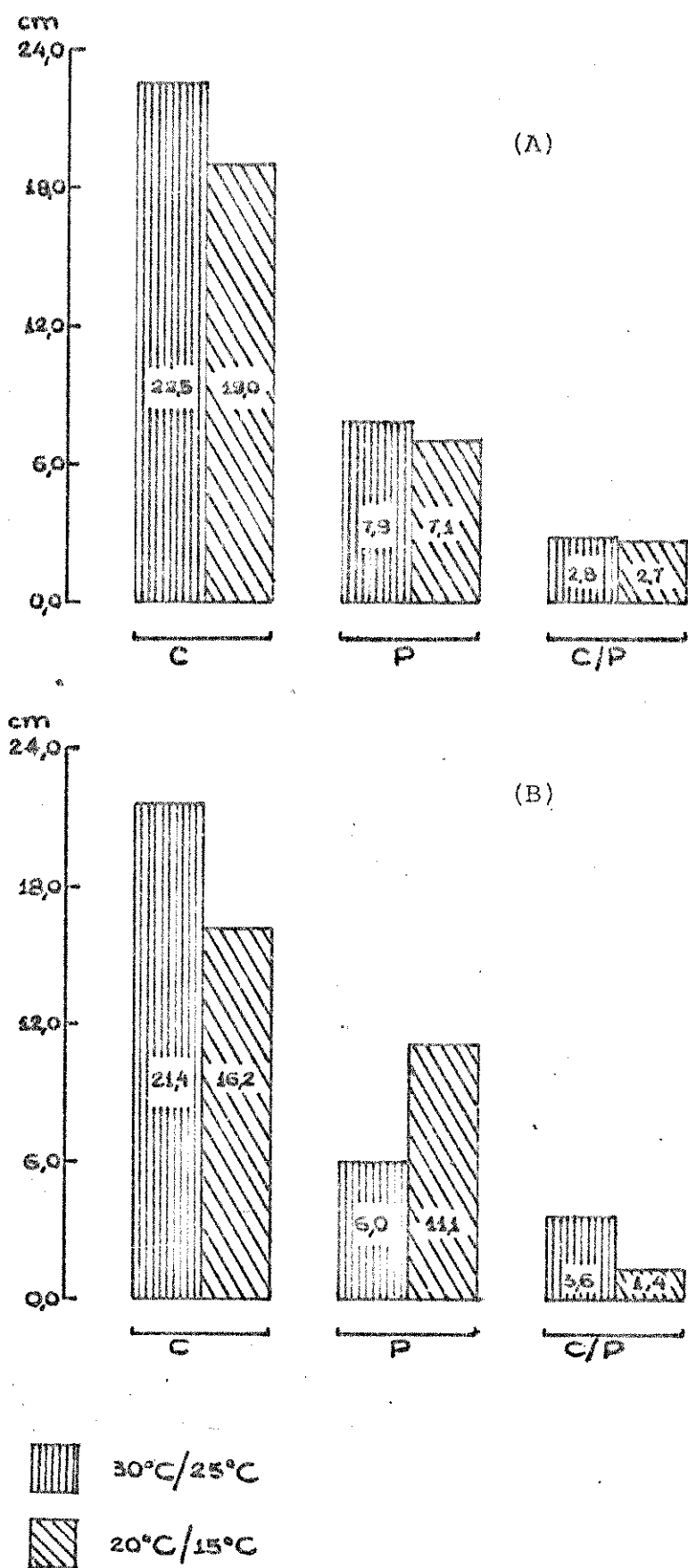


Figura 19 - Efeito de 2 regimes de temperatura: 30°C/25°C e 20°C/15°C em plantas de aguapé inicialmente alongadas. "Folhas velhas" (A); "Folhas novas" (B)
 $DMS_{5\%} = 0,3$

TABELA 4 - Efeito de 2 regimes de temperatura: 30°C/25°C e 20°C/15°C em plantas de aguapé com folhas flutuantes e folhas alongadas.

	Plantas flutuantes		Plantas alongadas	
	30°C/25°C	20°C/15°C	30°C/25°C	20°C/15°C
P.S.P.A.	1,20	1,7 ⁺	1,5	1,9
P.S.R.	0,19	0,62	0,23	0,41

peso médio por planta mãe = g

TABELA 5 - Efeito de 2 regimes de temperatura: 30°C/25°C e 25°C/20°C em plantas de aguapé com folhas flutuantes.

	30°C - 25°C	25°C - 20°C
	(dia - noite)	(dia - noite)
P.S.P.A.	3,33	4,37
P.S.R.	0,43	0,70

peso médio por planta mãe = g

Intensidade Luminosa $\sim 100 \mu\text{E} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$

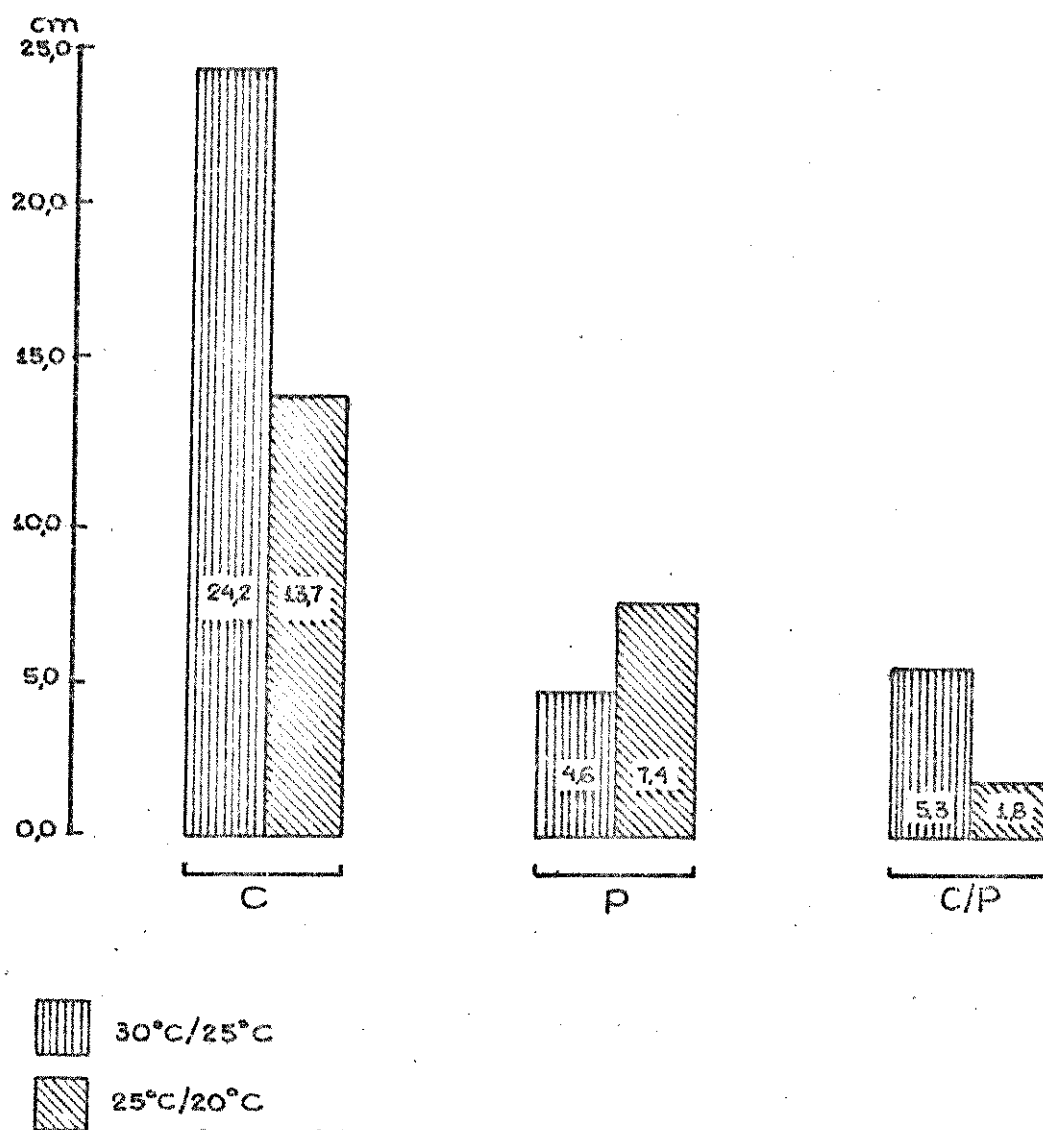


Figura 20 - Resultados da influência de temperaturas diferentes : 30°C/25°C e 25°C/20°C em plantas de aguapé inicialmente flutuantes.

Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

$$DMS_{5\%} = 0,5$$

mento baixo quando comparado ao índice de estiolamento a 30°C / 25°C , indicando que uma diferença de temperatura de 5°C é suficiente para causar uma alteração na morfologia da folha (Fig. 21).

Na Tab. 5 pode ser observado que o regime de temperaturas mais baixas novamente favoreceu o aumento em peso seco da parte aérea (31,2%) e das raízes (62,8).

3.4. Fotoperíodo

Os resultados da exposição a fotoperíodos curtos e longos em 20 plantas de aguapé com flutuadores mantidos a temperatura média do ar de 26°C por 40 dias podem ser observados na Fig. 22.

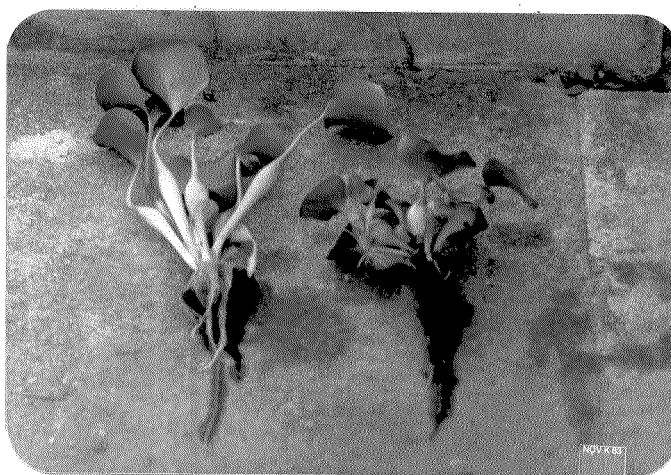
Nas plantas submetidas a fotoperíodos longos o valor do índice de estiolamento foi maior que a fotoperíodos curtos. Analisando-se separadamente o comprimento das folhas e o perímetro dos pecíolos, verificou-se que não houve diferença significativa nos valores dos perímetros, mas somente no comprimento, o que resultou num valor do índice de estiolamento maior nos dias longos do que nos dias curtos.

Quando o mesmo experimento foi realizado a uma temperatura média do ar de 17°C , verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os índices de estiolamento dos dias curtos e longos, embora os valores tenham sido baixos. Pela Fig. 23, observa-se que aqui também a diferença ocorreu somente no comprimento, enquanto que no perímetro não houve variação. Neste caso as plantas continuaram flutuantes, ao contrário do 1º experimento realizado a 26°C (Figs. 24 e 25).

Desse modo, fotoperíodos longos tiveram efeito em promover o alongamento das folhas, sem afetar o aumento no perímetro dos pecíolos.

Figura 21. Vista em detalhe de plantas de aguapé inicialmente flutuantes, após o tratamento de temperatura de 30°C/25°C (esquerda) e 25°C/20°C (direita).

FIGURA 21



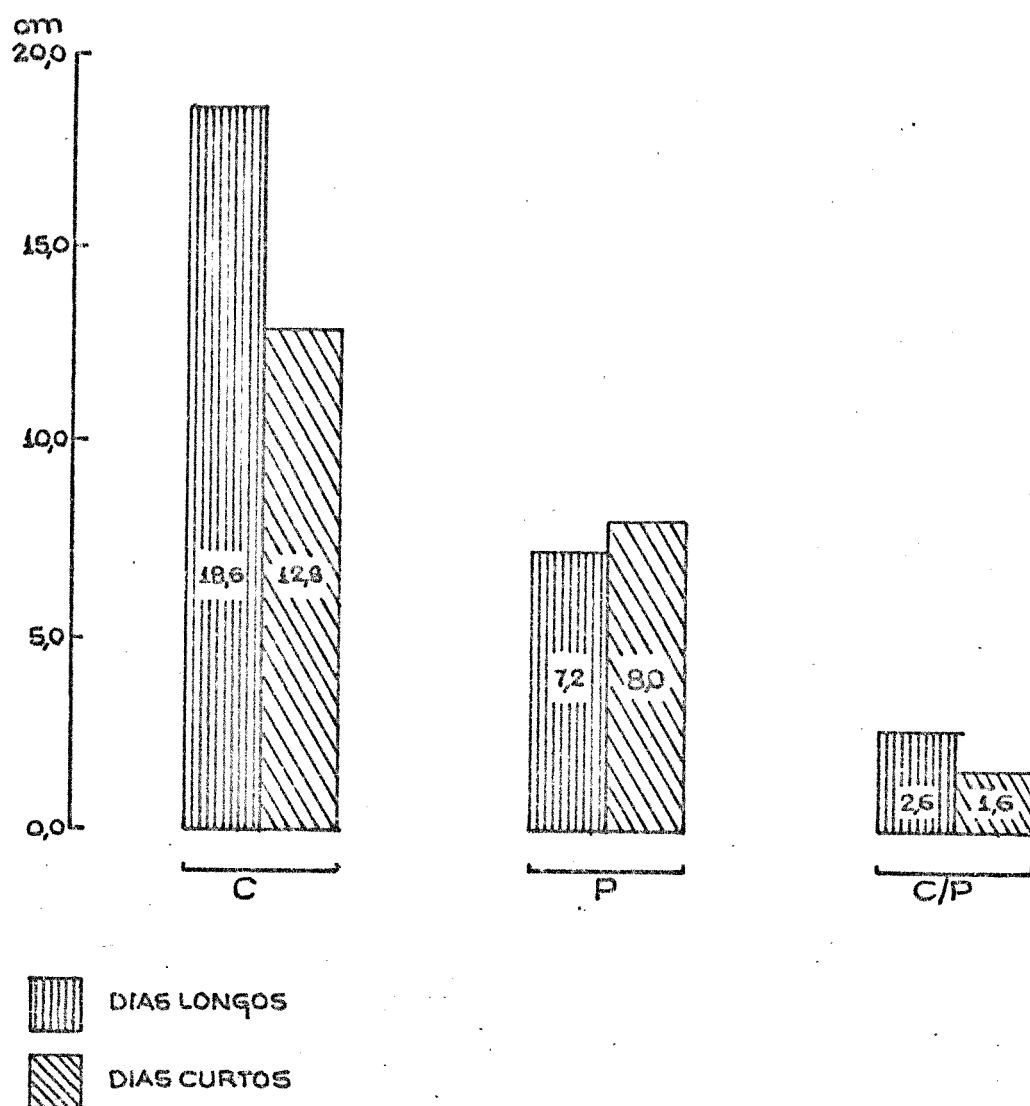


Figura 22 - Resultados do tratamento fotoperiódico em plantas de aguapé submetidas a temperatura de 26°C. Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo; índice de estiolamento (C/P).

$$DMS_{5\%} = 0,2$$

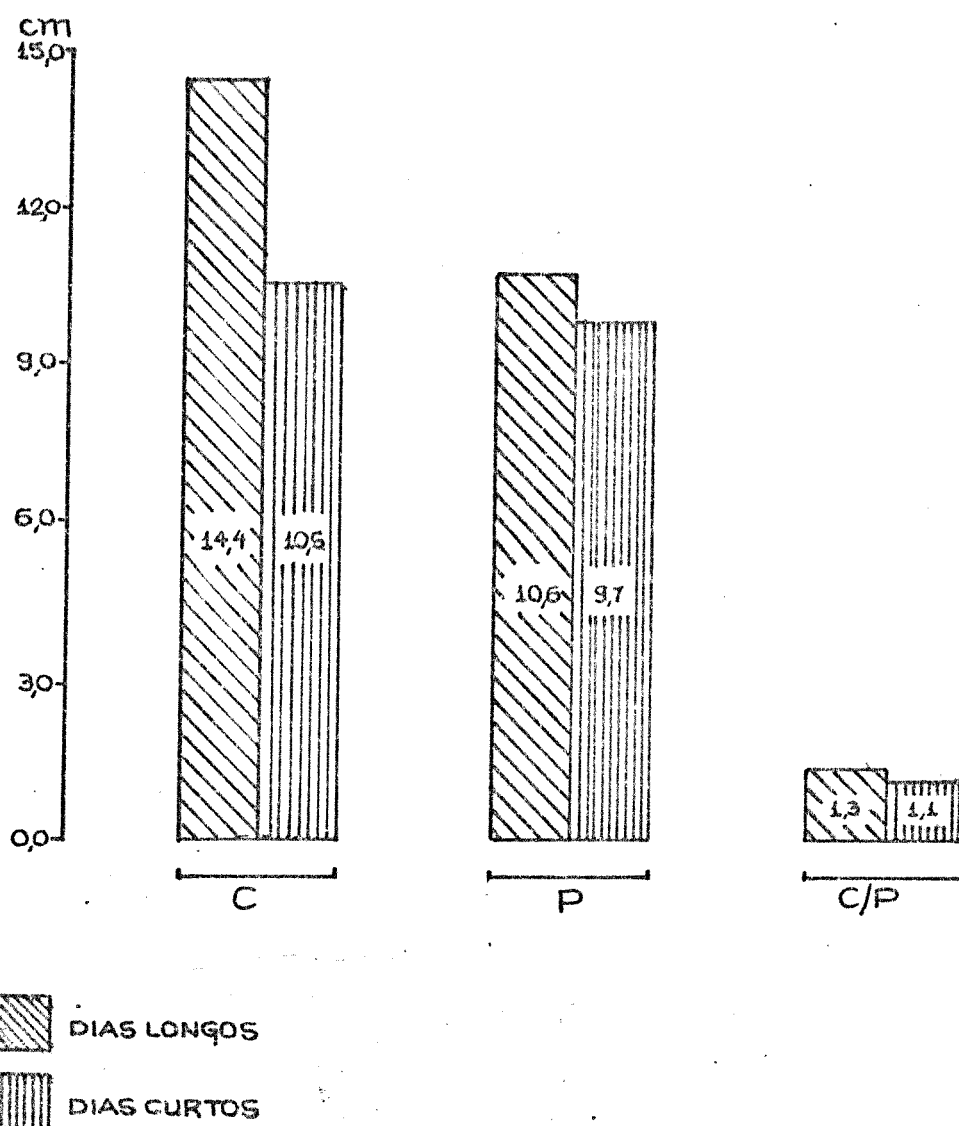


Figura 23 - Resultados do tratamento fotoperiódico em plantas de aguapé submetidas a temperatura de 17°C. Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

$$DMS_{5\%} = 0,1$$

Figura 24. Plantas de aguapê submetidas a fotoperíodos curtos durante a época fria (17°C).

Figura 25. Plantas de aguapê submetidas a fotoperíodos longos durante a época fria (17°C).

FIGURA 24

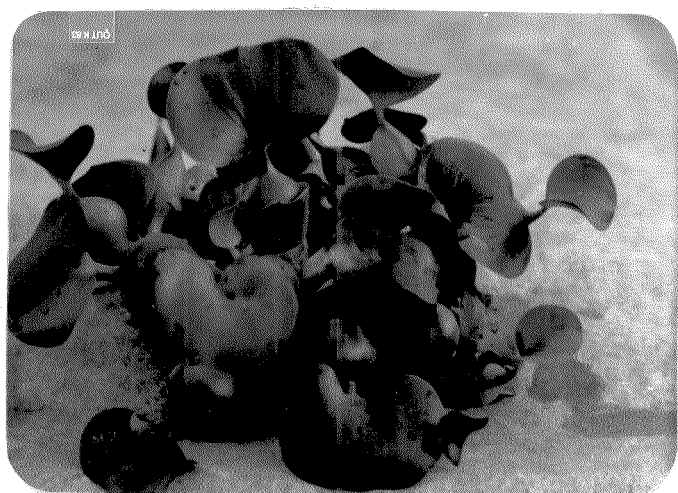
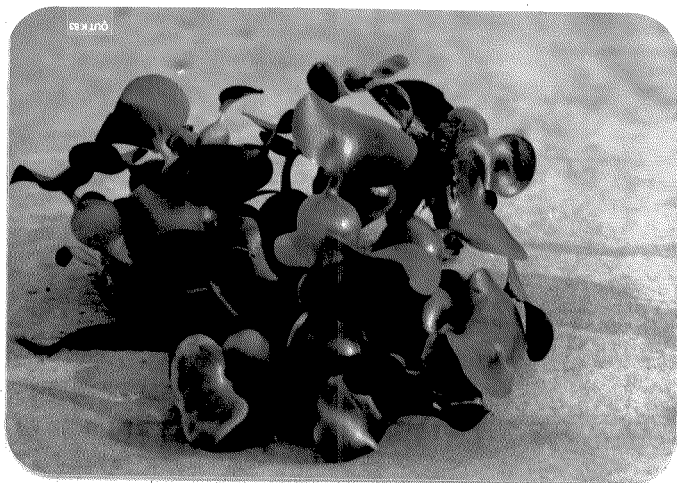


FIGURA 25



Em ambos os experimentos, nos fotoperíodos longos a temperatura de 26°C e 17°C houve redução no número de plantas e um aumento na matéria seca tanto da parte aérea como das raízes na temperatura de 26°C (84,2% e 154,5%) e 17°C (62,5% e 66,6%) (Tab. 6).

3.5. Fotoperíodo a diferentes temperaturas

Com o intuito de se verificar a existência de uma possível relação entre a temperatura e o fotoperíodo, três experimentos foram montados com fotoperíodo associado a diferentes temperaturas, com duração de 4 semanas.

O 1º experimento realizado em câmaras de crescimento, consistiu em expor 16 plantas flutuantes a fotoperíodos curtos e 16 plantas a fotoperíodos longos, submetendo-as a 2 regimes diferentes de temperatura do ar : $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$ e $24^{\circ}\text{C}/16^{\circ}\text{C}$.

Verificou-se que ocorreu o alongamento dos pecíolos das folhas novas apenas no tratamento a $30^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$ tanto das plantas mães como das plantas filhas, enquanto que no tratamento a $24^{\circ}\text{C}/16^{\circ}\text{C}$ não foram observadas alterações no desenvolvimento das folhas novas (Fig. 26).

É interessante notar que o alongamento das folhas ocorreu independente da condição fotoperiódica submetida (Figs. 27 e 28), sugerindo que a temperatura é o fator que determinou essa mudança.

Na Tab. 7, observa-se que o crescimento dos estolões não foi afetado pelo fotoperíodo, mas apenas pela temperatura, com crescimento maior a temperaturas mais altas.

Os pesos fresco e seco das plantas mãe e filhas, praticamente não foram afetadas pelo termoperíodo.

TABELA 6 - Plantas de aguapê submetidas a fotoperíodos curtos e fotoperíodos longos com temperatura média do ar de 26°C e 17°C.

	Dias Curtos		Dias Longos	
	26°C	17°C	26°C	17°C
P.S.P.A.	0,76	0,40	1,40	0,65
P.S.R.	0,11	0,06	0,28	0,20
peso médio por planta mãe = g				
Nº.P.F.	6	21	4	14

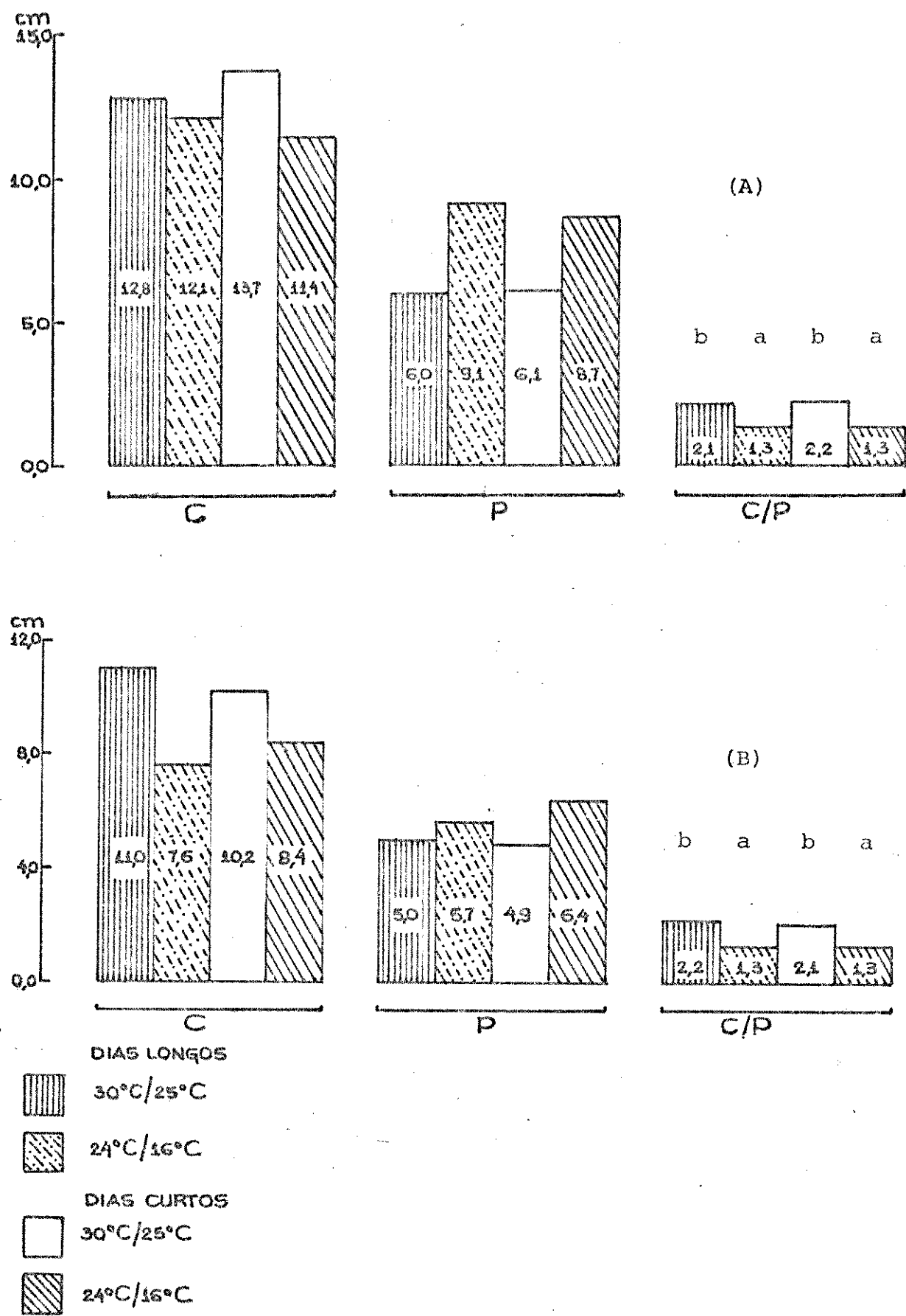


Figura 26 - Resultados do tratamento fotoperiódico associado a 2 regimes diferentes de temperatura do ar em plantas flutuantes de aguapé. Plantas mãe (A); Plantas filhas (B).

Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P)

Figura 27. Efeito de fotoperíodos curtos associados a temperaturas de 30°C/25°C (esquerda) e 24°C/16°C (direita) em plantas de aguapé.

Figura 28. Efeito de fotoperíodos longos associados a temperaturas de 30°C/25°C (esquerda) e 24°C/16°C (direita) em plantas de aguapé.

FIGURA 27

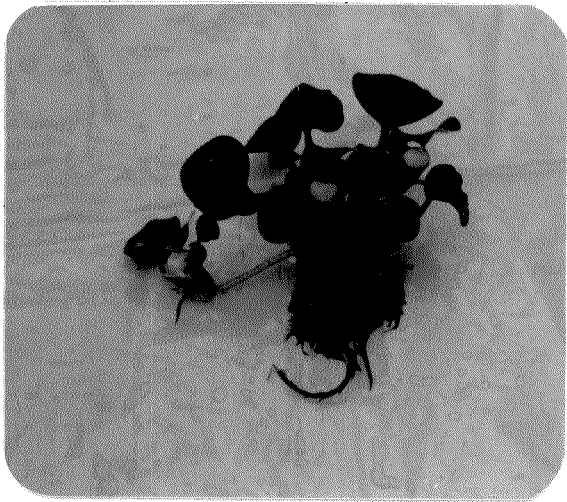
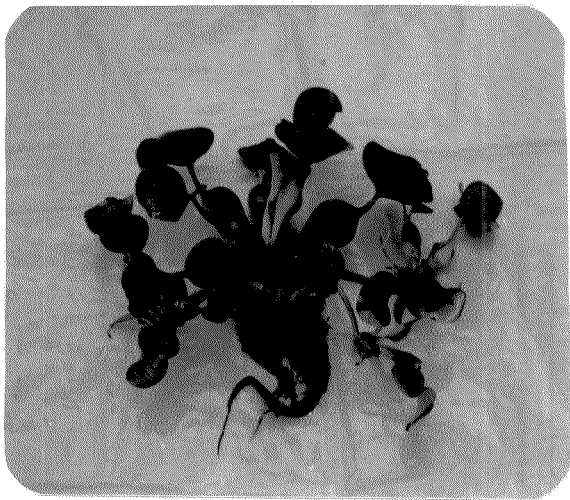


FIGURA 28

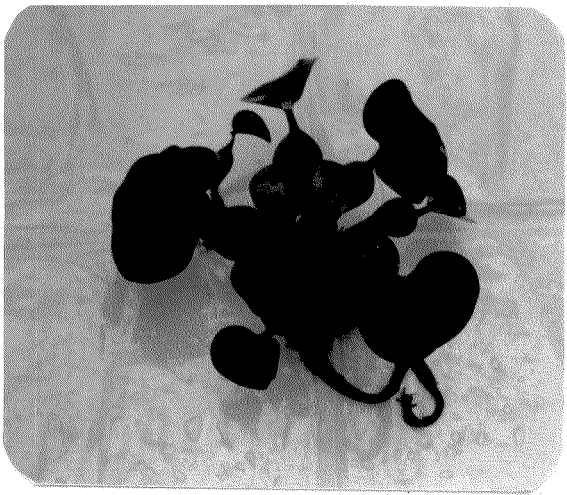
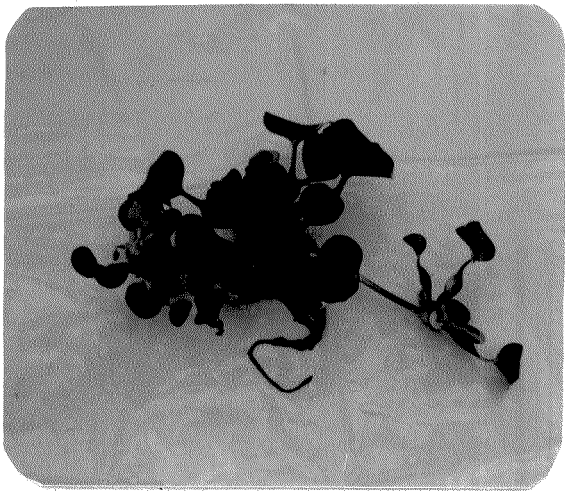


TABELA 7 - Efeito de fotoperíodos curtos e fotoperíodos longos associados a temperaturas de 30°C/25°C e 24°C/16°C em plantas de aguapé com folhas flutuantes.

	Planta mãe				Plantas filhas			
	30°C/25°C		24°C/16°C		30°C/25°C		24°C/16°C	
	DC	DL	DC	DL	DC	DL	DC	DL
P.F.P.A.	34,1	36,0	39,4	38,4	5,45	4,55	4,14	3,12
P.S.P.A.	2,0	2,1	2,6	2,6	0,27	0,22	0,28	0,19
P.F.R.	6,62	6,75	10,0	6,87	0,18	0,21	0,14	0,12
P.S.R.	0,50	0,50	0,50	0,75	0,009	0,01	0,005	0,007
P.F.E.	-	-	-	-	2,2	1,8	1,3	0,75
P.S.E.	-	-	-	-	0,048	0,039	0,032	0,025
peso médio por planta mãe = g								
C.E.	-	-	-	-	10,6	9,8	5,5	4,3

comprimento dos estolões = cm

O 2º experimento também ligado ao fotoperíodo foi montado em câmaras de crescimento, e consistiu em se manter a temperatura do ar constante a 23°C , modificando-se a temperatura da água : 19°C para o 1º tratamento e 30°C para o 2º tratamento, utilizando-se 20 plantas com folhas alongadas para cada tratamento.

Na Fig. 29 pode ser observada uma redução dos valores do índice de estiolamento das plantas alongadas submetidas a baixas temperaturas da água tanto em dias curtos como dias longos. Esta redução ocorreu devido ao aumento significativo nos perímetros dos pecíolos, enquanto que o comprimento das folhas não variou. Por outro lado, não foram observadas alterações nos valores dos índices de estiolamento nos tratamentos a 30°C , o que indica que plantas alongadas podem desenvolver folhas flutuantes quando submetidas a baixas temperaturas da água e mantêm os pecíolos alongados quando submetidas a temperaturas altas.

Neste experimento também verificou-se que o fotoperíodo não teve efeito no crescimento dos estolões, mas apenas a temperatura, com crescimento maior a temperaturas mais altas (Tab. 8).

Como no experimento anterior, os pesos fresco e seco das plantas mãe e filhas praticamente não foram afetadas pelo termoperíodo (Tab. 8).

Para se tentar definir a influência da temperatura ou do fotoperíodo na modificação da forma das folhas, um 3º experimento foi montado com temperatura do ar constante a 25°C e temperatura da água de 27°C (1º tratamento) e 19°C (2º tratamento) em casa de vegetação, utilizando-se 6 plantas com folhas flutuantes para cada tratamento.

Os resultados mostraram que as folhas novas de plantas submetidas a fotoperíodos curtos + 27°C continuaram a apresentar flutuadores, assim como o de fotoperíodos curtos + 19°C , enquanto que as folhas de plantas expostas a fotoperíodos lon-

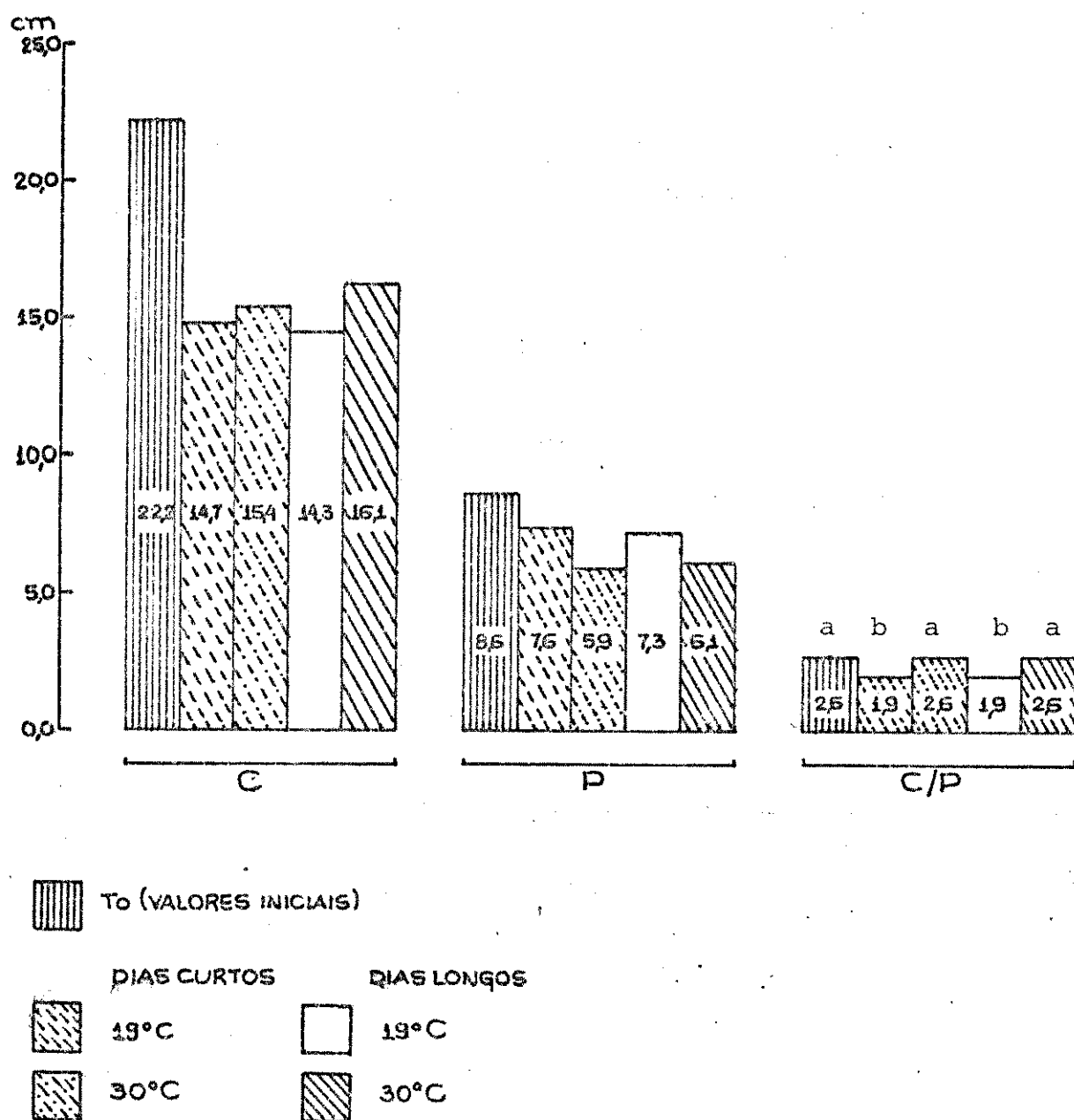


Figura 29 - Resultados do tratamento fotoperiódico associado a temperatura do ar de 23°C e temperaturas da água de 19°C e 30°C em plantas alongadas de aguapé.

Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

TABELA 8- Efeito de fotoperíodos curtos e fotoperíodos longos associados a temperatura do ar constante a 23°C e temperatura da água de 19°C e 30°C em plantas alongadas de aguapé.

	Planta mãe				Plantas filhas			
	Dias curtos		Dias longos		Dias curtos		Dias longos	
	19°C	30°C	19°C	30°C	19°C	30°C	19°C	30°C
P.F.P.A.	44,7	33,3	44,2	36,0	3,37	3,0	2,83	1,83
P.S.P.A.	2,6	2,0	2,5	2,2	0,19	0,17	0,15	0,10
P.F.R.	8,1	3,2	7,1	4,5	0,125	0,166	0,133	0,047
P.S.R.	0,40	0,24	0,40	0,40	0,006	0,006	0,005	0,002
P.F.E.	-	-	-	-	0,125	1,6	1,0	1,4
P.S.E.	-	-	-	-	0,062	0,066	0,040	0,044
peso médio por planta mãe = g								
C.E.	-	-	-	-	5,3	12,0	4,8	11,1

comprimento dos estolões = cm

Intensidade Luminosa ~ 100 $\mu\text{E} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$

gos + 27°C, apresentaram alongamento dos pecíolos, ao contrário do tratamento de fotoperíodos longos + 19°C (Figs. 30, 31, 32).

Na Fig. 33 temos uma comparação da influência do fotoperíodo em diferentes temperaturas.

Nota-se que a 30°C, o fator responsável pelo alongamento das folhas foi a temperatura, pois mesmos índices de estiolamento e de valores altos foram observados em plantas tanto de dias curtos como longos. O mesmo ocorreu a 19°C, onde em ambos tratamentos fotoperiódicos índices de estiolamento próximos, porém de valores baixos foram determinados.

A influência do fotoperíodo na alteração das folhas ocorreu a temperatura de 27°C, onde índices diferentes foram encontrados, o que indica que neste caso o fator importante não foi a temperatura, mas o fotoperíodo, pois foram desenvolvidas folhas com pecíolos alongados sob fotoperíodos longos.

Novamente os pesos fresco e seco das plantas mãe e filhas deste experimento também não foram afetados pelo termoperíodo (Tab. 9).

3.6. Substrato

Para verificar se o efeito do alongamento das folhas em plantas de aguapé é determinado pela sua fixação num substrato, um experimento foi montado com 9 plantas flutuantes enraizadas no solo durante o inverno e a primavera em ambiente natural, além de um controle com água para efeito de comparação.

Pela Fig. 34 observa-se no inverno que tanto nas plantas enraizadas no solo (esquerda) como nas do controle (direita), as folhas se mantiveram flutuantes, embora os valores dos índices de estiolamento tenham diferido estatisticamente (Fig. 36 A).

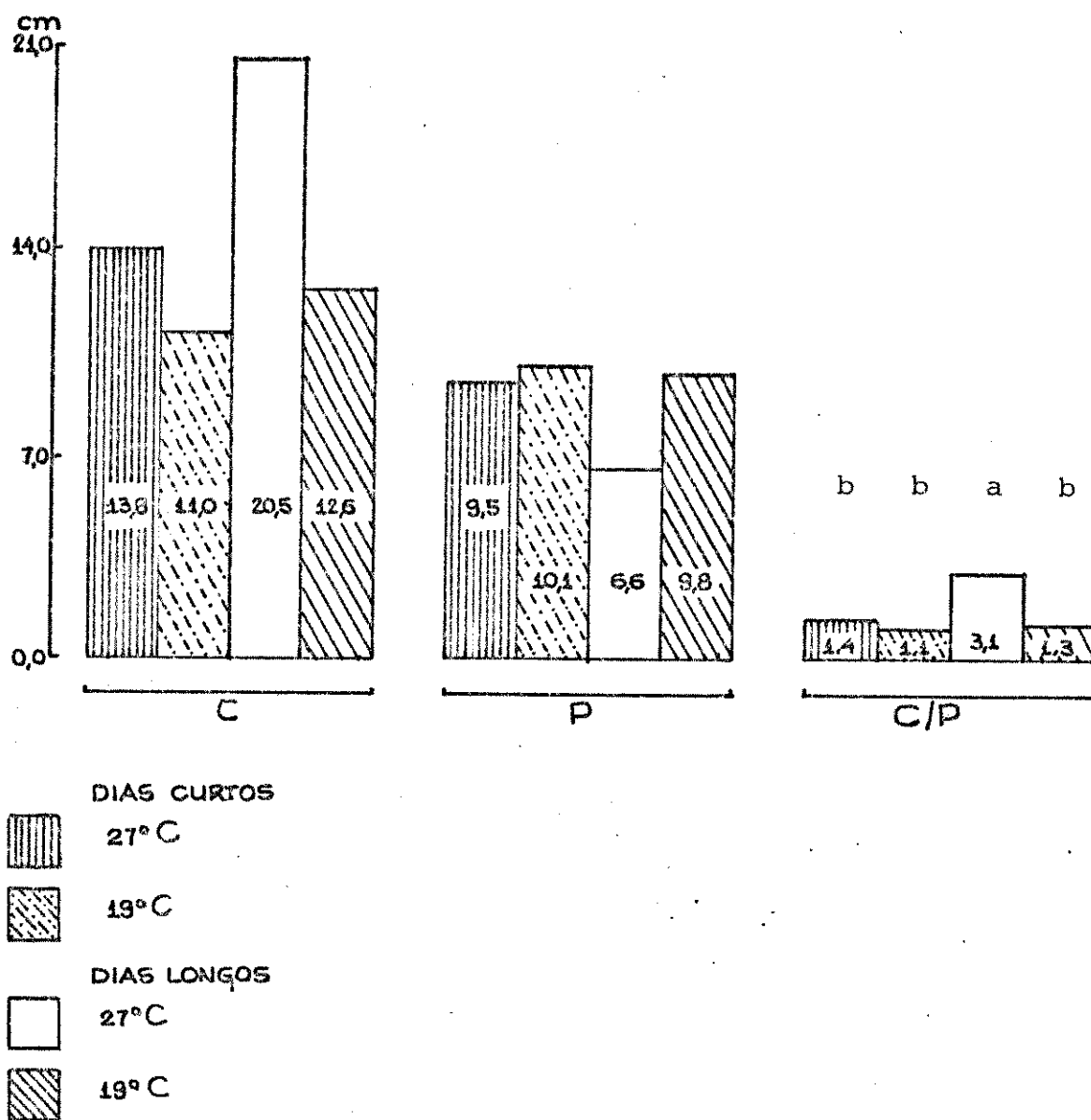


Figura 30 - Resultado do efeito de fotoperíodos curtos e longos a temperatura do ar de 25°C e temperaturas da água de 19°C e 27°C no alongamento das folhas do aguapé.

Comprimento total da folha (C) ; maior perímetro do pecíolo (P) ; índice de estiolamento (C/P).

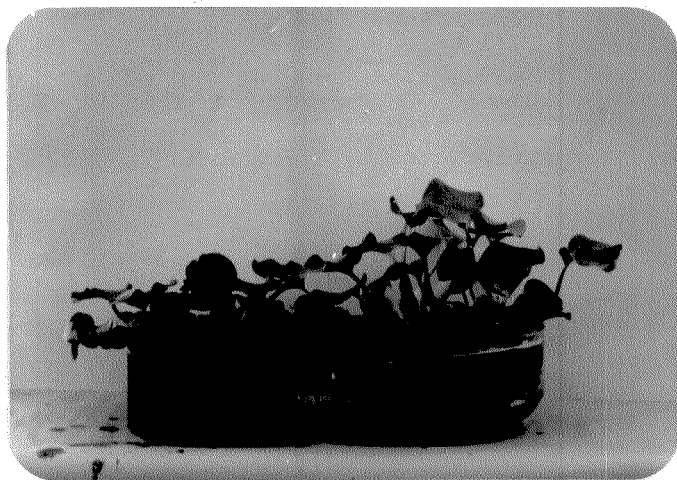
Figura 31. Plantas de aguapé mantidas sob fotoperíodos curtos com temperatura do ar de 25°C e temperatura média da água a 19°C (esquerda) e 27°C (direita).

Figura 32. Plantas de aguapé mantidas sob fotoperíodos longos com temperatura do ar de 25°C e temperatura média da água a 19°C (esquerda) e 27°C (direita).

FIGURA 31



FIGURA 32



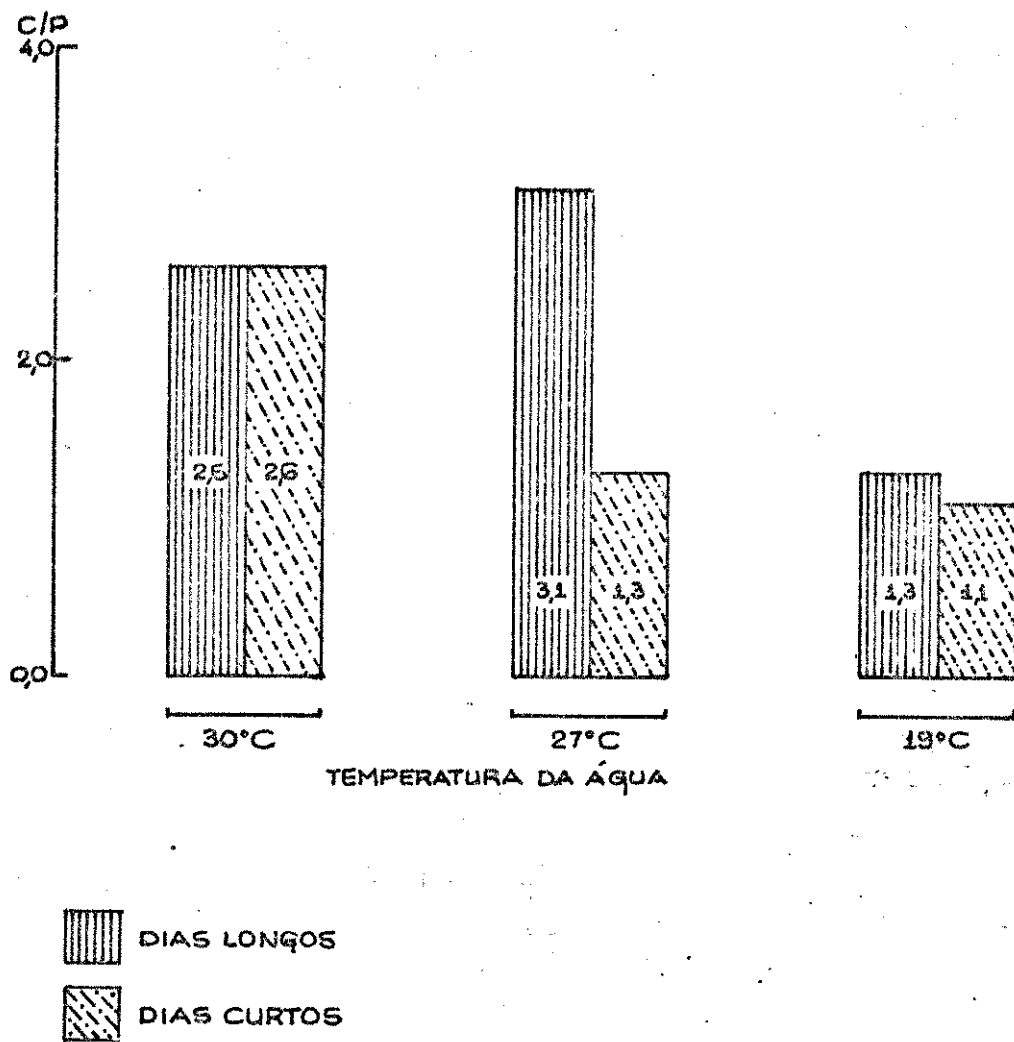


Figura 33 - Resultados do tratamento fotoperiódico associado a diferentes temperaturas da água no alongamento das folhas do aguapé.

TABELA 9 - Crescimento de plantas de aguapé com flutuadores sob fotoperíodos curtos e fotoperíodos longos a temperatura do ar de 25°C e temperaturas da água de 19°C e 27°C.

	Dias Curtos		Dias Longos	
	27°C	19°C	27°C	19°C
P.F.P.A.	36,1	34,6	34,1	34,3
P.S.P.A.	2,3	2,2	2,1	2,1
P.F.R.	6,0	7,6	4,8	6,3
P.S.R.	0,40	0,30	0,25	0,30

peso médio por planta mãe = g

Figura 34. Vista geral de plantas de aguapé mantidas fixas no solo (esquerda) e plantas mantidas em água, controle, (direita) durante a época fria.

Figura 35. Detalhe das raízes de uma planta de aguapé enraizada no solo (esquerda) durante a época fria e da epinastia apresentada pelas folhas de plantas fixas no substrato (direita) na época quente.

FIGURA 34

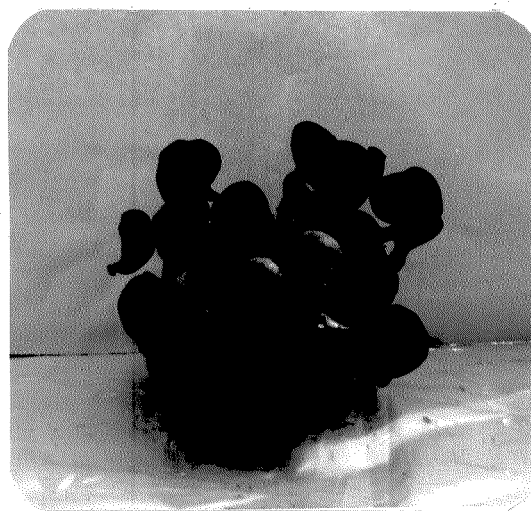
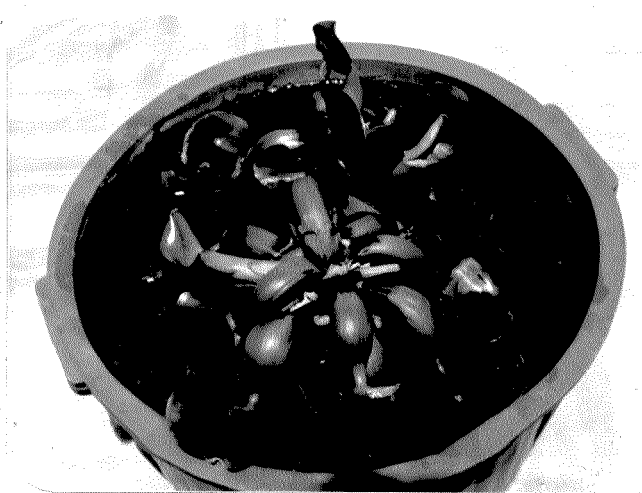


FIGURA 35



(a)



(b)

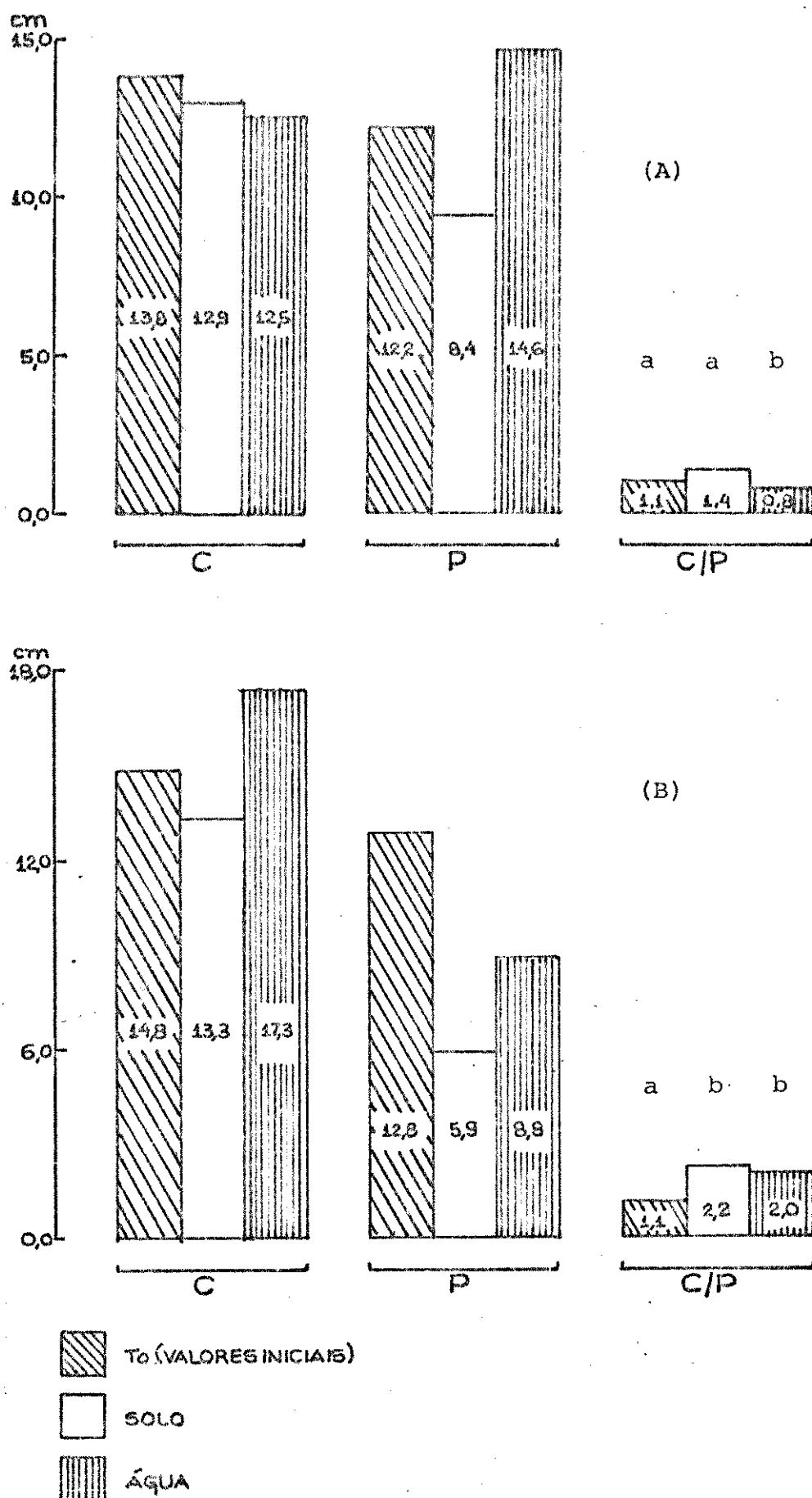


Figura 36 - Resultados do efeito do substrato na forma das folhas de plantas de aguapê com flutuadores crescidas durante o inverno (A) e primavera (B). Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

Analisando-se o comprimento das folhas e o perímetro dos pecíolos, verificou-se uma diferença significativa apenas nos valores do perímetro dos pecíolos. Esta diferença ocorreu por um aumento nos valores do controle em relação ao início do experimento, resultando em plantas apenas com pecíolos mais intumescidos.

Quando o experimento foi montado na primavera, um aumento no valor do índice de estiolamento ocorreu tanto nas plantas fixas no solo como no tratamento com água (controle), o que sugere um envolvimento da temperatura alta do ar na mudança das folhas, e não propriamente do substrato (Fig. 36B).

Um dado a favor desta observação se refere à época de inverno, onde a modificação das folhas de plantas enraizadas no solo não ocorreu.

Um efeito do substrato que pode ser observado em plantas de aguapé foi a alteração do aspecto geral das raízes, onde se nota um engrossamento dos tecidos e o aparecimento de uma quantidade pequena de raízes secundárias (Fig. 35a).

Um outro efeito observado, refere-se ao desenvolvi-mento de uma epinastia nas folhas novas de plantas fixas no solo (Fig. 35b).

A redução de crescimento da parte aérea e das raízes do solo em relação a água foi muito mais marcante no inverno (78% e 90,6%) do que na primavera (15,3% e 63,8%) (Tab. 10).

3.7. Restrição do espaço para o crescimento

Um experimento preliminar foi montado em ambiente natural com vasos de barro.

Os dados da temperatura média do ar tirados durante o experimento se acham na Tab. 11.

Observa-se (Fig. 37), no exemplar da direita, onde o

TABELA 10 - Efeito do substrato na forma das folhas de plantas de aguapê com flutuadores, crescidas no inverno e na primavera.

	Inverno			Primavera		
	T _O	Solo	Água	T _O	Solo	Água
P.F.P.A.	26,6	31,8	173,1	32,6	178,5	184,0
P.S.P.A.	1,6	4,4	20,0	2,5	17,1	20,2
P.F.R.	6,3	4,7	66,0	7,0	47,0	112,0
P.S.R.	0,26	0,50	5,3	0,50	3,0	8,3

peso médio por planta mãe = g

Nº.P.F.	0	12	15	0	13	18
---------	---	----	----	---	----	----

T_O = valores iniciais

TABELA 11 - Dados da temperatura média do ar do ano
de 1981 (graus centígrados)

	Junho	Julho	Agosto	Setembro
01		19,5	17,9	21,3
02		15,8	19,7	23,8
03		13,9	20,3	20,5
04		13,6	20,6	20,5
05		13,5	19,6	16,9
06		14,0	19,2	17,0
07		15,3	20,7	22,8
08		14,5	20,3	21,3
09		15,6	16,7	21,8
10		15,7	15,5	21,4
11		15,6	19,6	23,3
12	19,1	17,0	21,8	22,9
13	16,6	18,3	20,3	24,7
14	17,8	19,1	18,3	24,0
15	18,3	20,9	17,3	17,4
16	13,8	18,8	19,4	16,1
17	15,0	19,6	17,1	20,9
18	11,3	13,4	16,1	24,6
19	10,4	12,4	14,9	25,8
20	13,6	8,0	14,7	28,0
21	15,7	8,8	15,6	22,0
22	17,1	14,6	17,5	21,1
23	16,9	16,8	18,4	22,9
24	17,1	15,2	19,8	22,3
25	17,1	12,1	20,9	20,0
26	17,2	14,1	21,7	21,4
27	16,7	16,0	21,9	23,4

28	17,3	17,3	21,9	26,2
29	17,8	19,6	21,7	22,4
30	18,5	19,3	21,2	13,6
31	-	17,9	17,1	-

Figura 37. Detalhe da morfologia das folhas do aguapé,
onde a multiplicação vegetativa foi permitida
da (esquerda) e onde somente as plantas mãe
permaneceram (direita).

FIGURA 37



número de plantas foi mantido fixo (três) que não houve alteração nos pecíolos das folhas novas, enquanto que no exemplar à esquerda, onde a reprodução vegetativa foi permitida, uma alteração das folhas ocorreu com um nítido estreitamento dos pecíolos.

Para confirmar os resultados, foram montados dois experimentos semelhantes porém em recipientes de plástico com 3 plantas cada. Um durante o inverno (Inverno I) e outro na primavera, ambos também em ambiente natural.

Os dados da temperatura média coletados durante os experimentos estão na Tab. 12.

Pelos resultados da Fig. 38 observa-se que tanto nos tratamentos B do inverno I como da primavera, onde a densidade de plantas foi alta, a relação C/P também foi alta, indicando que a restrição do espaço causou o alongamento das folhas, enquanto que no controle, (tratamento C do inverno I), a relação C/P foi baixa, indicando que folhas flutuantes foram mantidas (Fig. 39). A diferença significativa ocorrida entre o Tempo zero (A) e o tratamento C, indica que neste último, os pecíolos se tornaram mais intumescidos, resultando num índice mais baixo.

Na primavera, índices de estiolamento altos foram encontrados em ambos os tratamentos (B e C). Isto sugere uma influência da temperatura, além da densidade alta de plantas.

Como o inverno de 1982 não foi rigoroso (Tab. 12), um experimento idêntico com mesmo tempo de duração, porém a temperaturas baixas, em condições artificiais, foi montado com plantas alongadas (Inverno II).

Nos resultados da Fig. 38c, pode-se observar pelos índices de estiolamento que as folhas novas dos tratamentos B (esquerda) e C (direita) de plantas inicialmente alongadas passaram a desenvolver folhas com flutuadores (Fig. 40), embora estatisticamente os valores dos índices dos tratamentos B e C tenham sido diferentes. A diferença significativa ocorreu apenas

TABELA 12 - Dados da temperatura média do ano de 1982
(graus centígrados)

	Junho			Julho			Agosto		
	Ar	Água	Solo	Ar	Água	Solo	Ar	Água	Solo
01				17,5	19,0	19,5	18,8	17,5	15,5
02				18,2	19,6	19,4	20,2	21,0	15,0
03				18,4			15,1	15,0	16,3
04				17,9		13,0	13,0		11,3
05				19,6	20,6	19,5	17,2	16,0	17,2
06				18,8	18,6	18,5	19,4	22,0	20,5
07				19,5	22,3	21,0	21,2	23,0	20,3
08				18,2	20,3	20,9	20,5	22,0	20,0
09				17,5	20,0	25,3	20,8	20,0	17,3
10				18,1			16,9	21,5	20,2
11				18,7			15,8	14,5	16,5
12				19,4	20,9	24,7	16,5	15,2	16,0
13				17,2	18,1	18,5	18,1	18,5	18,3
14				14,8	15,2	15,4	20,4	19,0	21,0
15	19,9			15,7	16,0	20,1	20,4	20,3	21,3
16	17,6			17,0	16,0	16,4	20,5	20,0	21,0
17	18,9			18,1			20,6	19,3	20,5
18	18,8			15,8			18,6	21,0	19,0
19	17,4			17,2	20,7		16,2	18,5	18,5
20	16,2			18,5	20,4	20,4	16,3	21,0	19,3
21	16,5			18,8	19,6	21,8			
22	16,0			18,8					
23	17,5	17,8	18,0	19,3					
24	19,0	20,2	20,0	18,5					
25	18,7	20,0	20,0	19,4					
26	19,8			18,4					
27	22,3			18,4	18,0				
28	21,4	20,0	20,7	19,0	17,0	18,0			
29	17,3	19,2	19,0	17,8	18,0	17,5			
30	17,5	19,5	18,7	12,0	12,0	16,0			
31				14,8					

TABELA 12 - Dados da temperatura média do ano de 1982
(graus centígrados)

	Outubro			Novembro		
	Ar	Água	Solo	Ar	Água	Solo
01	20,6			24,8	24,0	24,2
02	19,2			26,6		25,3
03	21,3			26,3	28,0	23,0
04	22,1			25,6	28,0	28,0
05	22,1			25,0	27,0	26,0
06	20,1	21,0	21,0	23,3	23,3	24,0
07	19,6	25,0	19,0	23,4	25,0	27,0
08	18,9	20,3	19,0	24,0	25,5	25,2
09	18,9	21,0	18,3	24,0	27,0	27,0
10	19,0	23,0		26,1	25,5	26,0
11	19,3	21,5		20,6	22,0	23,0
12	20,2	22,0		21,6	23,0	23,3
13	17,5			22,8	25,0	19,3
14	17,3	19,0		19,0		24,0
15	19,1	21,5	18,0	22,5		25,3
16	19,0	22,5	20,0	20,2		22,1
17	23,3	24,0	23,0	20,7		22,5
18	21,1	23,2	21,0	23,1		25,0
19	19,8	24,0	21,2	23,0	25,3	
20	21,2	24,0	21,3	23,6		25,3
21	21,3	26,0	23,3	22,5	25,0	25,3
22	23,0	26,3	22,3			
23	23,9	27,0	25,3			
24	24,3	25,6	24,3			
25	25,2	28,2	26,0			
26	22,9	26,0	23,3			
27	24,7	26,3	25,5			
28	23,0	27,3	25,0			
29	23,2	25,0	24,0			
30	22,8	26,0				
31	22,3	28,0				

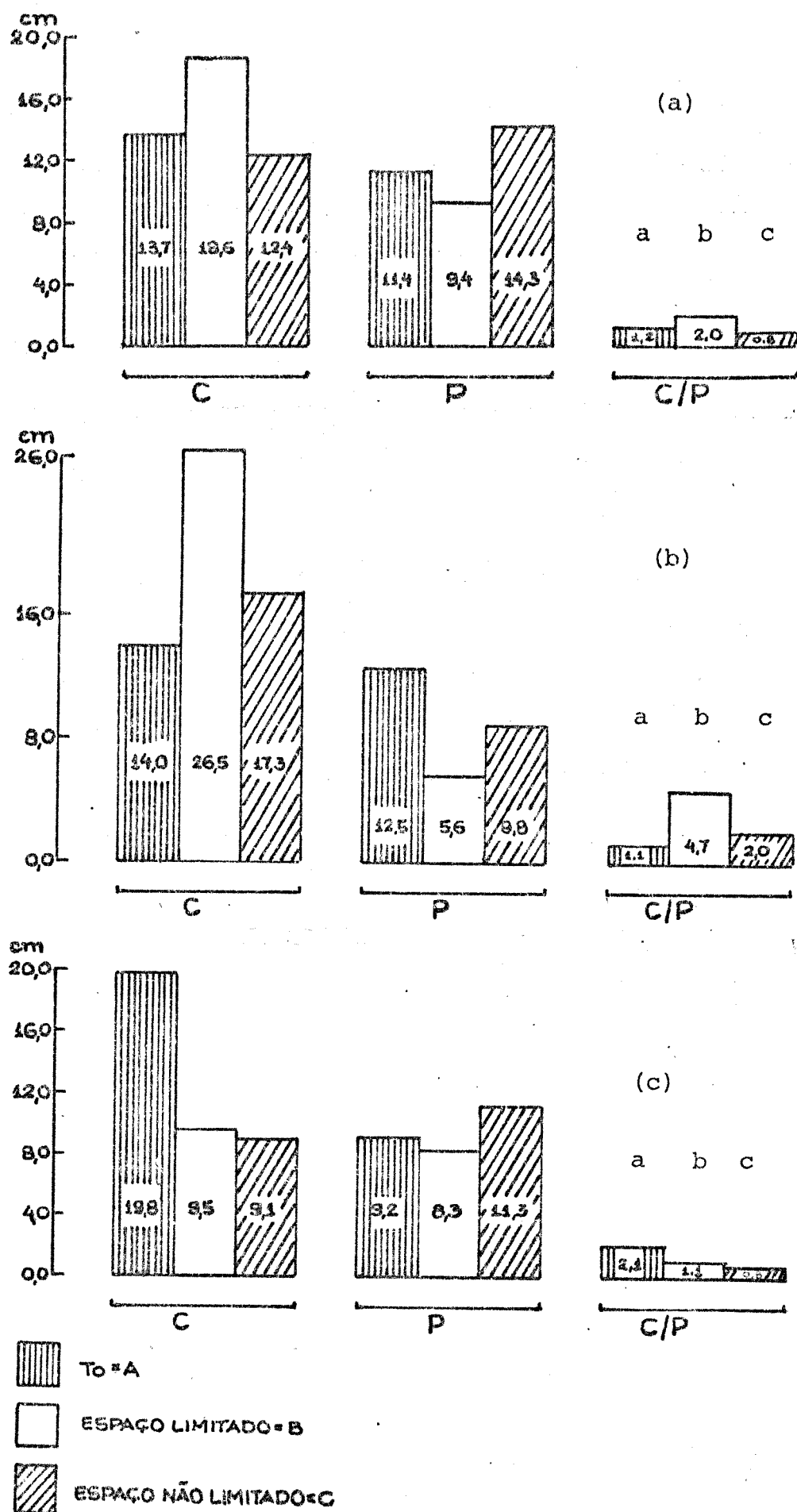


Figura 38 - Resultado do efeito da restrição do espaço na alteração da forma das folhas do aguapé durante o inverno I(a); primavera (b) e sob condições artificiais a baixa temperatura (20°C/15°C), inverno II (c).

Figura 39. Detalhe de plantas de aguapê crescidas em espaço não limitado (esquerda) e em espaço limitado (direita) durante o inverno.

Figura 40. Detalhe de plantas de aguapê com folhas alongadas mantidas sem restrição do espaço (esquerda) e em espaço restrito (direita) para seu crescimento a baixas temperaturas.

FIGURA 39



FIGURA 40



nos valores dos perímetros dos pecíolos que foram maiores no tratamento C, enquanto que não houve diferença no comprimento total das folhas (Fig. 38c).

Esta passagem de alongada para flutuante se deve provavelmente ao efeito da temperatura baixa. O crescimento lento das plantas, causado também pela baixa temperatura, não permitiu que se observasse o efeito da alta densidade de plantas durante o experimento.

Pela Tab. 13, observa-se que em todas as situações o tratamento C favoreceu o crescimento tanto da parte aérea (inverno I = 196%, inverno II = 52%, primavera = 229%) como das raízes (inverno I = 284%, inverno II = 50%, primavera = 260%).

4. Fatores Endógenos

4.1. Reguladores de Crescimento

4.1.1. Ácido Giberélico

Para verificar se as giberelinas estão envolvidas no alongamento dos pecíolos das folhas do aguapê, foi montado um experimento com 4 plantas flutuantes para cada tratamento em câmaras de crescimento a temperatura do ar de 25°C/20°C, utilizando-se o ácido giberélico nas concentrações de 10^{-4} M a 10^{-6} M.

Pelos resultados da Fig. 41, observa-se o efeito promotor do GA₃ no alongamento das folhas, pelos valores do índice de estiolamento.

Percebe-se que a promoção do alongamento foi maior a soluções mais concentradas de GA₃ (Figs. 42 e 43).

Também, outro efeito devido à ação do ácido giberélico foi a promoção do aumento no comprimento dos estolões, que

TABELA 13 - Influência da densidade das plantas de aguapê no alongamento das folhas durante o inverno, primavera e sob condições artificiais a baixa temperatura (20°C/15°C).

	Inverno I			Primavera			Inverno II		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Planta mãe									
P.F.P.A.	25,0	59,5	123,0	32,6	66,8	184,0	14,0	35,3	45,0
P.S.P.A.	1,7	4,9	14,5	2,5	5,2	17,1	0,8	2,5	3,8
P.F.R.	4,7	17,7	69,0	7,0	28,3	112,0	1,3	7,5	11,6
P.S.R.	0,4	1,3	5,0	0,5	2,3	8,3	0,1	0,4	0,6
Plantas filhas									
P.F.P.A.	115,0			91,0			14,8		
P.S.P.A.	8,6			7,1			0,90		
P.F.R.	17,4			14,0			0,70		
P.S.R.	1,4			1,0			0,05		
P.F.E.	20,0			20,0			4,3		
P.S.E.	0,9			1,2			0,15		
Nº.P.F./0,05m ²	25			18			12		

peso médio por planta mãe = g

Medidas iniciais = A

Espaço limitado = B

Espaço não limitado = C

Figura 42. Plantas de aguapê crescidas em solução de GA_3 a 10^{-6}M (a); somente em água, controle, (b) ; GA_3 a 10^{-5}M (c) e GA_3 a 10^{-4}M (d).

Figura 43. Detalhe das folhas de plantas de aguapê mantidas em solução nutritiva com GA_3 a concentração de 10^{-4}M .

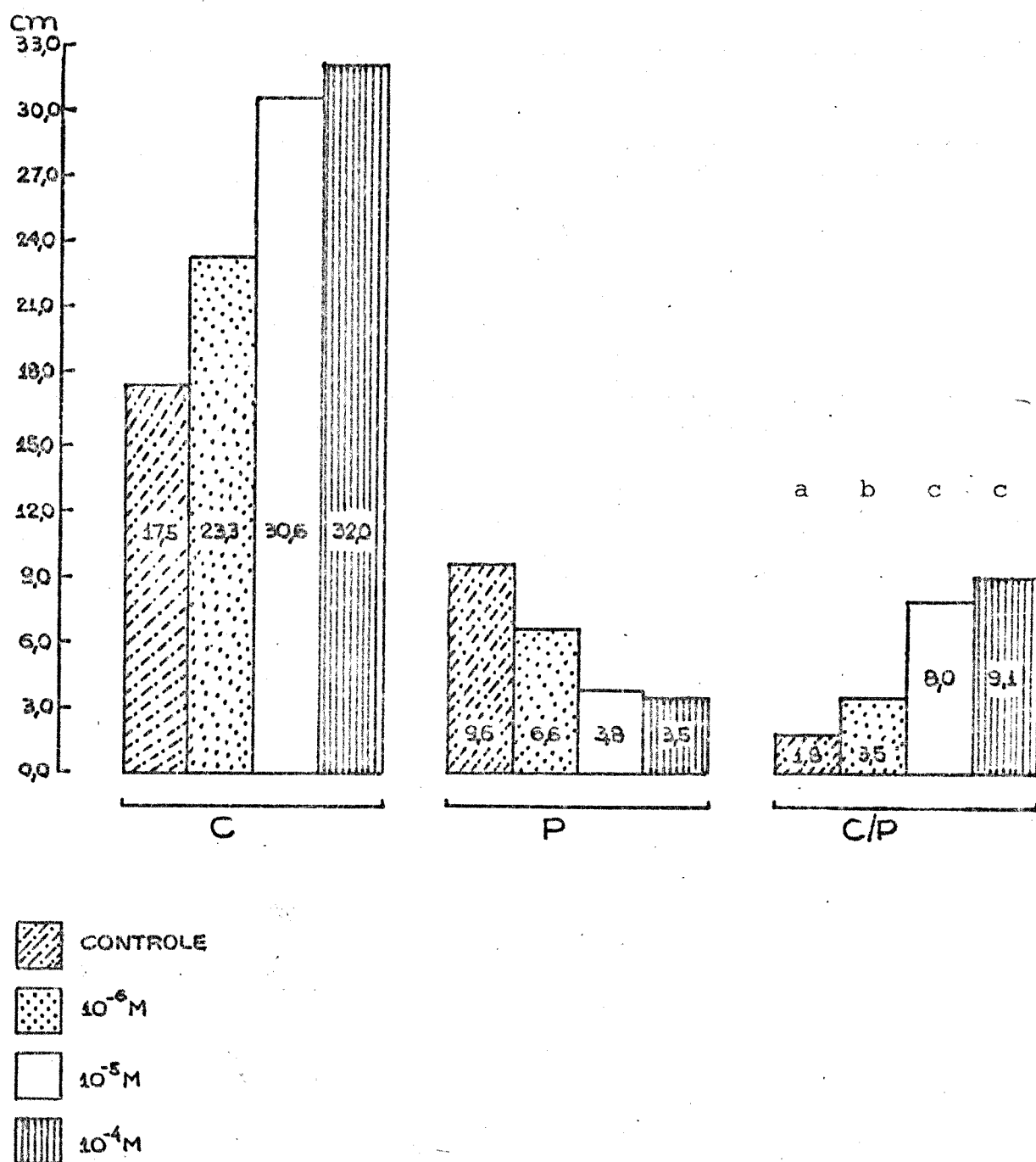


Figura 41 - Resultado do efeito do GA_3 na mudança da forma das folhas de plantas do aguapé.
 Comprimento total da folha(C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

FIGURA 42



(a)

(b)

(c)

(d)

FIGURA 43



foi maior quanto mais concentrada foi a solução utilizada (Tab. 14).

Os valores dos resultados obtidos tanto para o índice de estiolamento como para o comprimento dos estolões foram estatisticamente diferentes.

Na Tab. 14 nota-se nas plantas tratadas com o GA_3 , que ocorreu um aumento nos pesos fresco e seco da parte aérea em relação ao controle, independentemente da concentração utilizada.

4.1.2. Cinetina

Para verificar a influência das citocininas no alongamento das folhas do aguapê, um experimento com 4 plantas para cada concentração, em câmaras de crescimento a temperatura do ar de $25^{\circ}C/20^{\circ}C$ foi montado, utilizando-se cinetina a concentrações que variaram de $10^{-8}M$ a $10^{-6}M$.

Os resultados obtidos (Fig. 44) mostraram que não houve diferença entre os valores do índice de estiolamento do controle e as concentrações de cinetina, indicando que a cinetina não teve efeito na alteração das folhas pelo menos nas concentrações testadas. Em relação ao comprimento dos estolões e ao aumento de matéria seca da parte aérea e das raízes praticamente não foram observadas diferenças entre o controle e as concentrações utilizadas (Tab. 15).

4.1.3. Ácido Giberélico e Cinetina

Um experimento foi montado com 4 plantas flutuantes de aguapê para cada tratamento, em câmaras de crescimento a temperatura do ar de $25^{\circ}C/20^{\circ}C$, adicionando-se ambos : ácido giberélico e cinetina na concentração de $10^{-5}M$ em solução nutritiva.

Pela Fig. 45 observa-se que ocorreu um alongamento das folhas nos tratamentos de GA_3 e GA_3+K , enquanto que no trata

TABELA 14 - Efeito do ácido giberélico no crescimento das plantas de aguapé.

	Ácido Giberélico			
	Controle	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
Planta mãe				
P.F.P.A.	47,7	58,0	59,2	58,7
P.S.P.A.	2,6	3,1	3,1	3,1
P.F.R.	9,5	11,7	10,0	6,7
P.S.R.	0,5	0,5	0,5	0,2
Plantas filhas				
P.F.P.A.	3,9	5,1	4,5	4,0
P.S.P.A.	0,3	0,3	0,3	0,3
P.F.R.	0,09	0,2	0,09	0,08
P.S.R.	0,007	0,014	0,005	0,003
peso médio por planta mãe = g				
Nº.P.F.	3	3	3	2
C.E.	4,5 a	7,8 b	11,2 c	14,4 d

comprimento dos estolões = cm

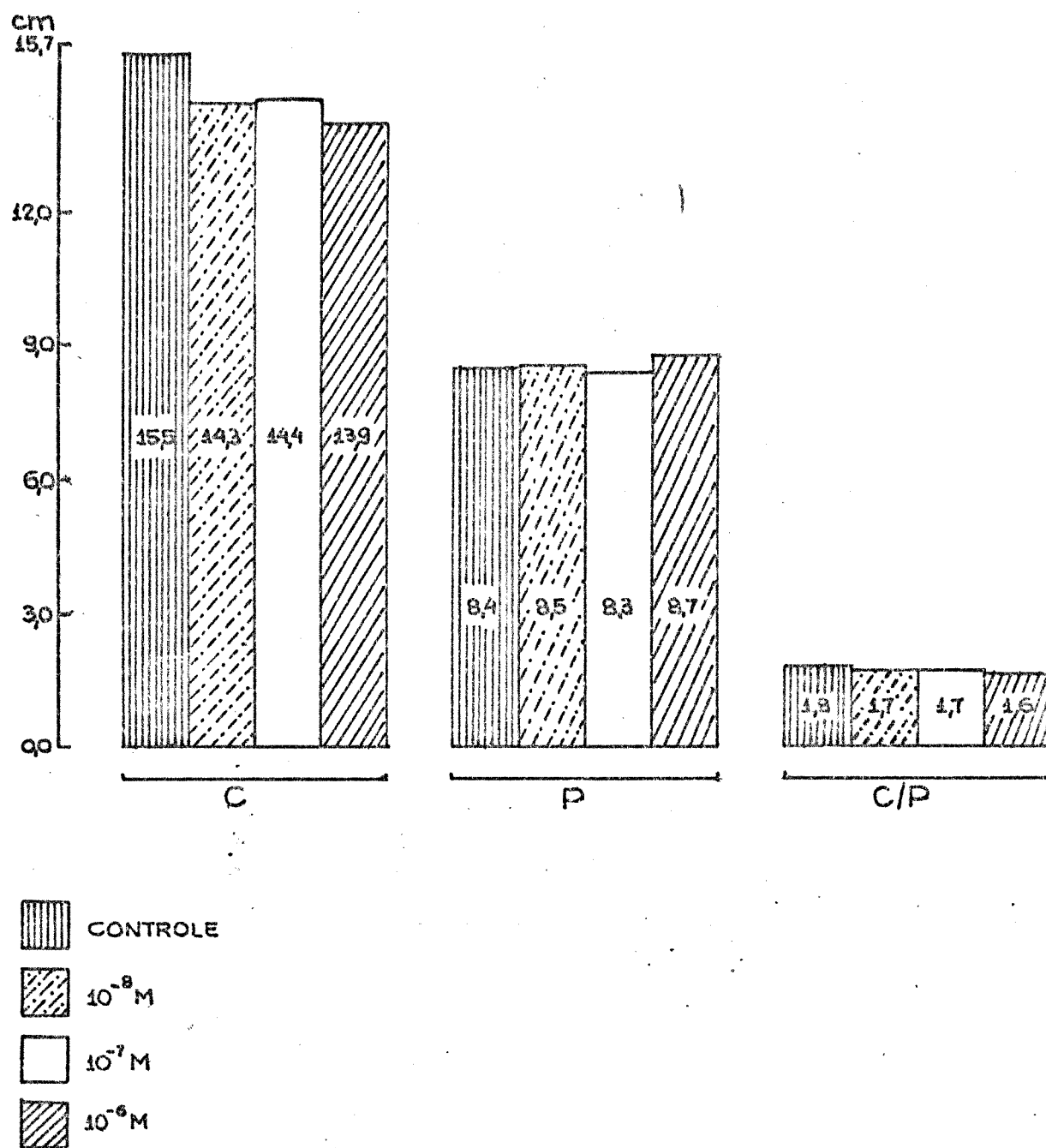


Figura 44 - Resultado do efeito da cinetina na mudança da forma das folhas de plantas do aguapé.
Comprimento total da folha (C); maior perímetro do pecíolo (P); índice de estiolamento (C/P).

TABELA 15 - Efeito da cinetina no crescimento das plantas de aguapé.

			Cinetina	
	Controle	$10^{-8}M$	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$
Planta mãe				
P.F.P.A.	37,1	38,5	38,5	38,0
P.S.P.A.	2,6	2,5	2,4	2,3
P.F.R.	5,4	8,4	10,5	11,0
P.S.R.	0,55	0,62	0,67	0,75
Plantas filhas				
P.F.P.A.	2,5	3,2	3,1	2,9
P.S.P.A.	0,15	1,17	0,16	0,16
P.F.R.	0,077	0,214	0,222	0,143
P.S.R.	0,006	0,008	0,008	0,008
peso médio por planta mãe = g				
Nº.P.F.	3	3	4	5
C.E.	5,4	5,7	6,3	5,3

comprimento dos estolões = cm

Figura 45. Detalhe de plantas de aguapé mantidas somente em água, controle, (a) ; em solução de GA_3 a $10^{-5}M$ (b) ; em solução de cinetina a $10^{-5}M$ (c) e em solução de $GA_3 + K$ ambos a $10^{-5}M$ (d).

Figura 46. Detalhe da ausência de raízes secundárias em plantas de aguapé tratadas com solução de cinetina a $10^{-5}M$ (a) e solução de $GA_3 + K$ a $10^{-5}M$ (b).

FIGURA 45

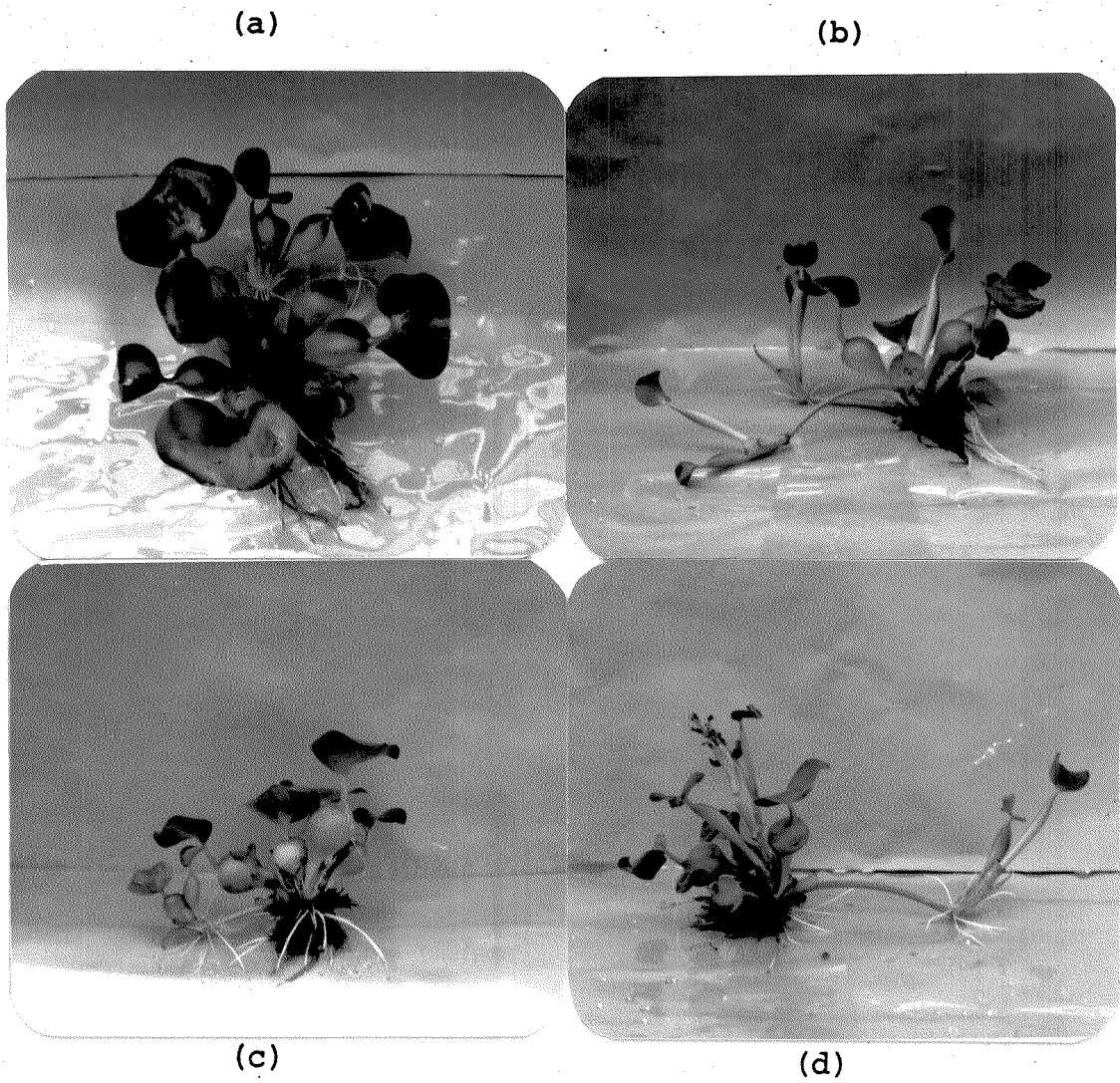
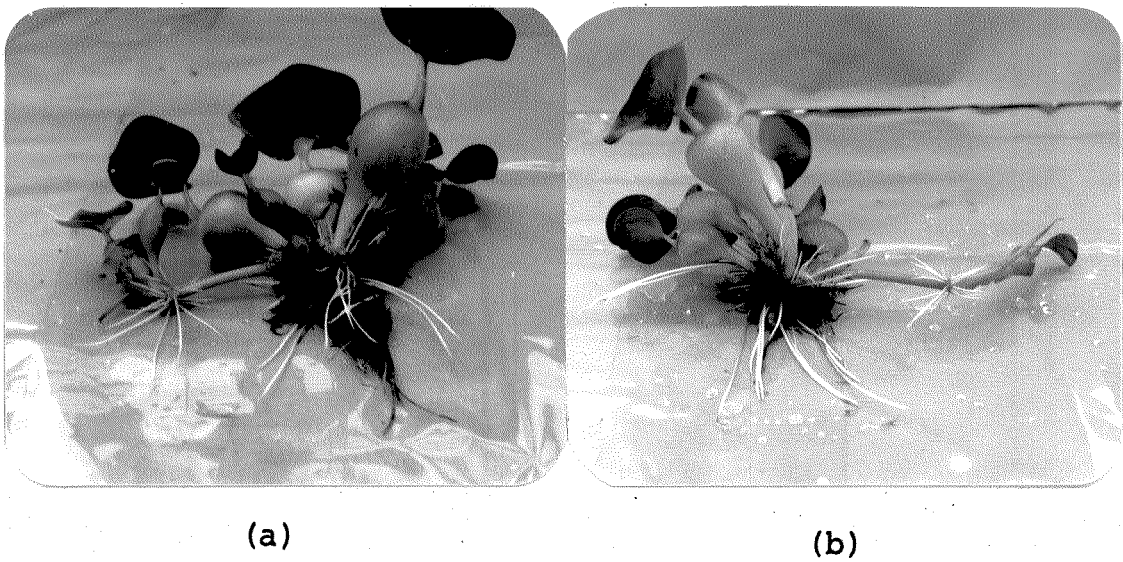


FIGURA 46



mento com a cinetina, tal efeito não foi verificado.

Nota-se, pelos índices de estiolamento (Fig. 47), que no tratamento de $GA_3 + K$ o alongamento das folhas foi maior que aquele obtido no tratamento apenas com o GA_3 , mostrando que a cinetina também tem efeito no alongamento, mas apenas quando o GA_3 esteve presente.

Análise de interação com o cálculo da Diferença Mínima Significativa a nível de 5% ($DMS_{5\%}$), mostrou diferenças significativas nos valores médios dos índices de estiolamento, indicando que houve um efeito sinérgico entre o ácido giberélico e a cinetina.

Pela Tab. 16, observou-se um aumento no comprimento dos estolões do tratamento de GA_3 e $GA_3 + K$, enquanto que o mesmo não ocorreu com a cinetina.

O efeito dos reguladores no crescimento foi mais pronunciado nas plantas mãe do que nas plantas filhas, sendo que a cinetina praticamente não afetou o crescimento, o ácido giberélico estimulou, estímulo esse reduzido parcialmente na presença de cinetina (Tab. 16).

Uma ausência de raízes secundárias nas plantas de aguapê foi observada, mas somente nos tratamentos onde a cinetina foi aplicada (Fig. 46).

4.2. Detecção de Substâncias de Crescimento

4.2.1. Extração e Aplicação de Bioensaios para Giberelinas e Citocininas

Tendo o conhecimento pelos experimentos anteriores que as giberelinas e citocininas afetaram a mudança das folhas, foram feitas tentativas para a detecção destes compostos nas raízes de aguapê, utilizando-se o método de extração por sol-

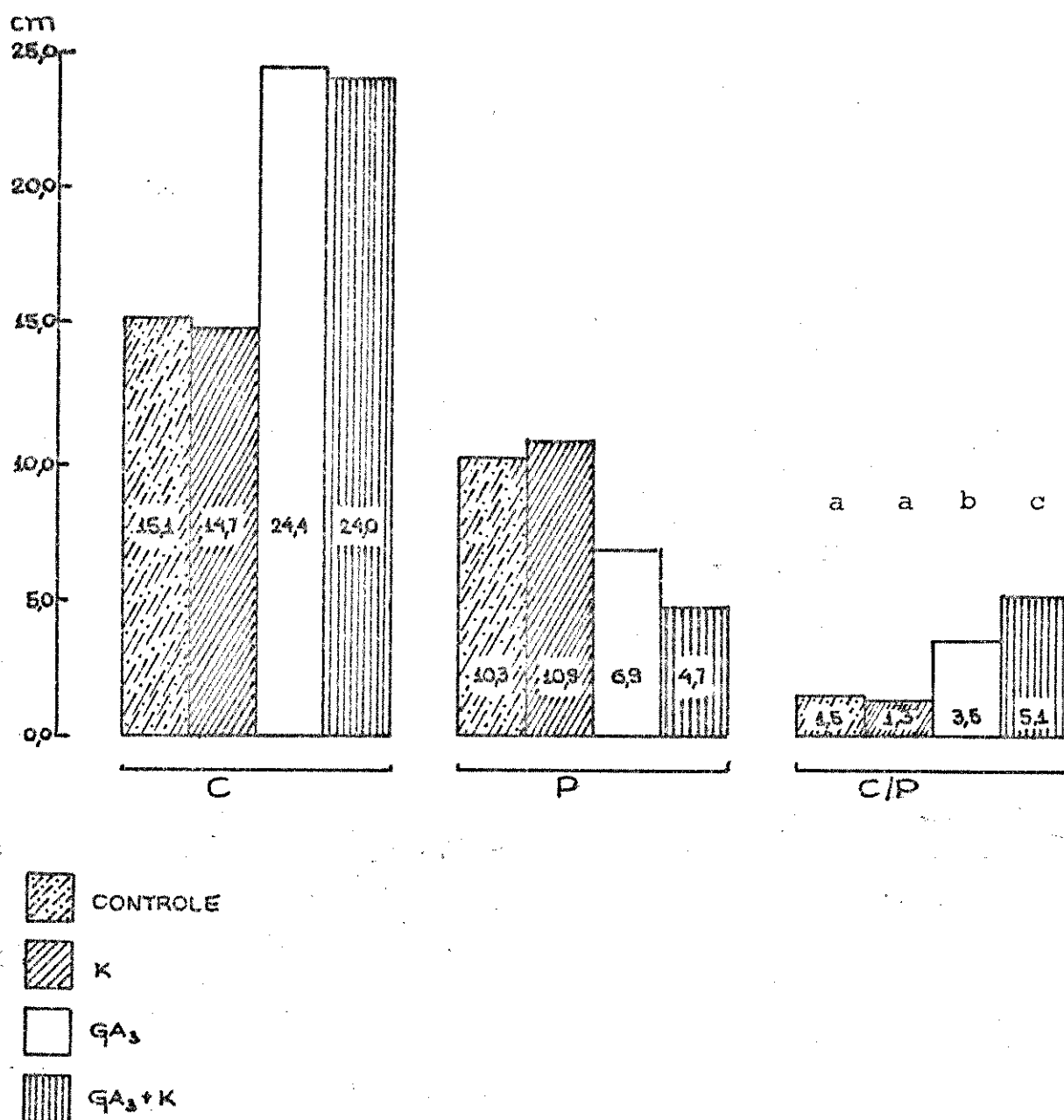


Figura 47 - Resultado do efeito da interação entre o GA₃ e a K no alongamento das folhas do aguapé.

Comprimento total da folha (C) ; maior perímetro do pecíolo (P), índice de estiolamento (C/P).

TABELA 16 - Resultados da interação entre o ácido giberélico e a cinetina na concentração de $10^{-5}M$ no crescimento das plantas de aguapé.

	Controle	K	GA ₃	GA ₃ + K
Planta mãe				
P.F.P.A.	33,6	32,7	43,0	36,8
P.S.P.A.	2,0	2,3	2,7	2,4
P.F.R.	7,7	7,1	8,6	8,4
P.S.R.	0,5	0,5	0,5	0,6
Plantas filhas				
P.F.P.A.	2,7	1,5	2,8	3,1
P.S.P.A.	0,125	0,100	0,136	0,136
P.F.R.	0,125	0,125	0,181	0,562
P.S.R.	0,004	0,006	0,007	0,026
peso médio por planta mãe = g				
Nº.P.F.	1	2	1	1
C.E.	5,5 a	3,4 a	12,3 b	14,0 c

comprimento dos estolões = cm

ventes orgânicos, seguido de bioensaio.

Tanto a inibição como a promoção da síntese de betacianina foram observadas nos cotilédones e hipocôtilo das plântulas de *Amaranthus* sp.

Para os bioensaios foram usadas raízes de plantas com folhas alongadas e folhas flutuantes.

a. Giberelinas

Os resultados da extração de compostos giberelínicos se acham nas Figs. 48 e 49. Nestas podem ser observadas 2 regiões de inibição da síntese de amarantina nas plântulas de *Amaranthus* sp, obtidas do extrato de raízes das plantas alongadas (Fig. 48), em torno da região compreendida entre o Rf 0,0 e 0,1 e da faixa entre o Rf 0,9 e 1,0, indicando a presença de substâncias com atividade giberelínica, ao contrário do bioensaio com o extrato das raízes de plantas flutuantes onde nenhuma região de inibição pode ser detectada (Fig. 49).

A inibição causada por GA_3 (0,01 μ g/ml) também está representada na Fig. 48.

Análise de variância a $DMS_{5\%}$ mostrou diferenças significativas nos valores das faixas entre Rf 0,0 e 0,1 e Rf 0,9 e 1,0 de folhas alongadas.

b. Citocininas

Os resultados da extração de compostos citocinínicos se acham na Fig. 50, onde pode ser observada uma região de promoção da síntese de amarantina nas plântulas de *Amaranthus* sp, obtida do extrato de raízes de plantas com folhas alongadas na faixa entre o Rf 0,3 e 0,5 (Fig. 50A), estatisticamente significativa, indicando a presença de substâncias com atividade citocinínica nestas plantas. O mesmo não ocorreu no bioensaio realizado com o extrato de raízes de plantas com folhas flutuantes (Fig. 50B).

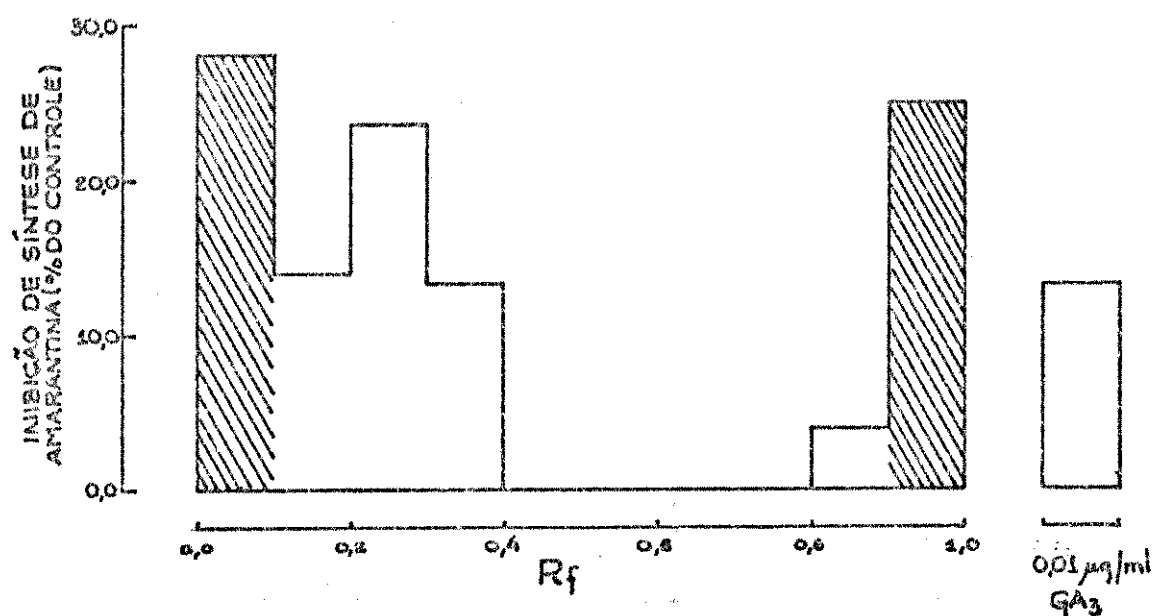


Figura 48 - Resultados do bioensaio para giberelinas com extrato de raízes de plantas alongadas de aguapê, equivalentes a 2,0 g de peso seco.

As regiões hachuradas representam os Rfs estatisticamente significativos (DMS_{5%}).

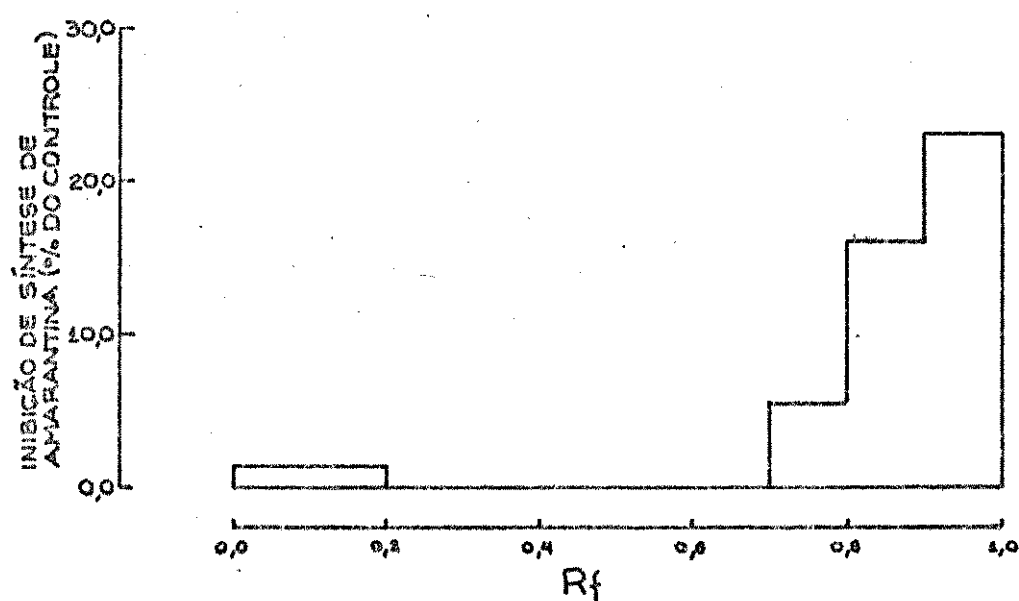


Figura 49 - Resultados do bioensaio para giberelinas com extratos de raízes de plantas flutuantes de aguapê, equivalentes a 2,0 g de peso seco.

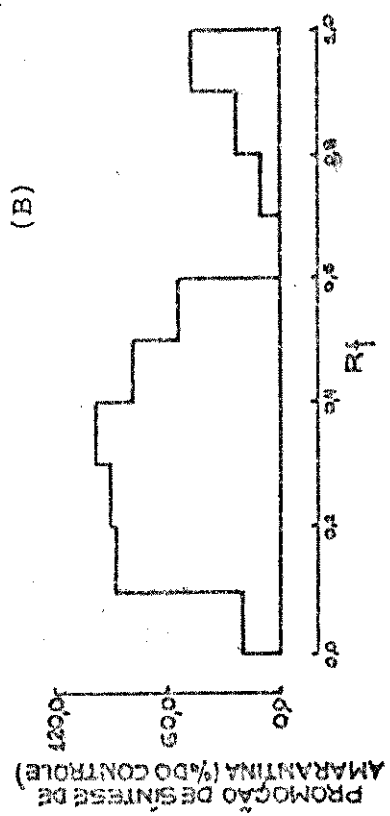
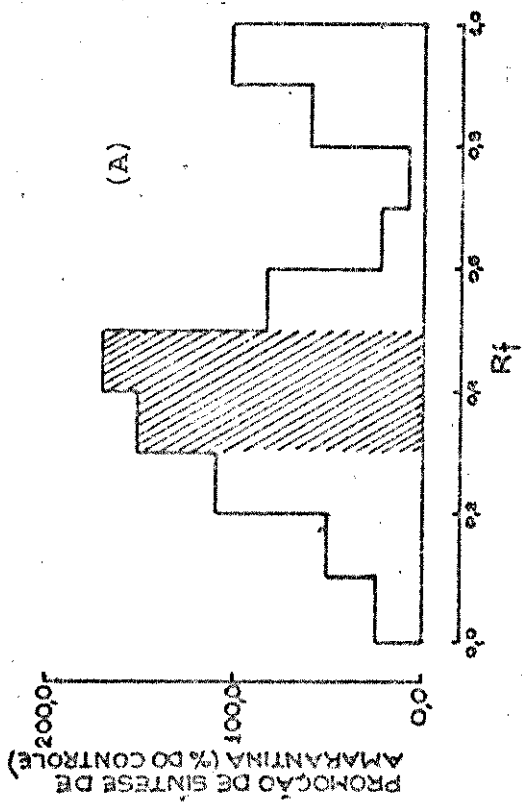


Figura 50 - Resultados do bioensaio para citocininas em extratos de raízes de plantas alongadas (A) e plantas flutuantes (B) de aguapé, equivalentes a 2,0 g de peso seco. As regiões hachura - das representam os Rfs estatisticamente significativos (DMS_{5%}).

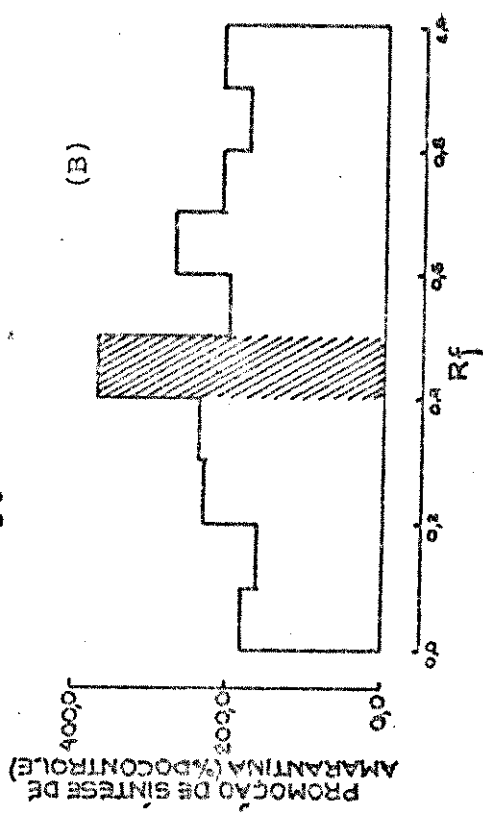
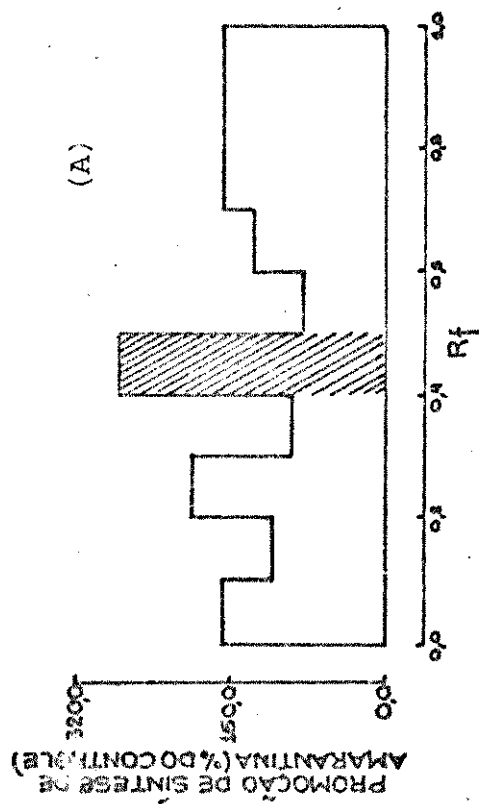


Figura 51 - Resultados do bioensaio para citocininas utilizando-se padrões de Z (A) e Rb (B) à concentração de 10µg/ml. As regiões hachuradas representam zonas de maior promoção de síntese de amarantina.

Os bioensaios realizados com um padrão de Zeatina e Ribosídeo de Zeatina apresentaram uma maior promoção de síntese de amarantina na faixa entre o Rf 0,4 e 0,5 (Fig. 51).

V. DISCUSSÃO

Nos experimentos onde o índice de estiolamento das folhas velhas foi medido, verificou-se que os valores foram os mesmos tanto no início quanto no final dos tratamentos indicando que as folhas velhas já se diferenciaram, não ocorrendo portanto mudanças morfológicas nessas folhas.

Os resultados dos experimentos sobre a influência da nutrição e do crescimento vegetativo no alongamento das folhas, mostraram que não houve interferência da concentração de nutrientes e nem do crescimento vegetativo na alteração da morfologia das folhas.

Os resultados encontrados para as plantas submetidas a variação da intensidade luminosa concordam com aqueles observados por BORESCH (1912) e PENFOUND e EARLE (1948), onde plantas colocadas em locais sombreados desenvolveram pecíolos alongados enquanto que plantas mantidas em locais iluminados mantiveram seus pecíolos inflados.

O mesmo efeito observado por BORESCH, (1912) no alongamento da folha de plantas submetidas a temperaturas altas foi obtido nos experimentos de variação da temperatura, onde se pode confirmar o seu efeito na mudança das folhas, visto que uma elevação da temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$) de 5°C já foi o suficiente para provocar o alongamento.

No caso do fotoperíodo foi necessário levar em consideração o fator temperatura, pois seu efeito variou em função da variação da temperatura.

Os dados encontrados nos experimentos iniciais de fotoperíodo, onde diferentes temperaturas foram utilizadas, parecem indicar que somente a temperatura tem influência na modificação das folhas, porém no experimento realizado com fotoperíodo a temperatura do ar constante a 23°C e temperatura da água

de 27°C, temperatura esta favorável ao alongamento da folha, somente no tratamento com fotoperíodos longos é que se observou um alongamento dos pecíolos. Dessa forma, o fotoperíodo também pode ser um fator que está relacionado com esta mudança, mas não é o único responsável, ao contrário da temperatura que sozinha mostrou ser efetiva na modificação.

Observações semelhantes foram encontradas por ABDALLA (1967) e ROBINSON, (1971 in STEER, 1981) a respeito do fotoperíodo e da temperatura em plantas terrestres, onde nos trópicos a temperatura foi sugerida como o fator mais importante, mas não único, pois uma interação entre ambos é conhecida no bulbilhamento em cebola (THOMPSON e SMITH, 1938 in STEER, 1981 e STEER, 1981) e na floração do feijão alado (HERATH e ORWOD, 1979).

Nos experimentos onde o alongamento das folhas ocorreu, verificou-se que tanto o comprimento das folhas como o perímetro dos pecíolos variou. Em alguns casos, apenas um desses parâmetros foi alterado, em outros casos ambos se modificaram.

Estas observações efetuadas através de parâmetros externos concordam com os dados obtidos por BORESCH, (1912) nos cortes histológicos, onde, em corte longitudinal, folhas alongadas apresentavam um aumento no comprimento dos aerênquimas em relação às flutuantes. Em corte transversal apresentavam uma relevante diminuição tanto do diâmetro quanto do número de aerênquimas.

O efeito observado por GOEBEL, (1889 in BORESCH, 1912); SPRUCE, (1908 in PENFOUND e EARLE, 1948); BORESCH, (1912) e PENFOUND e EARLE, (1948) em plantas de aguapé cujas folhas se alongaram quando fixas num substrato, somente pode ser observado nos experimentos realizados durante a época quente. Porém, uma promoção da inibição dos flutuadores também foi encontrada para o tratamento controle (com água somente), o que sugere a participação da temperatura alta e não do substrato na modificação, visto que nos experimentos realizados durante a época fria não foi constatada nenhuma alteração nas folhas.

Um efeito observado por PENFOUND e EARLE (1948) que tam

bém pode ser observado nos experimentos, refere-se ao aparecimento de epinastia das folhas do aguapé em plantas enraizadas no solo. Esses resultados levaram os autores a supor que a oxigenação pobre do ar ou da água, é que poderia ser o fator responsável pela indução da epinastia, pois o mesmo ocorreu quando as plantas foram confinadas por várias horas em recipientes cobertos.

No caso das plantas fixas no substrato, é possível que a baixa oxigenação do sistema radicular tenha provocado o desenvolvimento de curvaturas epinásticas na parte aérea de plantas terrestres, onde pode ser constatado um aumento na taxa de produção de etileno na parte aérea, quando seu sistema radicular foi submetido a baixas concentrações de oxigênio pelo alagamento do solo (KAWASE, 1978 em plantas de tomate e girassol; BRADFORD e DILLEY, 1978 e JACKSON et al., 1978 em plantas de tomate).

Observações de campo realizadas por PENFOUND e EARLE, (1948) a respeito da ausência de folhas com flutuadores em massas densas de plantas durante o verão, também puderam ser verificados em condições de laboratório.

Resultados positivos foram encontrados para as plantas crescendo com espaço limitado tanto no inverno como na primavera. No entanto, como o inverno de 1982 não foi rigoroso e no tratamento onde o espaço não foi limitado, realizado durante a primavera, o índice de estiolamento foi alto, tem-se a impressao de que somente a temperatura alta teve efeito, atuando não só de forma direta como também de forma indireta, propiciando o rápido crescimento das plantas e acelerando a sua multiplicação.

A atribuição exclusiva do efeito da massa densa de plantas na inibição dos flutuadores só poderia ser confirmada em plantas mantidas a baixas temperaturas. Porém, nos experimentos realizados nestas condições, os flutuadores permaneceram, provávelmente devido ao tempo insuficiente de duração do experimento que foi o mesmo que os demais; mas a indicação na literatura de

que folhas flutuantes foram encontradas em águas abertas durante o verão (PENFOUND e EARLE, 1948) fornece uma evidência de que o espaço disponível para o crescimento tem uma influência no alongamento das folhas, não sendo um efeito exclusivo da temperatura.

Em relação aos fatores hormonais, a aplicação de reguladores de crescimento em plantas de aguapé inibiu a formação dos flutuadores nas folhas tratadas com o ácido giberélico, além de acentuar o desenvolvimento dos estolões. Resultados semelhantes foram obtidos por PIETERSE et al. (1976) com plantas de aguapé tratadas com o ácido giberélico.

O mesmo não ocorreu nas plantas tratadas com cinetina, pois nenhuma modificação pôde ser observada. Este resultado não coincide com aquele obtido pelos mesmos autores, onde um ligeiro espessamento e rápido retorno à condição flutuante de plantas alongadas foi conseguido na presença de 6-benziladenina.

Além disso, quando o ácido giberélico e a cinetina foram adicionados num mesmo tratamento o que se verificou foi uma promoção ainda maior do efeito inibitório na formação dos flutuadores, o que sugere que a cinetina tem efeito no alongamento, mas apenas na presença do ácido giberélico.

Partindo-se dos resultados obtidos nos experimentos da aplicação de giberelina e citocinina em plantas de aguapé, onde concentrações baixas de ácido giberélico testadas promoveram a inibição da formação dos flutuadores e quando em conjunto com a cinetina promoveram uma inibição ainda maior, sugeriu-se que a quantidade de compostos giberelínicos e citocinínicos em plantas de aguapé com folhas alongadas deveria ser maior que naquelas com folhas flutuantes.

Nos extratos de raízes de plantas com folhas alongadas (Figs. 45 e 47) foi observada a presença de substâncias com atividade giberelínica e citocinínica, indicando que, possivelmente, nas plantas que se alongaram o conteúdo de compostos gi-

berelínicos e citocinínicos é maior que naquelas com folhas flutuantes, onde nenhuma atividade estatisticamente significativa foi detectada nos bioensaios.

É possível que a mudança da morfologia das folhas de plantas submetidas aos fatores ambientais como intensidade luminosa, temperatura, fotoperíodo, densidade alta de plantas, se dê pela variação na concentração de substâncias giberelínicas e citocinínicas endógenas.

VI. CONCLUSÃO

1. Na planta de aguapê, um parâmetro de crescimento que deve ser considerado, além de seu aumento em peso seco é o aumento do volume pela capacidade que uma planta possui em formar novas plantas através da reprodução vegetativa.

2. Os fatores ambientais estudados que afetaram a morfologia das plantas do aguapê promovendo o alongamento das suas folhas foram : baixas intensidades luminosas de 25% a 50% da luminosidade total, temperaturas do ar variando de 26°C a 30°C, fotoperíodos longos e densidade alta de plantas obtidas com a restrição do espaço para o crescimento.

3. Os fatores estudados que não tiveram efeito na mudança da morfologia das folhas foram : crescimento da planta pela propagação vegetativa sem limitação do espaço, variação da concentração de nutrientes e alteração do substrato com o enraizamento das plantas no solo.

4. Os reguladores de crescimento, giberelinas e citocininas estão envolvidos no processo do alongamento dos pecíolos das folhas do aguapê. O ácido giberélico promoveu tanto o alongamento das folhas como o desenvolvimento dos estolões, enquanto que a cinetina sozinha não teve efeito. Porém, um efeito sinérgico no alongamento foi obtido com a cinetina na presença do ácido giberélico.

5. O conteúdo dos compostos giberelínicos e citocínicos em raízes de aguapê foi maior nas plantas alongadas do que nas plantas flutuantes, o que sugere uma relação entre variação do nível de hormônios e a modificação da morfologia das folhas nestas plantas.

VII. RESUMO

Na natureza observa-se basicamente a ocorrência de 2 tipos diferentes de folhas em plantas de aguapé, dependendo da época do ano ou das condições ambientais a que estão sujeitas.

O tipo de folha mais comumente encontrada, apresenta um pecíolo dilatado contendo ar em seu interior, o que lhe permite flutuar. O outro tipo de folha pelo contrário é alongado e não apresenta essa dilatação.

Um estudo com plantas de aguapé foi realizado para verificar os fatores ambientais que regulam esta variação na forma das folhas, bem como detectar possíveis substâncias de crescimento envolvidas neste processo, além de verificar o efeito de alguns reguladores de crescimento.

As plantas foram cultivadas em recipientes de plástico em solução nutritiva de HOAGLAND diluída 2 vezes, exceto para os tratamentos onde o estado nutricional da planta foi verificado.

As condições de crescimento foram três : ambiente natural, casa de vegetação e câmaras de crescimento com controle de luz e temperatura.

Para se avaliar a alteração na morfologia das folhas, foi estabelecido um índice a partir da relação entre o comprimento total da folha e o maior perímetro do pecíolo (C/P).

Dentre os fatores físicos estudados, aqueles cujo efeito pode ser observado em promover o alongamento das folhas foram : baixas intensidades luminosas de 25% e 50% da luminosidade total, temperaturas do ar variando de 26°C a 30°C, fotoperíodos longos a temperatura da água de 27°C e densidade alta de plantas. Nenhuma modificação nas folhas foi observada nos experimentos de nutrição e do crescimento vegetativo, o que indica

que a concentração de nutrientes e a expansão vegetativa não interferem no alongamento.

Quanto ao efeito do enraizamento de plantas do aguapé no solo, o alongamento ocorreu tanto nas plantas enraizadas, como naquelas mantidas em água, o que levou a supor que o efeito maior se deva a temperaturas altas da época quente de não do substrato.

Plantas de aguapé tratadas com baixas concentrações de ácido giberélico desenvolveram folhas sem flutuadores, além de um acentuado crescimento dos estolões.

Pelo contrário, no tratamento com a cinetina nenhum efeito nas folhas pode ser observado.

Porém, quando o ácido giberélico e a cinetina foram adicionados ao mesmo tratamento, ocorreu uma inibição maior na formação dos flutuadores que no tratamento somente com o ácido giberélico, sugerindo que a cinetina tem efeito no alongamento mas apenas na presença do ácido giberélico.

Os bioensaios realizados com extratos de raízes de plantas com folhas alongadas e folhas flutuantes de aguapé, para detectar giberelinas e citocininas, baseados na inibição e promoção da síntese de amarantina em plântulas de *Amaranthus* sp, revelaram zonas de inibição para as giberelinas e zonas de promoção para as citocininas apenas nas folhas alongadas, o que indica a existência de substâncias com atividade giberelínica e citocinínica nas raízes dessas folhas. Nas raízes das folhas flutuantes nenhuma atividade giberelínica ou citocinínica foi detectada significativamente.

Esses resultados sugerem que nas raízes de folhas alongadas o conteúdo de substâncias giberelínicas e citocinínicas é maior do que nas raízes de folhas flutuantes.

VIII. LISTA DE ABREVIATURAS

C.E.	- Comprimento dos Estolões
Nº.P.F.	- Número de Plantas Filhas
P.F.E.	- Peso Fresco dos Estolões
P.F.P.A.	- Peso Fresco da Parte Aérea
P.F.R.	- Peso Fresco das Raízes
P.S.E.	- Peso Seco dos Estolões
P.S.P.A.	- Peso Seco da Parte Aérea
P.S.R.	- Peso Seco das Raízes

IX. LITERATURA CITADA

- ABDALLA, A.A. 1967. Effect of temperature and photoperiod on bulbing of the common onion (*Allium cepa* L.) under arid tropical conditions of the Sudan. *Exp. Agric.*, 3:137-142.
- BHANJA, A. e SIRCAR, S.M. 1966. Gibberellins from the root of water hyacinth. *Science and Culture*, 32: 371-372.
- BORESCH, K. 1912. Die Gestalt der Blattstiele der *Eichhornia crassipes* (MART.) SOLMS in ihrer Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren. *Flora*, 104: 296-308.
- BRADFORD, K.J. e DILLEY, D.R. 1978. Effects of root anaerobiosis on ethylene production, epinasty, and growth of tomato plants. *Plant Physiol.*, 61: 506-509.
- ELLIOTT, D.C. 1979a. Ionic regulation for cytokinin-dependent betacyanin synthesis in *Amaranthus* seedlings. *Plant Physiol.*, 63: 264-268.
- ELLIOTT, D.C. 1979b. Analysis of variability in the *Amaranthus* bioassay for cytokinins. Effects of water stress on benziladenine and fusicoccin-dependent responses. *Plant Physiol.*, 63: 269-273.

ELLIOTT, D.C. 1979c. Analysis of variability in the *Amaranthus* betacyanin assay for cytokinins. Effects of "aging" excised cotyledons. *Plant Physiol.*, 63: 274-276.

ELLIOTT, D.C. 1979d. Temperature-dependent expression of betacyanin synthesis in *Amaranthus* seedlings. *Plant Physiol.*, 63: 277-279.

GHERARDI, E. e VÁLIO, I.F.M. 1976. Occurrence of promoting and inhibitory substances in the seed arils of *Carica papaya* L. *J. Hortic. Sci.*, 51: 1-14.

HERATH, H.M.W. e ORWROD, D.P. 1979. Effects of temperature and photoperiod on winged beans. *Ann. Bot.*, 43: 729-736.

JACKSON, M.B.; GALES, J.K. e CAMPBELL, D.J. 1978. Effect of waterlogged soil conditions on the production of ethylene and on water relationship in tomato plants. *J. Exp. Bot.*, 29: 183-193.

KAWASE, M. 1978. Anaerobic elevation of ethylene concentration in waterlogged plants. *Am. J. Bot.*, 65: 736-740.

KINSMAN, L.T.; PINFIELD, N.J. e STOBART, A.K. 1975a. A gibberellin bioassay based on betacyanin production in *Amaranthus caudatus* seedlings. *Planta*, 127: 149-152.

KINSMAN, L.T.; PINFIELD, N.J. e STOBART, A.K. 1975b. The hormonal control of amaranthin synthesis in *Amaranthus caudatus* seedlings. *Planta*, 127: 207-212.

LETHAM, D.S. 1967. Chemistry and physiology of kinetin-like compounds. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 18: 349-364.

OLIVE, E. W. 1894. Contributions to the histology of the Pontederiaceae. *Bot. Gaz.*, 19: 178-184.

PENFOUND, W.T. e EARLE, T.T. 1948. The biology of the water hyacinth. *Ecological Monographs*, 18: 447-472.

PIETERSE, A.H.; ARIS, J.J.A.M. e BUTTER, M.E. 1976. Inhibition of float formation in water hyacinth by gibberellic acid. *Nature*, 260: 423-424.

SALISBURY, F.B. e ROSS, C. 1969. *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing, Inc., Belmont, California. pp. 747.

SIRCAR, S.M. e KUNDU, M. 1960. Growth regulating properties of the root extract of water hyacinth (*Eichhornia speciosa* Kunth). *Physiol. Plant.*, 13: 56-63.

SNEDECOR, G.M. e COCHRAM, W.G. 1967. Statistical methods. Ed. 6
Iowa State Univ. Press, Ames. pp. 593.

STEER, B.T. 1981. The bulbing response to daylength and temperatures of some Australasian cultivars of onion. Amsterdam J. Res., 31: 511-518.

STOBART, A.K.; PINFIELD, N.J. e KINSMAN, L.T. 1970. The effects of hormones and inhibitors on amaranthin synthesis in seedling of *Amaranthus tricolor*. Planta, 94: 152-155.