

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pela
candidata Lilian Beatriz Penteado Zaidan e aprovada pela
Comissão Julgadora.

São Paulo, 30 de junho de 1987

Louís M. C. Zietz

LILIAN BEATRIZ PENTEADO ZAIDAN

EFEITOS DO FOTOPERÍODO NO CRESCIMENTO,
FLORAÇÃO E CONTEÚDO DE CARBOIDRATOS EM
HYPTIS BREVIPES POIT. (LABIATAE)

CAMPINAS

1987

LILIAN BEATRIZ PENTEADO ZAIDAN

EFEITOS DO FOTOPERÍODO NO CRESCIMENTO, FLORAÇÃO E CONTEÚDO
DE CARBOIDRATOS EM *HYPTIS BREVIPES* POIT. (LABIATAE)

Tese apresentada ao Instituto
de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas para
obtenção do título de DOUTOR
em Ciências.

Orientador: Sonia Machado de Campos Dietrich

CAMPINAS

1987

"As capacidades intelectuais devem determinar em grande parte o que o cientista é capaz de fazer, mas a sua motivação e suas oportunidades de ambiente ajudam a determinar o que ele fará."

Guilford

À minha mãe,
que sempre incentivou meus estudos.

Ao Luiz,
pelo amor, compreensão e apoio.

Aos meus queridos André, Elena e Marta,
pelos momentos felizes que compartilhamos.

AGRADECIMENTOS

À Dr.^a Sonia Machado de Campos Dietrich, orientadora desse trabalho, que nesses anos de convivência muito me ensinou, contribuindo grandemente para o meu crescimento científico e intelectual, por seu constante entusiasmo e pelas oportunidades oferecidas, o meu sincero agradecimento.

Ao Dr. Gil M. Felipe, a quem devo meus primeiros conhecimentos de Fisiologia Vegetal, pela amizade e incentivo ao longo da minha carreira e, em especial durante a realização desse trabalho, dando sugestões e auxiliando na discussão dos resultados.

Ao Professor W.W. Schwabe, que com seu entusiasmo contagiante pela fisiologia da floração acompanhou com interesse o desenvolvimento desse trabalho e ensinou-me o valor das coisas simples.

À Dr.^a Walkyria Rossi Monteiro, pelo inestimável auxílio durante a elaboração e a interpretação das análises estruturais e histoquímicas, colocando à minha disposição o seu conhecimento e a sua amizade.

Aos Professores Dr. Ivany F.M. Válio e Dr. Ladaslav Sodek, pelas sugestões feitas por ocasião da pré-banca.

Aos amigos da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, por tornarem agradável e produtivo o nosso ambiente de trabalho e, em especial, à Rita de Cássia L.F. Ribeiro e à Maria Angela Machado de Carvalho, pelas sugestões dadas.

Ao Nelson Bomtempi Jr., por auxílios técni
cos na confecção das lâminas para os estudos anatômicos e
histoquímicos.

Ao Instituto de Botânica de São Paulo, pelas
facilidades oferecidas, em especial aos funcionários das Se
ções de Publicações e de Ilustração Botânica e do Setor de
Fotografia, que com sua boa vontade e eficiência contribuí
ram para a forma final desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Cien
tífico e Tecnológico e ao Conselho Britânico, pelo auxílio
financeiro que permitiu minha estadia no Departamento de
Horticultura do Wye College, onde parte desse trabalho foi
realizado.

À Ana Maria Fonseca De Lorenzi, pela datilo
grafia caprichosa e eficiente.

ÍNDICE GERAL

	Página
I. INTRODUÇÃO	1
1. Histórico dos estudos de floração	2
2. Efeitos do fotoperíodo em plantas	4
2.1. Germinação	4
2.2. Crescimento vegetativo	5
2.3. Enraizamento	7
2.4. Formação e desenvolvimento de órgãos de reserva	8
2.5. Senescência	8
2.6. Abscisão e Dormência	9
2.7. Floração	9
2.8. Desenvolvimento da flor e expressão se xual	12
2.9. Alterações metabólicas	12
3. Estudos sobre fotoperiodismo no Brasil	14
II. OBJETIVOS	29
III. MATERIAL E MÉTODOS	30
Material vegetal	30
Métodos	30
1. Cultivo das plantas	30
2. Cultivo das plantas a partir de sementes ...	31
3. Cultivo de plantas por estacas	32
4. Tratamentos fotoperiódicos	32
4.1. Fotoperíodo de oito horas	32
4.2. Outros fotoperíodos	33
4.3. Dias longos intercalados numa série de dias curtos	33

5.	Controle de temperatura	34
6.	Análise do crescimento vegetativo	34
7.	Análise da floração	35
7.1.	Porcentagem de floração	36
7.2.	Número de inflorescências	36
7.3.	Número de nós com inflorescências	36
7.4.	Desenvolvimento das inflorescências ..	36
7.4.1.	Índice floral	36
7.4.2.	Análise anatômica e histoquímica	37
8.	Aplicação de reguladores de crescimento	38
9.	Análise dos carboidratos	39
9.1.	Coleta das amostras	39
9.2.	Extração de açúcares solúveis e amido .	40
9.3.	Quantificação dos açúcares solúveis e amido	40
9.4.	Cromatografia e densitometria dos açúcares solúveis	40
9.5.	Análise do componente não identificado presente nos extratos foliares	42
10.	Análise do grau de abertura estomática	43
11.	Análise estatística	44
IV.	RESULTADOS	45
1.	Efeito do fotoperíodo e da temperatura no crescimento	45
1.1.	Altura das plantas	45
1.2.	Número de nós	56
1.3.	Comprimento dos ramos laterais	56
1.4.	Área foliar	62
2.	Efeito do fotoperíodo e da temperatura na floração	64
2.1.	Fotoperíodo crítico	64
2.2.	Aspectos morfológicos externos do desenvolvimento da inflorescência	67

2.3. Aspectos anatômicos e histoquímicos do desenvolvimento das inflorescências ..	72
2.4. Efeito do número de ciclos indutores e da temperatura	79
2.5. Maturidade para floração	89
2.6. Efeito de dias longos	91
2.7. Floração em estacas	94
2.8. Efeito de reguladores de crescimento .	94
3. Variação durante 24 horas nos níveis de açúcares solúveis e amido em folhas de plantas mantidas sob condições de dias curtos e de luminosidade contínua	97
3.1. Análise quantitativa	97
3.2. Análise dos açúcares	99
3.3. Características do composto não identificado, presente nos extratos foliares	103
3.4. Abertura estomática	105
V. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	107
VI. RESUMO	128
VII. BIBLIOGRAFIA	131

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Inflorescências de <i>Hyptis brevipes</i>	27
Figura 2. Distribuição geográfica de <i>H. brevipes</i> no Brasil	28
Figura 3. Fluxograma da extração de carboidratos so- lúveis e amido	41
Figura 4. Efeito da temperatura no crescimento em altura de plantas de <i>H. brevipes</i> sob três temperaturas	46
Figura 5. Efeito principal do número de dias curtos no crescimento em altura de plantas de <i>H.</i> <i>brevipes</i> , submetidas a 0, 5, 10, 15 e 20 dias curtos	48
Figura 6. Crescimento em altura de plantas de <i>H.</i> <i>brevipes</i> em 3 temperaturas (20°C, 25°C e 30°C) e 4 regimes fotoperiódicos	51
Figura 7. Crescimento em altura de plantas de <i>H.</i> <i>brevipes</i> em 4 fotoperíodos (11, 12, 13 e 14 horas) e 3 temperaturas	52
Figura 8. Efeito da temperatura (A) e do número de dias curtos associado à temperatura (B) no número médio de nós formados após o início do tratamento em plantas de <i>H. bre</i> <i>vipes</i>	57
Figura 9. Comprimento médio dos ramos laterais de plantas de <i>H. brevipes</i> , que permaneceram por 10, 20 e 30 dias em fotoperíodo de 8 horas, às temperaturas de 15°C e 25°C ...	58
Figura 10. Efeito da temperatura e do número de dias curtos no comprimento dos ramos laterais do 5º nó de plantas de <i>H. brevipes</i>	60

Figura 11.	Efeito da intercalação de diferentes números de dias longos na altura e no comprimento dos ramos laterais localizados em diferentes nós das plantas de <i>H. brevipes</i> submetidas a um total de 24 dias curtos .	61
Figura 12.	Floração em <i>H. brevipes</i> - determinação do fotoperíodo crítico	65
Figura 13.	Número mínimo de nós necessários para o início da floração em <i>H. brevipes</i> , nos fotoperíodos de 8h, 10h, 12h, 13h e 14h ...	66
Figura 14.	Desenvolvimento da inflorescência de <i>H. brevipes</i>	70
Figura 15.	Cortes longitudinais medianos das gemas axilares e apicais de plantas de <i>H. brevipes</i> . Coloração: safranina : "fast-green"	73
Figura 16.	Cortes longitudinais medianos das gemas axilares e apicais de plantas de <i>H. brevipes</i> . Teste histoquímico "PAS", para carboidrato total	74
Figura 17.	Cortes longitudinais medianos das gemas axilares e apicais de plantas de <i>H. brevipes</i> . Teste histoquímico utilizando "aniline blue-black", para proteína total ...	75
Figura 18.	Cortes longitudinais medianos das gemas axilares e apicais de plantas de <i>H. brevipes</i> . Teste histoquímico utilizando "Azure B", para ácidos nucleicos	76
Figura 19.	Floração em <i>H. brevipes</i> - efeito da temperatura e do número de ciclos indutores no número de inflorescências por plantas.	81
Figura 20.	Floração em <i>H. brevipes</i> - efeito da temperatura e do número de ciclos indutores no número de nós do eixo principal que apresentaram inflorescências	83

Figura 21.	Efeito do número de ciclos indutores no total de nós com inflorescências de <i>H. brevipes</i>	84
Figura 22.	Efeito do número de ciclos indutores e da temperatura no desenvolvimento da inflorescência de <i>H. brevipes</i>	85
Figura 23.	Efeito inibidor de dias longos no desenvolvimento da inflorescência de <i>H. brevipes</i>	93
Figura 24.	Conteúdo de carboidratos em folhas de <i>H. brevipes</i> sob duas condições fotoperiódicas, durante 24 horas	98
Figura 25.	Densitogramas dos cromatogramas de carboidratos de folhas de <i>H. brevipes</i> em dias curtos e luz contínua	101
Figura 26.	Proporção relativa das intensidades das manchas de oligossacarídeos/monossacarídeos dos cromatogramas de extratos foliares de <i>H. brevipes</i> em dias curtos e luz contínua, durante 24 horas	104
Figura 27.	Abertura estomática em folhas de <i>H. brevipes</i> sob duas condições fotoperiódicas: luz contínua e dias curtos	106

ÍNDICE DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Interação entre temperatura e número de dias curtos na altura de plantas de <i>H. brevipes</i>	49
Tabela 2.	Velocidade de crescimento (b) de plantas de <i>H. brevipes</i> (cm.dia ⁻¹) em três temperaturas e quatro regimes fotoperiódicos	54
Tabela 3.	Interação entre o efeito da temperatura e do fotoperíodo no crescimento (cm) de plantas de <i>H. brevipes</i>	55
Tabela 4.	Efeito da temperatura e do número de dias curtos na área foliar (cm ²) de plantas de <i>H. brevipes</i>	63
Tabela 5.	Efeito da temperatura na determinação do fotoperíodo crítico para floração em <i>H. brevipes</i>	68
Tabela 6.	Efeito da temperatura e do fotoperíodo no número médio de inflorescências em <i>H. brevipes</i>	69
Tabela 7.	Floração de plantas de <i>H. brevipes</i> submetidas a diferentes números de ciclos indutores, em duas temperaturas	80
Tabela 8.	Efeito do número de dias curtos no desenvolvimento de inflorescência de <i>H. brevipes</i> , à temperatura de 20°C	86
Tabela 9.	Efeito do número de dias curtos no desenvolvimento da inflorescência de <i>H. brevipes</i> , à temperatura de 25°C	87

Tabela 10.	Efeito do número de dias curtos no desenvolvimento da inflorescência de <i>H. brevipes</i> , à temperatura de 30°C	88
Tabela 11.	Número mínimo de pares de folhas necessários para o aparecimento de botões florais em <i>H. brevipes</i>	90
Tabela 12.	Efeito de diferentes números de dias longos de 20 horas intercalados num total de 24 dias curtos, à temperatura de 25°C, na floração de <i>H. brevipes</i>	92
Tabela 13.	Floração em estacas enraizadas de <i>H. brevipes</i>	95
Tabela 14.	Efeito de reguladores de crescimento na floração (índice floral) de <i>H. brevipes</i> .	96
Tabela 15.	Identificação dos carboidratos de folhas de <i>H. brevipes</i> através de seus Rgs, em 3 solventes	100
Tabela 16.	Proporção relativa das intensidades das manchas dos carboidratos presentes nas folhas de <i>H. brevipes</i> , em condições de dias curtos e sob luz contínua, durante 24 horas	102

A ação do fotoperiodismo se faz sentir através de diferentes manifestações nos organismos eucarióticos. Nos animais, são conhecidos esses efeitos nos processos de desenvolvimento reprodutivo de artrópodes, peixes, répteis, aves e mamíferos, e em outras adaptações sazonais, como a hibernação dos mamíferos, as diferenças de pigmentação e a migração de peixes e aves. Em plantas, vários processos de crescimento e desenvolvimento são influenciados pelo comprimento relativo do dia e da noite.

VINCE-PRUE (1975) e SALISBURY (1981) enfatizam a importância do fotoperíodo nos ecossistemas e as vantagens adaptativas que confere aos diferentes organismos: 1) prevenindo ou evitando efeitos adversos de determinada condição desfavorável; 2) permitindo a ocupação de um nicho ecológico no espaço e no tempo; 3) facilitando a fecundação cruzada (e assim garantindo a perpetuação das espécies e o aparecimento de novos genótipos), através da sincronização da floração das espécies de áreas próximas.

1. HISTÓRICO DOS ESTUDOS DE FLORAÇÃO

São conhecidos ritos antigos de numerosos grupos étnicos comemorando o solstício de verão, ou a chegada da primavera mas, apesar do homem sempre ter convivido com as alterações provocadas pelo fotoperíodo ao longo do ano, parece estranho que tanto tempo tenha se passado antes da elucidação desses fenômenos. Somente na metade do século passado foi proposto ser a distribuição natural das plantas em parte provocada pelas diferenças de latitude e mais 70 anos se passaram antes da publicação das primeiras experiências críticas sobre o assunto (VINCE-PRUE, 1975). A invenção da lâmpada incandescente por Edison em 1879 contribuiu bastante para a elucidação do problema, tendo sido feitas tentativas de acelerar a floração de plantas de interesse hortícola, prolongando-se o tempo de exposição à luz durante os meses de inverno. Várias dessas tentativas foram positivas porém, nesses experimentos, os efeitos da fotossíntese não puderam ser excluídos.

O primeiro autor a afirmar ser o comprimento do dia o fator controlador da floração foi o francês Julien Tournois (EVANS, 1969a). Estudando floração e sexualidade em cânhamo e lúpulo, verificou ocorrer floração precoce quando as plantas eram cultivadas no inverno, apesar do pequeno crescimento que apresentavam. Em experimentos subsequentes, eliminou a temperatura, a umidade e a origem das sementes como possíveis fatores causais, concluindo que a floração precoce por ele observada era causada não tanto pela diminuição dos dias, mas pelo aumento das noites. O trabalho de Tournois foi interrompido por sua morte prematura durante a Primeira Guerra Mundial.

À mesma época, na Alemanha, investigando a floração de *Sempervivum funkii*, Klebs verificou que não apenas as baixas temperaturas de inverno eram importantes, mas

que o comprimento do dia também estava envolvido, agindo cataliticamente e não como um fator nutricional. Apesar de Klebs ter feito uma análise clara dos resultados obtidos, em termos do que hoje se conhece por vernalização e indução fotoperiódica por dias longos, falhou na interpretação dos dados, sendo incapaz de separar os mecanismos reguladores envolvidos (SCHWABE, 1971).

No entanto, foram Garner e Allard, respectivamente um químico e um naturalista, que concluíram com clareza que o comprimento do dia é o fator mais importante no controle de floração. A publicação dos resultados por eles obtidos sobre floração induzida por dias curtos em *Glycine max* e *Nicotiana tabacum* cv. Maryland Mammoth (GARNER e ALLARD, 1920) deu início a uma série de artigos sobre indução fotoperiódica da floração. Esse artigo tornou-se clássico, não apenas pelas espécies estudadas, pela elegância e simplicidade dos experimentos e pelos tipos de respostas utilizadas para estabelecer a influência da duração do dia no comportamento das plantas, mas também pela profundidade da discussão, que inclui considerações sobre os efeitos do fotoperíodo na distribuição das plantas, na produtividade agrícola, no comportamento das algas e na migração de pássaros. Criaram ainda os termos "fotoperíodo" para a duração do dia e "fotoperiodismo" para a resposta dos organismos à duração relativa do dia e da noite.

Os estudos feitos com quatro plantas de dias curtos - cânhamo, lúpulo, soja e um cultivar de tabaco - foram decisivos na elucidação do papel da duração do dia na indução floral. Nos trabalhos em que foram utilizadas plantas de dias longos, o efeito do fotoperíodo foi confundido com fatores nutricionais, provenientes da fotossíntese que, por acelerarem o crescimento, terminariam provocando a floração (EVANS, 1969a).

Até o momento, foram feitos vários simpósios

e colóquios científicos e publicados livros e numerosas revisões sobre fotoperiodismo, refletindo o grande número de trabalhos nessa área e de pesquisadores interessados em estudar os efeitos desse fator em diferentes processos de crescimento e desenvolvimento de plantas. Dentre essas publicações, podemos citar as de EVANS (1969b, 1971), SCHWABE (1971), VAN DE POL (1972), VINCE-PRUE (1975), HILLMAN (1976), ZEEVAART (1976), SALISBURY (1981), VINCE-PRUE *et al.* (1984). As discussões apresentadas durante o "Colloquium on the Physiology of Flowering" e reunidas numa publicação (ANÔNIMO, 1979), também são de importância relevante.

2. EFEITOS DO FOTOPERÍODO EM PLANTAS

Além da floração, que foi o primeiro e até hoje é o mais estudado dos efeitos do fotoperíodo, existem nas plantas diversos outros processos de crescimento e desenvolvimento influenciados pela duração relativa do dia e da noite.

2.1. Germinação

A germinação de algumas sementes (ISIKAWA, 1954) pode ser afetada pelo fotoperíodo, geralmente dias longos tendo maior efeito promotor que dias curtos. Sementes de *Betula pubescens* (BLACK e WAREING, 1955), a 15°C, apresentaram baixa porcentagem de germinação em condições de dias curtos; essa porcentagem aumentou para 90% quando as sementes foram colocadas em fotoperíodos de 20 horas. Como em outros efeitos fotoperiódicos, a interrupção do período de escuro teve efeito semelhante a dias longos. Nas sementes dessa espécie, a sensibilidade ao fotoperíodo mos

trou ser fortemente dependente da temperatura: a 20°C, um único dia curto de 8 horas provocou germinação em 90% das sementes. BLACK e WAREING (1960), trabalhando com sementes de *Nemophila insignis*, verificaram ocorrer germinação em dias curtos e não em dias longos, a 21-22°C, porém a temperaturas mais baixas, as sementes não responderam ao tratamento fotoperiódico.

O fotoperíodo ao qual plantas-mães foram expostas durante o desenvolvimento das sementes pode influenciar fortemente a germinação em algumas espécies de *Chenopodium* (POURRAT e JACQUES, 1975; KARSSSEN, 1970 *in* VINCE-PRUE, 1975) e parece estar relacionado tanto com fatores mecânicos (a testa da semente é mais grossa quando se desenvolve sob dias longos) como químicos (nível mais alto de inibidores no desenvolvimento das sementes sob dias longos).

2.2. Crescimento vegetativo

O efeito do fotoperíodo no crescimento vegetativo tem sido estudado apenas como um complemento em estudos de indução fotoperiódica de floração ou tuberização (BUTTROSE e SEDGLEY, 1978; EWING e WAREING, 1978). Esse tipo de abordagem leva a alguns problemas: nesses dois processos ocorrem modificações profundas dos meristemas, acarretando diferenças na forma da planta; por outro lado, o crescimento de uma planta depende de uma série de outros fatores, além do fotoperíodo, tais como temperatura, teor de umidade, tipo de solo, etc.

De maneira geral, caules e ramos crescem mais em dias longos, resultando plantas altas e pouco densas, conforme já verificado por Garner e Allard nas suas observações iniciais sobre fotoperiodismo. Exemplos de tal comportamento são conhecidos em coníferas, monocotiledôneas

e nas dicotiledôneas herbáceas e lenhosas, geralmente associados a temperaturas elevadas. TINUS (1976) apresentou, durante um congresso de fisiologia vegetal, a interação entre fotoperíodo e CO_2 , demonstrando que dias longos e alta concentração de CO_2 agem sinergisticamente no aumento do comprimento e da espessura do caule e no número de folhas. Efeito semelhante do CO_2 associado a dias longos foi verificado por HICKLETON e JOLLIFFE (1980) no alongamento do caule e formação de folhas em *Pharbitis nil*.

Existem também referências de inibição de crescimento por dias longos. HEINS e WILKINS (1979) mostraram ocorrer menor crescimento em *Alstroemeria* sob dias longos, provavelmente por ocorrer indução floral nessas condições, sendo os ramos florais menores que os vegetativos. Em *Impatiens balsamina*, SAWHNEY et al. (1978) mostraram que dias longos induzem o aparecimento de caules menores e com menos flores.

Maior área foliar e aumento no número de folhas foram vistos em soja, após exposição a dias longos (SATO, 1979 in SALISBURY, 1981). HEDLEY e HARVEY (1975) observaram maior área foliar em *Antirrhinum majus* tanto sob dias longos, como quando a noite longa foi interrompida por um período de luz, demonstrando ser esse efeito uma resposta tipicamente fotoperiódica. VINCE-PRUE (1975) relacionou 23 espécies que apresentam folhas maiores em dias longos e apenas três, cujas folhas crescem mais em dias curtos.

Alterações no formato das folhas também podem ocorrer em resposta ao tratamento fotoperiódico. Um caso bem estudado é o de *Cannabis sativa* (HESLOP-HARRISON e HESLOP-HARRISON, 1969), onde a forma das folhas é alterada à época da transição do estágio vegetativo para o floral; apesar de tais alterações no eixo principal ocorrerem com frequência e serem talvez resultantes de alterações meristemáticas, nos ramos laterais parece haver um efeito direto

do fotoperíodo, independente da indução floral. Modificações mais drásticas do formato das folhas são vistas no gênero *Allium*, onde dias longos induzem o aparecimento de folhas escamiformes, com ausência de lâmina foliar e aumento do crescimento lateral da base da folha.

O fotoperíodo também pode alterar o grau de suculência de folhas, conforme visto em *Kalanchoe blossfeldiana* (SCHWABE, 1969) onde, em dias longos, as folhas se apresentam finas e flexíveis, sendo mais espessas, suculentas e rígidas em dias curtos; quando plantas dessa espécie são transferidas de dias longos para dias curtos, mesmo as folhas plenamente desenvolvidas tornam-se mais suculentas, devido ao aumento celular provocado pelo maior conteúdo de água, chegando a apresentar até três vezes o tamanho original.

2.3. Enraizamento

É bem conhecido o efeito do fotoperíodo na capacidade de enraizamento das estacas e folhas de diversas plantas (HEIDE, 1965), apesar de ser mais importante o regime fotoperiódico em que se encontrava a planta-mãe. Em *Rhododendron*, BARBA e POKORNY (1975) mostraram que estacas caulinares enraizam melhor quando esses ramos foram crescidos sob dias longos. No que diz respeito ao enraizamento propriamente dito, dias curtos ou longos não tiveram influência significativa sobre o processo.

2.4. Formação e desenvolvimento de órgãos de reserva

Como muitas das estruturas de reserva são exploradas comercialmente, os fatores que influenciam seu desenvolvimento têm sido bem estudados. Em certas espécies, a formação de órgãos de reserva depende de ou é acelerada por exposição das folhas a determinados fotoperíodos e, com exceção da formação de bulbos em *Allium*, a indução de órgãos de reserva é favorecida por dias curtos. Muitos cultivos de batata requerem dias curtos para que a tuberização seja iniciada, porém outros têm exigências diferentes, com características obtidas por manipulação genética, a fim de atender a demanda de consumo nas diferentes latitudes em que são cultivados e em todas as épocas do ano. O órgão que recebe o estímulo fotoperiódico para tuberização é a folha (conforme visto originalmente por ZIMMERMAN e HITCHCOCK, 1936 e, mais recentemente, por EWING e WAREING, 1978), sendo essa resposta tipicamente fotoperiódica, uma vez que a interrupção da noite é efetiva na inibição do processo (MURTI e BANERJEE, 1977, in SALISBURY, 1981).

2.5. Senescência

Plantas anuais germinam, florescem, senescem e morrem no espaço aproximado de um ano, sendo frequente que as mesmas condições fotoperiódicas que promovem a floração, o desenvolvimento da flor e das sementes levem também à senescência. Há, porém, exceções, como a soja, que floresce em dias curtos e apresenta sintomas de senescência após exposição a dias longos e alta intensidade luminosa (SALISBURY, 1981). Em *Kleinia articulata* (Compositae), SCHWABE (1970a) verificou em experimentos com folhas destacadas e presas à planta que a senescência é determinada pe

lo comprimento do dia (dias longos) ao qual as folhas foram expostas durante o início do seu crescimento; esse efeito permanece nas folhas e leva-as à morte prematura, mesmo se expostas posteriormente a dias curtos.

2.6. Abscisão e Dormência

Nas regiões temperadas, é bem conhecido o efeito do encurtamento dos dias no outono causando a abscisão das folhas de plantas lenhosas decíduas. Frequentemente a abscisão está ligada à parada de crescimento das gemas e à indução da dormência. No salgueiro, dias curtos induzem dormência, apesar de não ocorrerem diferenças no conteúdo de ácido abscísico nas gemas (ALVIM *et al.*, 1978). Há espécies que entram em dormência em resposta a dias longos, como aquelas originárias da região mediterrânea, do Oriente Médio e da África do Sul, onde verões quentes e secos impedem o crescimento vegetativo. Um exemplo dessas espécies é *Kleinia articulata* (SCHWABE, 1970b), que apresenta dormência sob dias longos, quando cessam tanto a diferenciação como a expansão foliares; sob dias curtos, o crescimento é retomado rapidamente.

2.7. Floração

De todos os processos regulados pelo fotoperíodo, o mais estudado é a floração. Em 1920, Garner e Allard citaram a ocorrência de três tipos básicos de resposta: plantas de dias longos, plantas de dias curtos e plantas de dias neutros. Até hoje essa classificação é mantida, porém o aparecimento de publicações associando os efeitos da temperatura aos do fotoperíodo levou a outros tipos

de classificação: VINCE-PRUE (1975) encontrou 41 classes diferentes de resposta, sendo esse número ampliado para 48 por SALISBURY (1981). Matematicamente, podem ser encontradas 777 respostas possíveis associando, entre outras: plantas de dias curtos qualitativas ou quantitativas a baixas ou a altas temperaturas, plantas de dias longos qualitativas ou quantitativas a baixas ou a altas temperaturas, plantas de dias longos-curtos e de dias curtos-longos, variando-se as temperaturas de cada condição, e assim por diante.

Tanto em plantas de dias curtos como de dias longos, a energia luminosa responsável pela regulação fotoperiódica da floração é absorvida pelo fitocromo localizado nas folhas. O *locus* específico de percepção na folha não é conhecido, havendo porém evidências de que a epiderme estaria envolvida (SCHWABE, 1968). Exposição de plantas a durações apropriadas do dia leva, então, à formação de uma substância promotora de floração, com características de um hormônio, translocável na planta. Plantas de dias neutros já possuem tal substância, independentemente do tratamento fotoperiódico, e ela pode ser transmitida, através de enxertia, entre plantas de mesma espécie, de mesmo gênero, de mesma família ou entre plantas taxonomicamente distantes e ainda entre plantas de diferente comportamento fotoperiódico, sendo que a única limitação é o enxerto ser bem sucedido (LANG, 1984).

Estudos de translocação do estímulo floral da folha induzida até o meristema receptor indicam o floema como a via preferencial de condução, coincidindo a velocidade de transporte com a dos fotossintetizados (LANG, 1965).

O número de ciclos indutores de floração, nas plantas até hoje estudadas, varia de um a muitos, não havendo relação com o tipo de resposta da planta. Espécies induzidas por um único fotociclo são as mais estudadas, devido à facilidade experimental e à rapidez da resposta; en

tre elas, citamos *Xanthium strumarium*, *Pharbitis nil*, *Chenopodium polyspermum*, *C. rubrum*, *Sinapis alba*, *Lemna paucicostata* e *L. perpusilla* 6746 (BERNIER *et al.*, 1981).

Outra questão que vem sendo objeto de numerosos estudos e hipóteses é o problema da natureza do estímulo floral. O conceito original de Chailakhyan de que o florígeno seria constituído por uma única substância (CHAILAKHYAN, 1968) foi posteriormente substituído pelo mesmo autor por uma hipótese que envolve duas substâncias: antesina e giberelina, a primeira sendo o fator limitante para plantas de dias curtos e a segunda, para plantas de dias longos (CHAILAKHYAN, 1975). Existem, entretanto, evidências de que o sistema antesina-giberelina não seria o responsável pela floração das plantas com diferentes tipos de resposta ao fotoperíodo; giberelinas não seriam substâncias indutoras de floração, mas agiriam indiretamente no processo produzindo apenas um estímulo floral (VAN DE POL, 1972).

Até o momento, não se conhece qualquer bioensaio específico para a substância estimuladora da floração. Essa situação cria um círculo vicioso em torno do problema, pois uma substância ativa na indução da floração não pode ser ensaiada devido à falta de um bioteste apropriado e a seleção de plantas para um bio-ensaio requer uma boa purificação da substância a ser analisada. Sabe-se que numerosas substâncias podem provocar floração sob condições não indutoras (CLELAND, 1975), em várias mas não em todas as plantas e os resultados são de difícil reproducibilidade. Algumas substâncias efetivas seriam: ácido salicílico, ácido benzóico e esteróides (ZEEVAART, 1976). Tendo como base evidências experimentais, algumas características químicas do florígeno seriam: baixo peso molecular, solubilidade em água, transporte através de tecidos vivos, acidez, instabilidade fora do tecido vegetal e capacidade de rápida conversão em outra(s) substância(s).

Foi proposto um modelo para o controle da iniciação floral em plantas de dias curtos e de dias longos, no qual um inibidor de floração bloquearia a reação pela qual ocorreria a síntese do estímulo floral. Esse modelo matemático, testado em computador, seria viável para muitas respostas encontradas (SCHWABE e WIMBLE, 1976). Mais recentemente, CHARLES-EDWARDS (1983) discutiu também a presença de inibidores endógenos de floração, propondo um modelo baseado na presença ou ausência de substâncias químicas já identificadas em tecidos vegetais.

2.8. Desenvolvimento da flor e expressão sexual

O desenvolvimento da flor pode ou não ser dependente do fotoperíodo, não sendo obrigatório que o fotoperíodo indutor de floração seja o mesmo para o desenvolvimento da flor; essa última situação é a mais comumente encontrada (VINCE-PRUE, 1975). O controle da expressão sexual em flores também é influenciado pelo fotoperíodo, não havendo, entretanto, prevalência de estruturas masculinas ou femininas sob tratamento de dias longos ou curtos. Em *Xanthium strumarium*, foi visto que vários dias curtos favorecem o aparecimento de inflorescências pistiladas, enquanto que aplicações de ácido giberélico levaram ao aparecimento de inflorescências masculinas (LEONARD *et al.*, 1981).

2.9. Alterações metabólicas

São encontradas diferenças nos constituintes de plantas submetidas a tratamentos indutores e não indutores de floração. SCHWABE (1971) apresenta uma tabela contendo exemplos isolados de análises químicas quantitativas

feitas em plantas submetidas a diferentes fotoperíodos, onde constam alterações nos níveis de carboidratos, proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, pigmentos, enzimas, hormônios, vitaminas, etc. Tais resultados são porém insuficientes para comprovar que algum desses metabólitos estaria direta ou indiretamente envolvido no processo de indução floral, via fotoperíodo.

Mais recentemente, IRELAND e SCHWABE (1982a, 1982b) reviram o papel da fotossíntese na floração de duas plantas de dias curtos, *Kalanchoe blossfeldiana* e *Xanthium pennsylvanicum*. Esses autores verificaram o efeito da remoção do CO_2 durante a indução floral e tentaram substituí-lo por diversos fotossintetizados e metabólitos dos ciclos de Krebs e do glioxilato, sem resultados positivos. Fornecimento de AMP, ATP e numerosos aminoácidos também foram inefetivos na indução floral em atmosfera livre de CO_2 . Inibidores da síntese de clorofila, da fosforilação oxidativa, da plastoquinona e do transporte de elétrons tiveram efeito inibidor tanto na fotossíntese como na floração das duas espécies estudadas. Os autores concluíram que, para que a indução floral seja completada, há necessidade de um produto proveniente da fotossíntese ou de um intermediário do sistema de transporte de elétrons, provavelmente do fotossistema II.

A chegada do estímulo floral ao ápice resulta em alterações morfológicas para a produção de órgãos florais. A de-repressão de certos genes envolvidos com o processo da floração leva à formação de novos RNAs mensageiros e, conseqüentemente, de novas proteínas. Estudos nesse sentido foram feitos aplicando-se antibióticos específicos na inibição de síntese de RNA e de proteínas e fazendo-se observações histoquímicas no ápice. Observou-se que tanto síntese de RNA como de proteínas no ápice são necessárias para concretizar a indução floral iniciada nas folhas pela ação da luz (BERNIER, 1971).

3. ESTUDOS SOBRE FOTOPERIODISMO NO BRASIL

As diferenças no comprimento relativo do dia e da noite, assim como alterações de temperatura ao longo do ano são bastante evidentes nas regiões de clima temperado. Nas zonas tropicais, como no Brasil, as alternâncias fotoperiódicas são menos patentes, assim como as temperaturas registradas ao longo de um ano.

No clima tropical, o regime das chuvas parece exercer maior controle sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas do que os outros dois fatores acima mencionados. Em 1960, Alvim sugeriu o termo hidroperiodismo para designar a relação planta-água, na qual a transição do período da seca para umidade tem um papel decisivo no comportamento fisiológico de numerosas espécies nativas (VÁLIO, 1979). COUTINHO (1976) cita o efeito higromorfofogenético das secas, pelo qual o suprimento hídrico deficiente, simulador de um período de seca, provocou a eliminação das partes aéreas das plantas. O retorno a um abastecimento de água, simulando a chegada do período de chuvas, resultou em intenso rebrotamento e floração em espécies do cerrado.

Mais adiante, COUTINHO (1976) prossegue afirmando que "o clima onde predominam nossos cerrados ... se caracteriza por apresentar duas estações perfeitamente distintas: uma seca, que coincide com o inverno, ou com os dias curtos, e outra de chuvas, correspondendo ao verão, ou aos dias longos".

Um levantamento das publicações de autoria de pesquisadores brasileiros, contendo resultados obtidos com plantas de interesse econômico (cultivadas e introduzidas) e com espécies nativas do Brasil ou aqui "domesticadas", mostra haver um certo número de efeitos fotoperiódicos em alguns processos fisiológicos.

FRANCO (1950, *in* ALVIM, 1973) foi o primeiro

a verificar que a iniciação de gemas florais no cafeeiro é induzida por dias curtos. Para ocorrer a ântese, ALVIM (1960) observou haver necessidade de chuva após um período de estresse hídrico. Esses resultados foram de importância significativa para a cultura do café e explicam algumas questões importantes sobre o cultivo dessa espécie. Por exemplo: nas regiões equatoriais não ocorrem alternâncias bem definidas entre épocas de umidade e de seca e havendo o mesmo fotoperíodo ao longo do ano, as plantas de café florescem várias vezes e em qualquer época do ano. Florações repetidas provocam aumento no número de colheitas e, consequentemente, os custos da produção são elevados. No sul do Brasil, usualmente, ocorrem duas ou três floradas no início da estação chuvosa e apenas uma colheita. Essa situação é provocada pelos dias mais longos do verão (fotoperíodo maior que 13 horas) que inibem a iniciação das gemas florais por 3 a 4 meses e por estações bem definidas de chuva e de seca.

Tratamentos com reguladores de crescimento associados a dias longos (18 horas) foram feitos em progênies de café (SONDAHL *et al.*, 1972) a fim de verificar a resposta de diferentes genótipos quanto à taxa de crescimento, peso seco das plantas, área foliar e desenvolvimento de ramos laterais. Os resultados indicaram que o cultivar Catuaí amarelo poderá apresentar maior faixa de adaptação em locais com diferentes comprimentos de dia. Apesar do trabalho citado, por ser uma comunicação em Congresso, não apresentar muitos dados experimentais nem discutir os resultados obtidos, faz-se necessário enfatizar a importância de tais estudos face à adaptação de cultivares com características desejáveis de produção a locais em que as condições ambientais também sejam favoráveis.

Vicia graminea é uma espécie encontrada na América do Sul e cujas sementes possuem uma lectina com a

propriedade de aglutinação específica de eritrócitos humanos do grupo N. LABOURIAU (1969) estudou a propagação dessa espécie, em condições controladas de luz e temperatura, tendo verificado que em temperaturas acima de 14°C , a espécie se comporta como uma planta de dias longos para floração, com fotoperíodo crítico entre 13 e 14 horas, havendo necessidade de 12 fotociclos indutores. Em fotoperíodo curto (8 horas), a floração ocorreu quando a temperatura foi diminuída para 10°C . Esses resultados indicam que *V. graminea* é bem adaptada a climas temperados, dias longos podendo ser substituídos por temperatura baixa na indução da floração, compensando assim o efeito da baixa latitude em relação à altitude e garantindo a propagação da espécie.

A fim de obter plantas para estudos farmacológicos e bioquímicos, VÁLIO e VALLE (1973) observaram a floração de uma variedade de *Cannabis sativa* (planta de dias curtos) proveniente da Tailândia. Os autores verificaram que nessa variedade o fotoperíodo crítico é de 13 horas, ocorrendo a floração a partir do 5º par de folhas pinadas. Em experimentos com estacas enraizadas e floração, obtiveram-se resultados semelhantes aos obtidos com plantas intactas. VALLE *et al.* (1978) observaram que um aumento diário de duas horas de luz (além da luz natural) dobrou o teor médio de tetrahydrocannabinol, mas diminuiu o canabicromeno; o conteúdo de cannabinol, entretanto, não foi alterado pelo fotoperíodo.

Bulbificação em dois cultivares de alho (*Allium sativum*) sob tratamentos fotoperiódicos foi verificada por CARVALHO (1975). Os dois cultivares testados, Amaranthe e Centenário, possuem fotoperíodo crítico menor que 9h, sendo a bulbificação antecipada sob condições de dias mais longos. Dias curtos provocaram crescimento lento dos bulbilhos e favoreceram maior crescimento vegetativo. A relação peso seco dos bulbos / peso seco da parte aérea aumentou

com fotoperíodos mais longos, tendo o cv. Amaranthe apresentado os valores mais elevados. A autora observou também que o aumento do fotoperíodo provocou diminuição do ciclo da cultura e do peso seco dos bulbos à época da colheita. A indução de bulbo em alho requer dias longos, porém a bulbificação e maior crescimento vegetativo processam-se sob dias curtos.

HANDRO (1976) verificou que *Streptocarpus no*
bilis é uma planta de dias curtos, cuja intensidade de floração é diretamente proporcional ao número de ciclos indutores fornecidos. Plantas com apenas os cotilédones podem ser induzidas, sendo necessários apenas dois dias curtos para promover a floração. O fotoperíodo crítico está entre 12:30h e 13h; em plantas induzidas subliminarmente (fotoperíodo de 12h e 12:30h) por 40 dias, foi observado o desenvolvimento de flores casmogâmicas no eixo da inflorescência, juntamente com frutos e flores cleistogâmicas normais. Num trabalho posterior, HANDRO (1977) observou que em discos foliares em meio de cultura adequado, induzidos por dias curtos de 8-10h de luz, ocorreu neo-formação de gemas florais. Em fotoperíodo de 16h, apenas gemas foliares foram produzidas. Mais tarde, HANDRO e MONTEIRO-SCANAVACCA (1978) estudaram anatomicamente o ápice de plantas de *S. nobilis* submetidas a fotoperíodos de 8 horas por 4, 6, 8 e 10 dias, tendo sido acompanhado o desenvolvimento das gemas florais; em fotoperíodo de 13 horas, após 90 dias, foi constatada a formação de gemas florais que, entretanto, não se desenvolveram, permanecendo abortivas.

COSTA *et al.* (1977) comentaram sobre a sensibilidade de cultivares de soja ao fotoperíodo e sua adaptabilidade às condições do Estado de Goiás.

Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni é uma Composta originária do Paraguai, mas que vem sendo encontrada

no Brasil, crescendo naturalmente, na região próxima à fronteira que separa esses dois países. O interesse por essa espécie cresceu muito nos últimos quinze anos, por nela ser encontrada uma substância de sabor extremamente doce, o esteviosídeo. Apesar desse glicosídeo ser conhecido desde 1931, com a proibição da venda dos ciclamatos e sacarina, abriu-se um mercado extremamente atraente para as substâncias adocicadas e não energéticas, em especial as de origem natural. Estudos sobre o efeito do fotoperíodo nessa espécie foram iniciados por VÁLIO e ROCHA (1977), tendo esses autores verificado ser essa espécie de dias curtos para floração, com fotoperíodo crítico entre 13 e 14 horas; dois fotociclos produzem um mínimo de resposta, obtendo-se floração mais abundante quanto mais ciclos indutores são fornecidos; a sensibilidade máxima ao fotoperíodo indutor é atingida quando as plantas possuem 6 pares de folhas. Posteriormente, ZAIDAN *et al.* (1980) verificaram existir pelo menos 3 variedades fisiológicas em *S. rebaudiana*, quanto à floração; esses autores observaram também que em condições de dias longos, além de haver maior produção de folhas, o teor de esteviosídeo nesses órgãos também é maior. METIVIER e VIANA (1979) constataram que sob dias longos de 16 horas, o crescimento vegetativo de *S. rebaudiana* é maior, com aumento do comprimento dos entrenós, da área foliar, da razão de emergência das folhas e do peso seco; do ponto de vista metabólico, dias longos promovem maior teor de açúcares solúveis totais, proteínas e esteviosídeo, tanto em termos relativos como absolutos.

Estudos experimentais feitos por Labouriau, em 1969 (citado em LABOURIAU e COSTA, 1976) permitiram estabelecer que as zonas mais adequadas para o cultivo de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) estariam no Rio Grande do Sul, onde a floração e a produção de óleo essencial de boa qualidade podem ocorrer, visto que a duração do dia (dias long

gos) que proporciona a produção do óleo essencial é a mesma que induz a floração (GRAHLE e HOELTZEL, 1963).

Para provocar tuberização aérea de batatinha (*Solanum tuberosum* L. cv. Aracy), PEREIRA e VÁLIO (1984) verificaram serem necessários 15 fotociclos de dias curtos a mais do que para induzir tubérculos subterrâneos, indicando que, apesar das gemas axilares poderem ser induzidas a tuberizar, os órgãos subterrâneos têm maior sensibilidade na resposta ao tratamento fotoperiódico. A sensibilidade a dias curtos mostrou ser diferente ao longo do caule, uma vez que estacas da região mediana produziram mais cedo e em maior número tubérculos aéreos do que as regiões apical e basal.

MONTEIRO e SHARIF (1985), utilizando fotoperíodos de 8, 18 e 8 horas com interrupção da noite, verificaram que os dois últimos tratamentos prolongaram o crescimento vegetativo de plantas de milho do cultivar estudado, atrasando o alongamento do eixo e a indução floral; por outro lado, promoveram formação de novas folhas e indução de floração no cultivar. As autoras discutem esses resultados em termos de níveis endógenos de giberelinas, que seriam alterados pelo tratamento fotoperiódico, promovendo os efeitos descritos acima.

Outra cultura em que vem sendo estudado o efeito do fotoperíodo e de outro fator ambiental, no caso a temperatura, é a cana-de-açúcar. Num relatório recente sobre as pesquisas desenvolvidas no Instituto Agrônômico de Campinas, PEREIRA (1985) cita que em cana-de-açúcar a floração é indesejável por acarretar perda de açúcares do colmo, diminuindo a produção e determinando menor qualidade do produto. Observando a temperatura em que ocorreu a indução floral, é possível prever a época e a intensidade da floração, uma vez que temperaturas noturnas de 18°C, por 10 noites consecutivas prejudicam a floração.

Com relação a espécies dos cerrados, foram poucos os estudos realizados envolvendo fotoperíodo. Dentre estes, citamos os trabalhos de FELIPPE e GIULIETTI (1971a, 1971b) e de FELIPPE *et al.* (1971a, 1971b, 1971c) com *Poro^ophyllum lanceolatum*. Quanto à germinação dos aquênios, os autores observaram ocorrer maior porcentagem de germinação em condições fotoperiódicas diárias de 8 e de 16 horas do que sob luz fluorescente branca contínua; choques de luz foram mais efetivos na promoção da germinação do que os tratamentos fotoperiódicos fornecidos, dias curtos sendo ligeiramente mais favoráveis que dias longos. Em *P. lanceolatum*, foi verificado que dias longos provocaram maior crescimento vegetativo, que se refletiu no aumento do peso seco, na altura das plantas e no maior crescimento foliar. Ácido giberélico (GA_3), quando fornecido à planta em dias curtos, não substituiu o efeito do fotoperíodo longo nos parâmetros de crescimento selecionados pelos autores. Quanto à floração, *P. lanceolatum* foi classificada como uma planta de dias curtos, com fotoperíodo crítico em torno de 12 horas; a indução floral ocorre após a formação do 4º par de folhas, havendo necessidade de apenas dois fotociclos indutores.

MELHEM (1975) observou o desenvolvimento de plântulas de *Dipterix alata* em solo de mata e de cerrado, sob duas condições fotoperiódicas. Apesar de *D. alata* ser nativa do cerrado, não foram observadas diferenças nos padrões de crescimento das plantas nesses dois tipos de solo. O fotoperíodo longo promoveu crescimento em altura das plantas que, nessas condições, apresentaram também maior número de folhas, com folíolos significativamente maiores.

Estudando o efeito das queimadas na floração de plantas do cerrado, COUTINHO (1976) verificou também o efeito do fotoperíodo em quatro espécies: *Lantana montevidensis*, *Stylosanthes capitata*, *Vernonia grandifolia* e *Wedelia glauca*. Logo após a queima, o comprimento do dia não

teve efeito, uma vez que as quatro espécies floresceram em todos os tratamentos fotoperiódicos. Nos períodos em que essas plantas se mantêm vegetativas e nas fases pós-floral e anterior à próxima queima, os tratamentos fotoperiódicos, aplicados durante seis meses, foram ineficazes na promoção da floração, tendo sido mais importante o efeito da queima da. COUTINHO (1976), entretanto, baseando-se em observações de campo, sugere que certas espécies do cerrado devem ter sua floração controlada pelo fotoperiodismo ou por outro fator ambiental.

Ocimum nudicaule é uma espécie encontrada em campos cerrados e que apresenta diferentes estádios fenológicos ao longo do ano, determinados muito mais por diferenças de temperatura do que pelo fotoperíodo (FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1980).

Bidens brasiliensis, uma planta comumente encontrada no cerrado, foi classificada por ZAIDAN e FELIPPE (1981) como uma espécie estenofotoperiódica, por apresentar floração somente nos fotoperíodos intermediários de 12, 13 e 14 horas, não florescendo em fotoperíodos maiores ou menores do que esses.

São raros os trabalhos feitos com plantas de mata no Brasil. Apesar de muitas espécies tropicais perderem suas folhas na época do inverno, em *Schizolobium parahy*ba (guapuruvu), esse processo não é controlado pelo fotoperíodo (VÁLIO, 1966). Nessa publicação foi mostrado que plantas jovens de 2-3 meses, com as folhas mantidas intactas ou com a retirada total ou parcial das lâminas foliares (tratamento normalmente utilizado para acelerar abscisão) não apresentaram queda de folhas nos tratamentos fotoperiódicos empregados. Plantas com um ano de idade, mesmo mantidas sob luminosidade constante, mostraram abscisão foliar no inverno. O autor propõe um possível envolvimento da temperatura no processo.

MARCONDES-FERREIRA e FELIPPE (1984) não observaram diferenças na germinação de esporos de *Cyathea delgadii* sob diferentes condições fotoperiódicas; resultados semelhantes foram obtidos por ESTEVES e FELIPPE (1985), com esporos de *Trichipteris corcovadensis*, na faixa de regimes fotoperiódicos ensaiados (de 8 a 24h diárias de luz). Os autores verificaram também que os esporos dessas pteridófitas arbóreas são fotoblásticos positivos, ocorrendo melhor germinação sob baixas intensidades luminosas. Como *C. delgadii* e *T. corcovadensis* são espécies de mata, parece que os resultados obtidos experimentalmente são condizentes às condições naturais em que essas plantas se desenvolvem.

Certas espécies invasoras nativas do Brasil ou introduzidas têm sido estudadas quanto aos efeitos do fotoperíodo em diversos aspectos do seu crescimento e desenvolvimento. Uma delas, *Bidens pilosa*, é a que acumula maior número de publicações sobre esse assunto (KIRSZENZAFIT e VÁLIO, 1976, 1977, 1979; FELIPPE, 1978a). Nesses trabalhos, os autores verificaram que, em dias longos, as plantas apresentaram maior crescimento e que, em dias curtos, ocorreram formação e crescimento de ramos laterais. O número de entrenós formados não foi fotoperíodo-dependente, porém a velocidade do processo é acelerada por fotoperíodos mais longos, que também aceleram a emergência e o crescimento das folhas. Em condições de dias curtos, aplicações de reguladores de crescimento, como CCC, GA₃, 2,4-D e MCPA alteraram a forma das folhas. Quanto à floração, KIRSZENZAFIT e FELIPPE (1978) mostraram que *Bidens pilosa* é uma planta de dias curtos, com fotoperíodo crítico em torno de 15 horas. O período indutor mínimo está entre 14 e 18 dias curtos, desde que a planta apresente o 3º par de folhas completamente expandido. A resposta ao fotoperíodo foi dependente da época do ano, provavelmente devido a variações na intensidade luminosa e/ou na temperatura. No fotoperíodo de 8 horas, as

inflorescências apareceram mais cedo, enquanto que no de 15 horas, inflorescências foram observadas apenas nos dois nós mais apicais.

ALEIXO e VÁLIO (1976) observaram que o efeito da luz no crescimento de gemas em tubérculos de *Cyperus rotundus* é dependente da temperatura: acima de 25°C, a luminosidade constante não teve efeito, porém sob temperaturas mais baixas, provocou inibição. O padrão de crescimento das gemas também foi afetado pela luz e pela temperatura: sob luz, houve inibição da formação de rizoma, em qualquer temperatura testada e, no escuro, a 25°C e a 35°C, as gemas originaram rizomas e mais tarde, folhas. A 30°C, houve apenas formação de rizomas e, a 40°C, apenas folhas se formaram. *C. rotundus* parece ser uma espécie bastante sensível à luz, pois mesmo uma exposição diária por 5 minutos inibe o crescimento do rizoma. Com 2 horas diárias de luz, ocorreu inibição do comprimento mas não do número de rizomas por tubérculo e aumentando-se o fotoperíodo para 6 horas, a formação de rizomas foi completamente inibida.

Outra planta invasora que apresenta resposta ao tratamento fotoperiódico e temperatura é *Oxalis oxypetala* (FELIPPE *et al.*, 1978). Quanto à floração, os autores concluíram que a espécie é uma planta de dias neutros, tendo florescido em todos os tratamentos. A temperatura de estocagem dos bulbos parece ter tido mais influência na floração: pré-tratamento do bulbo com temperatura constante baixa (5°C) ou alta (30°C) alterou a velocidade de floração nos fotoperíodos de 8 e de 16 horas. GA₃ e CCC não alteraram a resposta da planta ao fotoperíodo. A brotação dos bulbos foi promovida por temperaturas alternadas, no escuro.

Floração em *Panicum maximum* foi estudada por FELIPPE (1978b), tendo sido observado que o capim colônio é uma planta de dias curtos qualitativa, com fotoperíodo

crítico entre 12 e 14 horas, sendo necessários 10 dias curtos para promover a indução. Num trabalho posterior (FELIPE, 1979), foi observada a floração de gemas axilares dessa espécie, em condições de campo e de casa de vegetação, nesse caso com controle do fotoperíodo. *P. maximum* produz inflorescências no ápice e nas gemas laterais mais altas; gemas localizadas medianamente podem ou não se transformar em florais, enquanto que as basais são sempre vegetativas, indicando não haver persistência da fotoindução na planta. Os resultados indicaram haver necessidade de um crescimento vegetativo mínimo antes de ocorrer a indução floral, cada um dos perfilhos comportando-se como o eixo principal da planta. Tal situação conferiria à espécie uma adaptação adequada para sua sobrevivência como planta perene através de dois mecanismos: manutenção dos nós basais em estado juvenil e dormência das gemas, imposta pelas folhas.

COUTINHO e DIONELLO (1980) observaram que a floração do capim-gordura (*Melinis minutiflora*), espécie nativa da África, mas invasora dos cerrados, comporta-se como planta de dia longo-curto para a floração, ocorrendo a indução quando são fornecidos 15 dias longos (luz contínua) e 6 dias curtos (8h), quando as plantas têm aproximadamente 45 dias de idade. Os fotoperíodos críticos, tanto para dia longo como para dia curto estão em torno de 12 horas e 15 minutos. Essa é a primeira referência no Brasil de uma planta com duas exigências fotoperiódicas.

O efeito do fotoperíodo na quebra de dominância apical foi constatado por BRAGGIO (1984), em *Anagallis arvensis*, tendo a autora concluído que, em fotoperíodo curto de 8 horas, o número de gemas laterais liberadas foi superior ao das liberadas em plantas mantidas sob condições de dias longos de 16 horas e de dias curtos com noite interrompida, o que comprova ser esse efeito tipicamente fotoperiódico.

O aguapé (*Eichhornia crassipes*) é uma planta que vem sendo utilizada com frequência na detoxificação de lagoas poluídas. Foi estudado o efeito de dias longos e curtos no tamanho e forma das folhas, tendo sido verificado que dias longos promoveram alongamento das folhas, apenas quando a temperatura da água era de 27°C. Nesse caso, pareceu haver maior efeito da temperatura da água e do ar do que do fotoperíodo, ou uma interação entre esses fatores (MUKUNO e VÁLIO, 1985).

Há também citações de tentativas de indução floral por substâncias que têm efeito hormonal em animais, em substituição ao fotoperíodo. Essas substâncias foram testadas em plantas com resposta fotoperiódica conhecida, mas foram ineficazes. Assim, FELIPPE (1980) testou o efeito de altosídeo (hormônio juvenil dos insetos) e LADEIRA *et al.* (1982) testaram acetilcolina.

Apesar da literatura internacional ser farta em trabalhos sobre os efeitos do fotoperíodo em plantas, poucas espécies nativas do Brasil têm sido estudadas. A floração, particularmente, tem sido exaustivamente pesquisada num número restrito de espécies e variedades, selecionadas em termos de rapidez e tipo de resposta e por apresentarem sistemas apropriados para determinadas abordagens. Atualmente, poucos laboratórios dedicam-se ao estudo do fotoperiodismo, não porque o problema já tenha sido elucidado, mas devido à sua complexidade. A quantidade de publicações nessa área não reflete um progresso desejável, mas sim a adição de mais informações descritivas, sem apresentar abordagens ao nível molecular.

O uso de outras plantas, que não as convencionais, em trabalhos sobre indução fotoperiódica de crescimento, floração e outros processos, deve ser incentivado, pela perspectiva de surgirem materiais mais apropriados para trabalho em laboratório, trazendo mais informações sobre os mecanismos básicos envolvidos.

Assim, para a execução do presente trabalho, foi selecionada a espécie *Hyptis brevipes* Poit. (Labiatae), dentro de um programa de estudos fisiológicos em plantas da ninhas nativas do Brasil, por algumas características de seu crescimento e floração, que conduziram ao interesse de conhecer melhor esses processos. Além disso, as plantas dessa espécie crescem bem em casa de vegetação, sendo rela tivamente fácil e rápida a obtenção de material de experimen tação.

Apesar da família Labiatae ter uma importância econômica há muito estabelecida, principalmente por se rem numerosos os gêneros cultivados pela produção de óleos essenciais, de compostos com atividade farmacológica, de condimentos e mesmo de plantas ornamentais (JOLY, 1983), ape nas as espécies do gênero *Perilla* foram bem estudadas quanto à floração (ZEEVAART, 1969).

LORENZI (1982), apresentou uma descrição bo tânica sucinta de *H. brevipes*: é uma planta anual, herbácea, ereta, pouco ramificada; o caule é quadrangular, as fol has são opostas cruzadas, de bordos irregularmente serreados; as inflorescências são axilares, em capítulos esféricos e pedunculados, com numerosas flores brancas, sésseis (Figura 1).

É uma espécie invasora, encontrada principalmente em lugares úmidos, como beira de canais, lagoas e riachos, além de pastagens de várzea. Na planície litorânea, é frequentemente encontrada infestando lavouras perenes, co mo bananais e pomares, sendo vulgarmente conhecida como hortelã-brava e fazendeiro.

Ainda conforme LORENZI (1982), *H. brevipes* tem, no Brasil, a distribuição geográfica apresentada na fi gura 2, na qual foi assinalado o local de coleta das sementes que originaram as plantas utilizadas no presente trabalho.



FIGURA 1. Inflorescências de *Hyptis brevipes*.



FIGURA 2. Distribuição geográfica de *Hyptis brevipes* Poit. no Brasil (seg. LORENZI, 1982).

A seta indica o local de coleta das sementes que originaram as plantas utilizadas no presente trabalho.

II. OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho foram: observar os efeitos do fotoperiodismo no crescimento vegetativo de *Hyptis brevipes* Poit., através de vários parâmetros; estudar a floração dessa espécie nos seus diferentes aspectos: efeitos de fatores ambientais, como a temperatura e fotoperíodo, principalmente, na indução e no desenvolvimento das inflorescências, do ponto de vista estrutural, anatômico e morfológico; comparar os níveis de carboidratos em plantas crescidas sob condições fotoperiódicas controladas, visando relacionar esses metabolitos com os processos de desenvolvimento observados.

III. MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

Em todos os experimentos, foram utilizadas plantas de *Hyptis brevipes* Poit. As sementes (núculas) foram inicialmente coletadas de plantas invasoras de campos cultivados nos arredores da cidade de Campinas, SP.

MÉTODOS

1. CULTIVO DAS PLANTAS

As sementes de *H. brevipes*, provenientes do município de Campinas, foram colocadas para germinar e as plantas obtidas foram transferidas para canteiros da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica de São Paulo, onde se desenvolveram sob condições naturais de luz e temperatura. Dessas plantas, sementes foram coletadas periodicamente, com a finalidade de se obter novas plantas, a serem utilizadas nos diferentes experimentos

e para manutenção de exemplares da espécie, uma vez que esta é uma planta anual.

2. CULTIVO DAS PLANTAS A PARTIR DE SEMENTES

Sementes das plantas mantidas em canteiros foram colocadas para germinar em caixas ou bandejas contendo uma mistura de solo de mata e vermiculita (1:1 v/v) ou composto, constituído por terra vegetal: areia grossa: fertilizante "Basebio" (comercializado na Inglaterra) na proporção de 3:1:1 v/v, umedecidos com água.

Sementeiras e plântulas foram mantidas em casa de vegetação (medindo 45m²), sob luminosidade constante (iluminação natural, acrescida de iluminação artificial durante a noite, proveniente de 15 lâmpadas incandescentes de 100 watts, localizadas a 1,60m das plantas). Trinta dias após a sementeira, quando as plântulas possuíam dois a três pares de folhas, foi feita a transferência das mesmas para recipientes de plástico resistente (450ml de capacidade) contendo o mesmo tipo de substrato em que se encontravam. Duas semanas depois e então a cada dez dias, as plantas receberam solução nutritiva "Libfeed 214" 1:200 v/v ou solução nº 1 de Hoagland (BONNER e GALSTON, 1952). Em alguns experimentos, à época do transplante, foi acrescentado adubo orgânico granulado (NPK) à mistura solo: vermiculita. Conforme a necessidade, as plantas foram regadas uma ou duas vezes ao dia.

3. CULTIVO DE PLANTAS POR ESTACAS

Estacas apicais, medianas ou basais do eixo principal, medindo de 8 a 10cm foram colocadas para enraizar sob luz branca contínua, em frascos de vidro contendo água destilada. Após quatro dias, começaram a surgir raízes. Três dias depois, as estacas enraizadas foram transferidas para recipientes contendo solo e vermiculita, nas condições-padrão de cultivo, mencionadas previamente.

4. TRATAMENTOS FOTOPERIÓDICOS

Os tratamentos fotoperiódicos foram iniciados quando as plantas possuíam no mínimo quatro pares de folhas (plantas com 50 a 70 dias) e foram dados por um número variável de dias, o que é explicitado em cada experimento. À época do tratamento, a região apical do par de folhas mais jovem era marcada com tinta branca. Esses tratamentos foram feitos em câmaras de crescimento com controle automático de temperatura e fotoperíodo, ou em compartimentos onde apenas o fotoperíodo foi controlado, através de relógios automáticos.

4.1. Fotoperíodo de oito horas

As plantas receberam diariamente oito horas de luz natural, em casa de vegetação (das 9:00 às 17:00 horas), seguidas de dezesseis horas de obscuridade, em câmara escura.

4.2. Outros fotoperíodos

Em cada ciclo de vinte e quatro horas, nos fotoperíodos de 10, 11, 12, 13, 14, 16, 18 e 20 horas, as plantas receberam oito horas de luz natural em casa de vegetação, acrescidas respectivamente de 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 e 12 horas de iluminação artificial, proveniente, em cada caso, de uma lâmpada incandescente de 100 watts, colocada a 1,10m das plantas.

O tratamento de oito horas com noite interrompida (8h + NI) foi obtido da mesma forma que o fotoperíodo de oito horas, porém as dezesseis horas de obscuridade foram interrompidas ao meio, durante uma hora (7:30 horas de escuro + 1 hora de luz + 7:30 horas de escuro), por luz artificial de baixa intensidade, proveniente de lâmpada incandescente de 100 watts.

As plantas mantidas sob luminosidade contínua (LC) receberam diariamente luz natural e, à noite, iluminação artificial proveniente de lâmpadas incandescentes de 100 watts.

O tempo de suplementação de luz foi controlado por relógios automáticos, dotados de mecanismo para acender e apagar as lâmpadas, em câmaras individuais sem controle de temperatura.

4.3. Dias longos intercalados numa serie de dias curtos

Foram fornecidos a todas as plantas vinte e quatro fotociclos de oito horas diárias de luz (DC). As plantas, em número de dez por tratamento, foram separadas em cinco lotes, cada um deles compreendendo um número variável de dias longos (DL) de vinte horas diárias de luz (0,1, 3, 7 e 23 DL), inseridos numa série de vinte e quatro dias curtos (24 DC), conforme o esquema apresentado a seguir:

24 DC	= 24 DC + 0 DL
12 - <u>1</u> - 12	= 24 DC + 1 DL intercalado
6 - <u>1</u> - 6...	= 24 DC + 3 DL intercalados
3 - <u>1</u> - 3...	= 24 DC + 7 DL intercalados
1 - <u>1</u> - 1...	= 24 DC + 23 DL intercalados

5. CONTROLE DE TEMPERATURA

Nos experimentos em que houve controle da temperatura as plantas foram mantidas em câmaras de crescimento, onde a temperatura e também o fotoperíodo foram controlados. Nessas câmaras, colocadas em casa de vegetação, as plantas recebiam luz natural, por oito horas, e suplementação com luz artificial, conforme os diferentes tratamentos fotoperiódicos, proveniente de quatro lâmpadas incandescentes, de 100 watts, colocadas a 1,10m das plantas. Foram utilizadas as temperaturas constantes de 15, 20, 25 e 30°C com variações diárias de $\pm 2^{\circ}\text{C}$.

6. ANÁLISE DO CRESCIMENTO VEGETATIVO

O crescimento vegetativo foi analisado semanalmente através dos seguintes parâmetros: altura das plantas (medida do eixo principal, do ápice ao solo), comprimento dos ramos laterais, número de nós, área foliar.

Num dos experimentos, foi medida a área de cerca de dez folhas expandidas de cada planta, localizadas no 4º (folha marcada), 5º, 6º, 7º e 8º nós, contados da região basal em direção ao ápice da planta. Nesse caso, todas

essas folhas de uma mesma planta passaram por um Medidor Portátil de Área LI-COR, Modelo LI-3000 da Lambda Instruments Co., obtendo-se a soma total das áreas individuais das folhas de cada planta. Dados médios de área foliar foram obtidos dividindo-se a soma total das áreas foliares de cada planta pelo número de folhas medidas.

7. ANÁLISE DA FLORAÇÃO

As plantas induzidas para floração foram semanalmente observadas e os resultados computados após pelo menos trinta dias depois do início do tratamento indutor. Os parâmetros utilizados para as medidas de floração variaram conforme o experimento.

A estrutura reprodutiva de *H. brevipes* é uma inflorescência, definida como um capítulo esférico (LORENZI, 1982). Em trabalhos contendo observações anatômicas de estruturas de reprodução e análise de floração, mesmo quando o resultado final do processo da modificação do meristema vegetativo é uma inflorescência, os autores utilizam termos como "gema floral", "estádio pré-floral" e "estádio floral", referindo-se à inflorescência como um todo e não às flores individuais que a compõem (ZEEVAART, 1969, BERNIER *et al.*, 1981). Essa terminologia será também por nós utilizada no presente trabalho, sempre que necessário.

7.1. Porcentagem de floração

A porcentagem de floração foi calculada ba seando-se no número de plantas floridas em relação ao número total de plantas de cada tratamento.

7.2. Número de inflorescências

O número de inflorescências constou do número total de inflorescências formadas em cada planta, tanto no eixo principal como nos ramos laterais.

7.3. Número de nós com inflorescências

Apesar da forte simetria da planta, algumas vezes ocorre o aparecimento de apenas uma das duas inflorescências que usualmente se desenvolvem em cada nó. Nessa medi da de floração, foram contados todos os nós do eixo princi pal da planta que apresentaram pelo menos uma inflorescência.

7.4. Desenvolvimento das inflorescências

7.4.1. Índice floral

Para o estabelecimento do grau de desenvolvi vimento das gemas florais, vinte plantas de *H. brevipes* fora ram induzidas à floração durante vinte dias por fotoperíodo de oito horas, à temperatura constante de 25°C. Em seguida, todas as gemas florais do eixo principal de cada planta foram dissecadas sob microscópio estereoscópico e desenhara

das, procurando-se fazer uma escala de desenvolvimento para as gemas florais, com base no que foi feito por SALISBURY (1955) para *Xanthium strumarium*. Foram examinados um total de 60 botões florais e gemas vegetativas.

7.4.2. Análise anatômica e histoquímica

Plantas mantidas desde a germinação sob condições de luminosidade contínua foram transferidas para dias curtos (8 horas de luz). Ápices caulinares (do 12º nó para cima, considerando-se o nó cotiledonar como o 1º nó) de plantas que receberam 0, 5, 10, 15 e 20 dias curtos, foram coletados imediatamente após o final do período de escuro, sendo então fixados em FAA 50 (JOHANSEN, 1940) por 24 horas. A seguir, os materiais foram desidratados em série butílica (com a utilização de álcool butílico terciário), incluídos em "Paraplast" (parafina especial de inclusão, da firma Lancer, Sherwood Medical) e cortados longitudinalmente, com a espessura de 8µm, em micrótomo rotatório (JOHANSEN, 1940).

As lâminas com os cortes seriados longitudinais foram então coradas de acordo com o método adequado para cada um dos testes. Nas lâminas destinadas às observações histológicas usuais, foi aplicado o método que emprega safranina e "fast green", com ácido tânico e cloreto férrico, segundo FOSTER (1934, modificado por GIFFORD Jr. em 1966, *in* SCHNEIDER 1981). Quanto aos testes histoquímicos, as técnicas empregadas foram: "Azure B", para ácidos nucleicos, especialmente para ácido ribonucleico (RNA); reação "PAS" (que usa ácido periódico e reativo de Schiff) para carboidratos (JENSEN, 1962); "Aniline blue-black" para proteínas (FISHER, 1968). Foram desenvolvidos controles para ácidos nucleicos (RNA, especialmente) com o uso de ribo

nuclease (TEPPER e GIFFORD Jr., 1962) e para carboidratos, na reação "PAS", pela ausência do tratamento com o ácido periódico (RIDING e GIFFORD Jr., 1973).

As fotomicrografias das gemas axilares e apicais foram obtidas utilizando-se um fotomicroscópio Vanox Olympus AHB - LB, portando uma câmara fotográfica Olympus C-35 AD com filme Panatomic X Kodak 32 ASA.

8. APLICAÇÃO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO

Os reguladores de crescimento foram aplicados de duas maneiras:

a) através de micropipetas calibradas (FELIPPE *et al.*, 1971d) de 10 μ l, a cada cinco dias, durante vinte dias, no caule, próximo à axila de uma folha jovem, de plantas obtidas através de estacas, em nove repetições por tratamento. Os reguladores de crescimento ensaiados e as concentrações utilizadas foram:

IBA (ácido indolil 3-butírico) 5×10^{-8} M
 GA₃ (ácido giberélico) 3×10^{-8} M
 K (cinetina) 5×10^{-8} M
 ABA (ácido abscísico) $3,8 \times 10^{-8}$ M
 TIBA (ácido triiodobenzóico) 2×10^{-8} M
 CEPA (ácido 2 cloroetilfosfônico) $3,4 \times 10^{-7}$ M

O controle foi feito com água destilada. As plantas permaneceram em DC ou DL durante a fase de aplicação e até a obtenção dos resultados;

b) espalhando-se a solução com o auxílio de um pincel pela epiderme inferior de duas folhas jovens expandidas e duas folhas mais velhas de plantas obtidas por sementes, em seis repetições por tratamento. Os reguladores de crescimento aplicados, à concentração de 10^{-4} M fo

ram: GA_3 (ácido giberélico), IBA (ácido indolil 3-butírico), CCC (cloreto de 2-cloroetiltrimetilamônio) e BAP (6-benzilaminopurina). O tratamento controle consistiu de aplicação de água destilada. Estas soluções foram aplicadas a cada três dias, durante dezoito dias antes, durante e depois da indução floral por dias curtos. Antes e após o tratamento indutor (DC), as plantas permaneceram em condições de luz contínua.

9. ANÁLISE DOS CARBOIDRATOS

9.1. Coleta das amostras

Durante um período de vinte e quatro horas seguidas, a cada duas horas, coletaram-se folhas do 7º nó de três plantas de mesma idade. As plantas eram provenientes de um lote único e mantidas em condições de luminosidade contínua (LC) ou fotoperíodo de oito horas (DC). A coleta de folhas foi feita no quinto dia após o início da indução, colocando-se as folhas imediatamente para secar, em câmara de temperatura constante "Stabil-Term", da Blue M. Electric Co., onde foram mantidas por quarenta e oito horas a 70°C. Foram então rapidamente transferidas para um desidratador e, após o resfriamento, determinou-se o peso seco. A seguir foram pulverizadas em almofariz de porcelana com o auxílio de um pistilo e o pó obtido foi pesado em balança analítica.

9.2. Extração de açúcares solúveis e amido

Esses compostos foram extraídos de cada folha, em três repetições individuais, pelo método de McCREADY et al. (1950), modificado no que se refere às quantidades iniciais de material foliar e dos solventes empregados. O esquema do método empregado está resumido no fluxograma que se segue (Figura 3).

Por se tratar de material foliar e, portanto, rico em clorofila, foi necessário fazer a clarificação dos extratos etanólicos com subacetato de chumbo a 1% em água e posterior filtração, conforme YELENOVSKY e GUY (1977), antes de efetuar a quantificação dos açúcares desses extratos.

9.3. Quantificação dos açúcares solúveis e amido

O conteúdo de açúcares solúveis totais e amido foi determinado nos respectivos extratos pelo método do fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), usando-se glucose como padrão. Nas determinações de amido, os valores encontrados foram multiplicados pelo fator de correção 0,9. O conteúdo de açúcares redutores dos extratos de folhas de plantas em DC e LC foi medido pelo método de Somogyi-Nelson (SOMOGYI, 1945), tendo-se também a glucose como padrão.

9.4. Cromatografia e densitometria dos açúcares solúveis

Quantidades equivalentes dos extratos brutos das folhas, coletadas em diferentes horas, dos dois lotes de plantas foram analisadas qualitativamente por cromatografia descendente em papel Whatman nº 1, sendo comparadas com amostras autênticas de açúcares quimicamente puros. Foram utilizados os seguintes sistemas de solventes: butanol:pirini

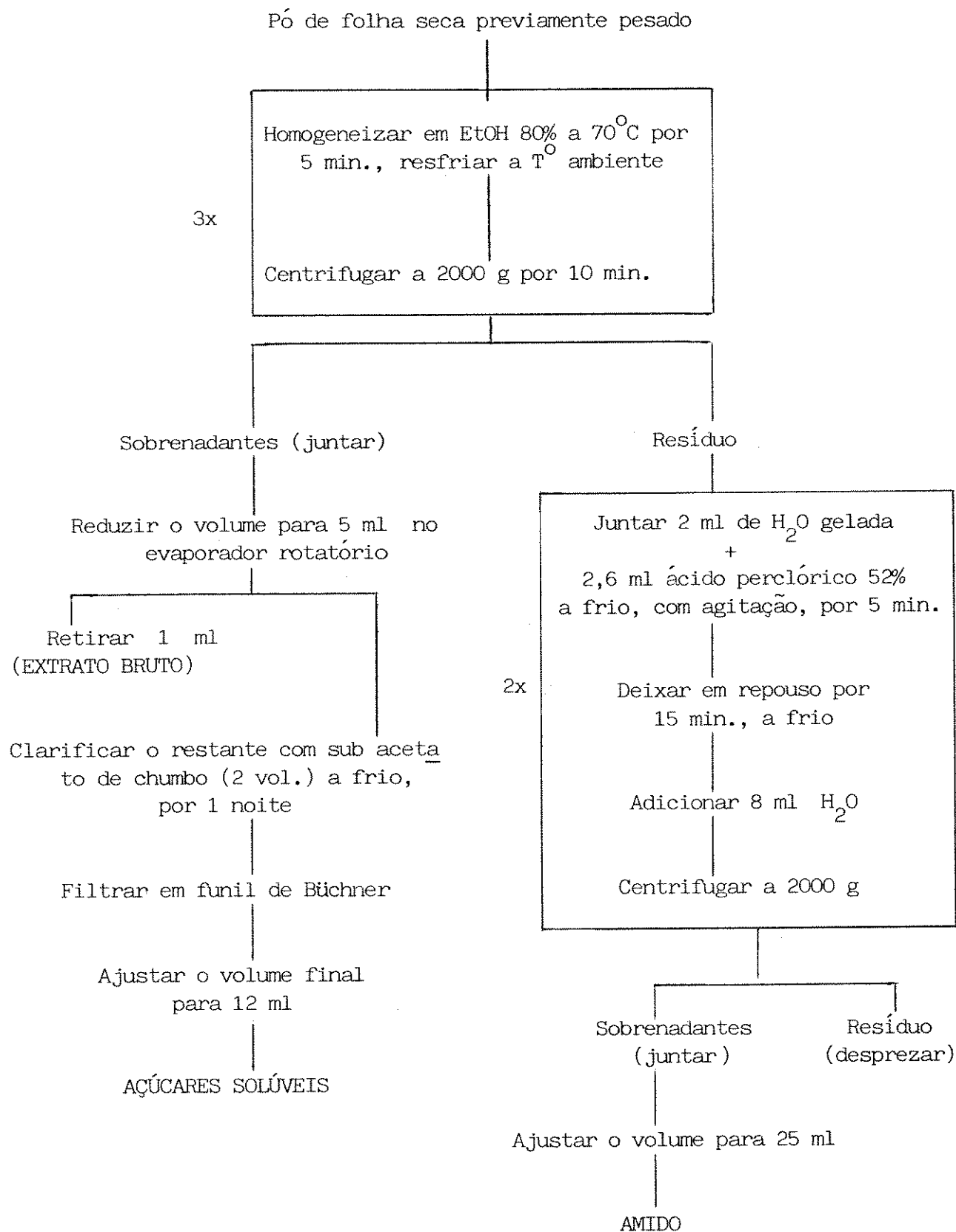


FIGURA 3. Fluxograma da extração de carboidratos solúveis e amido.

dina:água (6:4:3 v/v), por 40 horas, à temperatura ambiente (CHARGAFF *et al.*, 1948); n-propanol:acetato de etila:água (7:1:2 v/v), por 40 horas à temperatura ambiente (EDELMAN e JEFFORD, 1964) e acetato de etila:ácido acético:piridina:água (12:3:3:2 v/v), por 50 horas, à temperatura ambiente (JARVIS e DUNCAN, 1974). Após a secagem, os cromatogramas foram revelados em solução alcalina de nitrato de prata (TREVELYAN *et al.*, 1950), sendo os açúcares não redutores revelados a quente, expondo-se os cromatogramas ao vapor de água em ebulição, antes de passá-los por uma solução aquosa de tiosulfato de sódio a 5%, de modo a retirar o excesso de óxido de prata; a seguir, foram lavados com água destilada e secados em estufa. Para detecção da frutose livre ou combinada, foi também utilizado o revelador de uréia em solução saturada de ácido meta-fosfórico (WISE *et al.*, 1955).

As intensidades das manchas obtidas após a revelação dos cromatogramas foram registradas em densitômetro automático Jr. TLC Plus de Helena Laboratories, calculando-se a porcentagem de cada componente dos extratos a partir da área obtida por densitometria da mancha respectiva, em relação à soma das áreas de todos os componentes.

9.5. Análise do componente não identificado presente nos extratos foliares

Uma substância presente nos extratos foliares não foi identificada por cromatografia em papel, fazendo-se, então, cromatografias preparativas dos extratos em papel Whatman nº 3, pré-lavado com água destilada, utilizando-se como solvente acetato de etila:ácido acético:piridina:água (12:3:3:2 v/v), seguidas de eluição em água e concentração em evaporador rotatório.

O composto assim obtido foi hidrolisado em

ampola selada, a 100°C, com ácido trifluoracético (TFA) 1N, 2N e 3N por 2 e 4 horas. Após a retirada do ácido, o material hidrolisado foi retomado em água e uma alíquota cromatografada descendentemente em papel Whatman nº 1, por 40 horas, em butanol:piridina:água (6:4:3 v/v, correndo-se, paralelamente, uma amostra não hidrolisada e padrões de açúcares. Após secagem, o cromatograma foi exposto à luz ultravioleta e, a seguir, revelado com solução alcalina de nitrato de prata (TREVELYAN *et al.*, 1950), uréia em solução saturada de ácido metafosfórico (WISE *et al.*, 1955) ou ninhidrina (ROSEN, 1957).

10. ANÁLISE DO GRAU DE ABERTURA ESTOMÁTICA

A cada duas horas, durante vinte e quatro horas seguidas, foi passada uma fina camada de esmalte incolor, na epiderme inferior de uma das folhas do 7º par de três plantas diferentes, provenientes de um mesmo lote e mantidas sob luz contínua ou dias curtos. Após secagem completa, o filme de esmalte foi retirado com o auxílio de uma pinça, nele ficando impressas as células da epiderme inferior das folhas no estado em que se apresentavam no momento em que o esmalte fora aplicado.

Os filmes de esmalte foram então examinados ao microscópio óptico (aumento de 400x), observando-se cinco campos de cada amostra, cada um contendo dez estômatos. Foi dado um valor correspondente ao grau de abertura de cada estômato, conforme segue:

estômato aberto - valor 2

estômato parcialmente aberto - valor 1

estômato fechado - valor 0

Multiplicando-se o número de estômatos encontrados em cada campo pelo seu valor, somando-se e dividindo-se pelo número total de estômatos examinados, obteve-se um valor médio, que reflete o grau de abertura estomática na folha, no momento da observação.

11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram utilizadas, em cada experimento, de cinco a dez plantas por tratamento, separadas em blocos individualizados ao acaso. Quando as diferenças entre os valores médios obtidos não foram claramente evidentes, calcularam-se os intervalos de confiança das amostras. Nos experimentos com mais de dois tratamentos, foi feita análise de variância, determinou-se o valor de $F_{5\%}$ e, se este foi significativo, calculou-se a diferença mínima significativa (DMS) a 5% pelo teste de Tukey, modificado por SNEDECOR (1962). As respostas estatísticas foram representadas por barras verticais ou expressas nas tabelas ou figuras onde as médias seguidas pela mesma letra não apresentam diferenças significativas entre si.

A velocidade de crescimento foi determinada através do coeficiente de regressão b , que dá a inclinação da reta; o valor de b foi calculado pela equação de regressão (SNEDECOR, 1962).

1. EFEITO DO FOTOPERÍODO E DA TEMPERATURA NO CRESCIMENTO

1.1. Altura das plantas

Plantas de *H. brevipes*, mantidas desde a germinação em condições de dias longos de vinte horas de luz em casa de vegetação, foram transferidas para fotoperíodo de oito horas (DC), por 5, 10, 15 e 20 dias, às temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C. A cada cinco dias, um lote de plantas iniciava o tratamento de dias curtos, de modo que todas as plantas voltaram no mesmo dia para as condições de dias longos. As plantas do tratamento controle não receberam dias curtos, porém permaneceram às temperaturas acima indicadas, durante vinte dias.

O efeito da temperatura no crescimento em altura das plantas pode ser verificado na figura 4. Dezesesseis dias após o início dos tratamentos, observa-se que quanto maior a temperatura, maior a altura das plantas. Entretanto, como a velocidade de crescimento (b) é menor a 30°C do que nas demais temperaturas ensaiadas, sete dias depois, a 20°C, as plantas têm a mesma altura que as do tratamento de

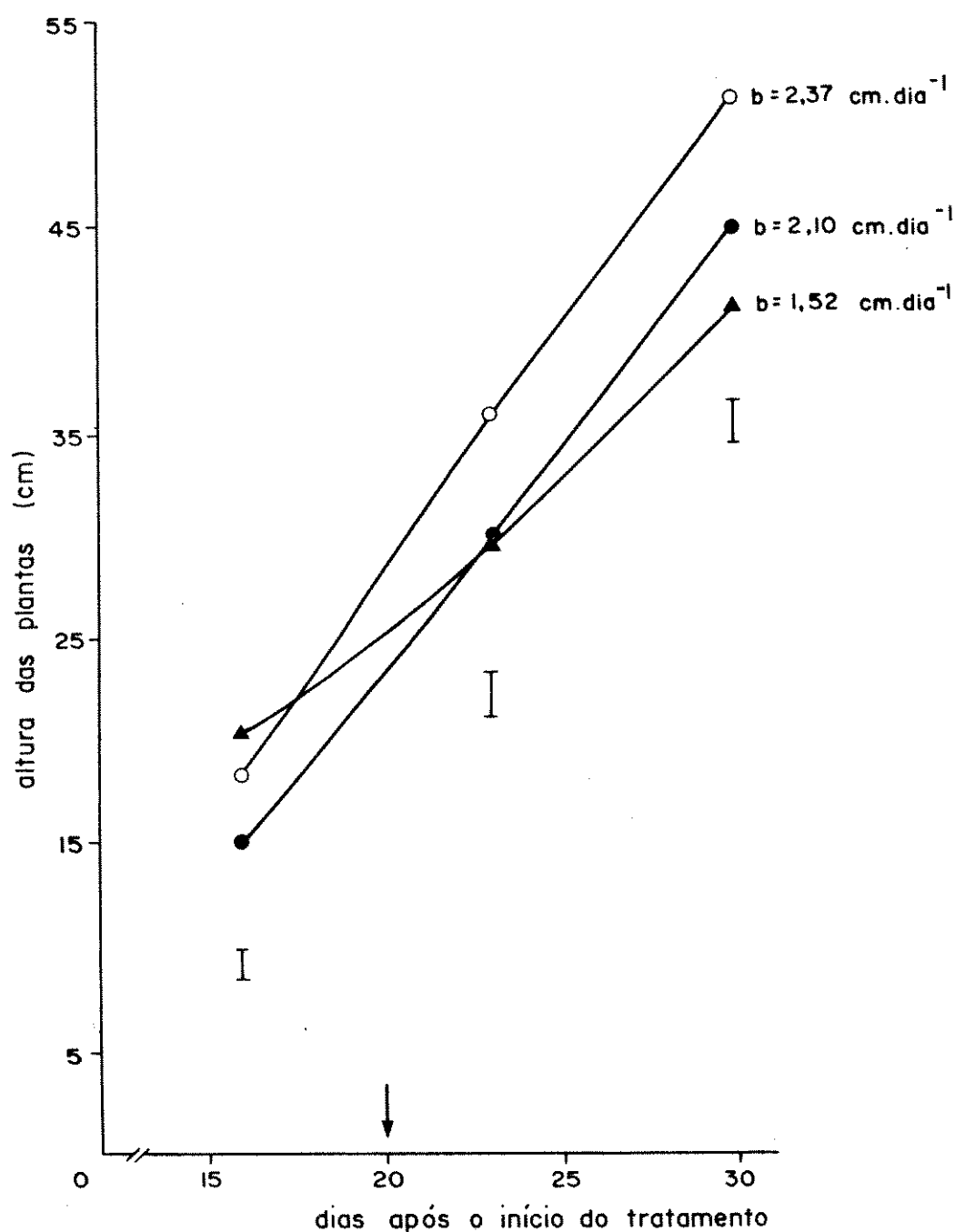


FIGURA 4. Efeito principal da temperatura no crescimento em altura de plantas de *Hyptis brevipes* sob três temperaturas: 20°C (●), 25°C (○) e 30°C (▲). As barras verticais correspondem aos valores de $DMS_{5\%}$ calculados para cada dia.

↓ dia em que as plantas retornaram para dias longos e temperatura de 25°C.

30°C e as de 25°C, que apresentam a maior velocidade de crescimento, têm altura significativamente maior. Assim, em função da velocidade de crescimento, 25°C é a temperatura mais favorável, seguindo-se 20°C e finalmente 30°C.

Quando se observa o efeito do número de dias curtos na altura das plantas (Figura 5), verifica-se que, desde dezesseis e até trinta dias após o início do tratamento de dias curtos, existe uma forte tendência de serem mais altas as plantas que receberam mais dias curtos. A velocidade de crescimento (b) foi semelhante em todos os tratamentos, aplicados, sendo ligeiramente maior nas plantas que receberam 15 DC e 20 DC. No tratamento controle (0 DC), as plantas mostraram menor crescimento em altura. É interessante notar que o efeito de dias curtos na promoção do crescimento em altura persistiu por alguns dias após o término do tratamento, o mesmo acontecendo com o efeito da temperatura.

A análise dos dados mostrou haver uma interação estatisticamente significativa entre temperatura e número de dias curtos, 16 e 30 dias após o início dos tratamentos. O desdobramento da interação está mostrado na tabela 1.

Conforme pode-se observar (letras maiúsculas), 16 dias após o início dos tratamentos de temperatura e de dias curtos, a 20°C o crescimento das plantas em altura não foi afetado pelo número de dias curtos fornecidos. A 25°C e a 30°C, a partir de 10 DC, as plantas apresentaram um crescimento em altura maior e estatisticamente significativo, em comparação com as plantas-controle (0 DC). Comparando-se agora os resultados da tabela 1 no sentido vertical (letras minúsculas), observa-se que em dias longos (0 DC), as temperaturas ensaiadas não tiveram efeito no crescimento das plantas, o mesmo ocorrendo quando foram dados 5 DC. A partir de 10 DC, a temperatura começou a mostrar seu

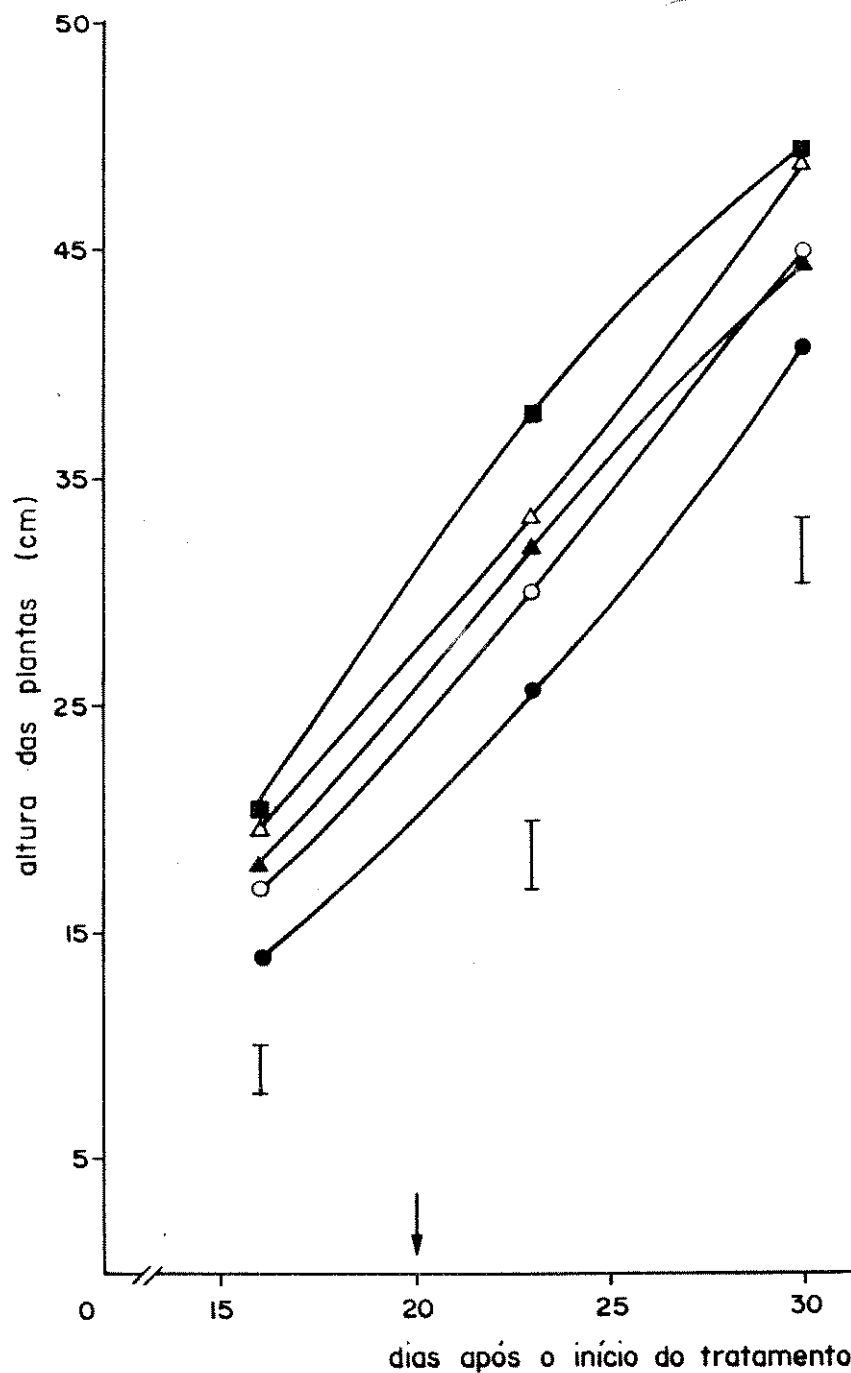


FIGURA 5. Efeito principal do número de dias curtos no crescimento em altura de plantas de *Hyptis brevipes*, submetidas a 0, 5, 10, 15 e 20 dias curtos. As barras verticais correspondem aos valores de $DMS_{5\%}$ calculados para cada dia.

●—● 0 DC $b = 1,91$

○—○ 5 DC $b = 2,00$

▲—▲ 10 DC $b = 1,86$

△—△ 15 DC $b = 2,10$

■—■ 20 DC $b = 2,10$

↓ Dia em que as plantas retornaram para dias longos e temperaturas de 25°C.

TABELA 1. Interação entre temperatura e número de dias curtos na altura de plantas de *Hyptis brevipes*. Dados em cm.

dias após o início dos tratamentos		temperatura (°C)	0	5	número de dias curtos		
					10	15	20
16		20	14,1 Aa	16,6 Aa	15,8 Aa	16,1 Aa	15,8 Aa
		25	14,8 Aa	17,6 ABa	18,9 Bab	19,5 Bb	20,5 Bb
		30	14,3 Aa	17,2 Aa	21,2 Bb	23,4 Bc	24,7 Bc
30		20	39,1 Aa	45,4 Ba	45,8 Ba	48,6 Ba	46,3 Ba
		25	44,4 Ab	52,0 BCb	50,5 Ba	54,2 BCb	56,1 Cb
		30	39,9 ABab	38,1 Ac	37,8 Ac	44,2 BCa	47,7 Ca

Letras maiúsculas comparam na horizontal

DMS 5% para 16 dias = 3,79

DMS 5% para 30 dias = 5,38

Letras minúsculas comparam na vertical

DMS 5% para 16 dias = 3,23

DMS 5% para 30 dias = 4,60

efeito na altura das plantas.

Trinta dias após o início do experimento, verifica-se que à temperatura de 20°C , o número de dias curtos não afetou significativamente a altura das plantas; no entanto, as plantas-controle (0 DC) foram significativamente menores. A 25°C , diferenças estatisticamente significativas foram encontradas nos tratamentos de dias curtos em relação ao controle e entre eles, apenas entre 10 DC e 20 DC. A 30°C , somente com 20 DC nota-se que ocorrem diferenças estatísticas no crescimento em relação ao controle; 5 e 10 DC são iguais, o mesmo ocorrendo com 15 e 20 DC. Verificando agora o efeito da temperatura (letras minúsculas) nas plantas mantidas em dias longos (0 DC), observou-se que apenas as temperaturas de 20°C e 25°C provocaram crescimento estatisticamente diferente. A temperatura de 25°C e dias curtos foram mais eficazes no crescimento das plantas, sendo esta diferença estatisticamente significativa, em relação às temperaturas de 20°C e 30°C .

Foi medido o crescimento em altura de plantas mantidas por quinze dias a 20°C , 25°C e 30°C nos fotoperíodos de 11, 12, 13 e 14 horas e transferidas em seguida para dias longos de 20 horas às mesmas temperaturas. Obtiveram-se os resultados mostrados nas figuras 6 e 7. A análise estatística dos dados mostra que a 30°C , o crescimento das plantas é significativamente diferente conforme o tratamento fotoperiódico fornecido, sendo mais altas as plantas submetidas ao fotoperíodo de 11 horas e menores aquelas que receberam fotoperíodo de 14 horas. Também a 20°C e a 25°C , é menor o crescimento das plantas sob regime fotoperiódico de 14 horas, porém as diferenças encontradas nem sempre foram significativas do ponto de vista estatístico.

Comparando-se as três temperaturas ensaiadas no crescimento das plantas, verifica-se que são sempre maiores aquelas que receberam o tratamento fotoperiódico a 25°C ,

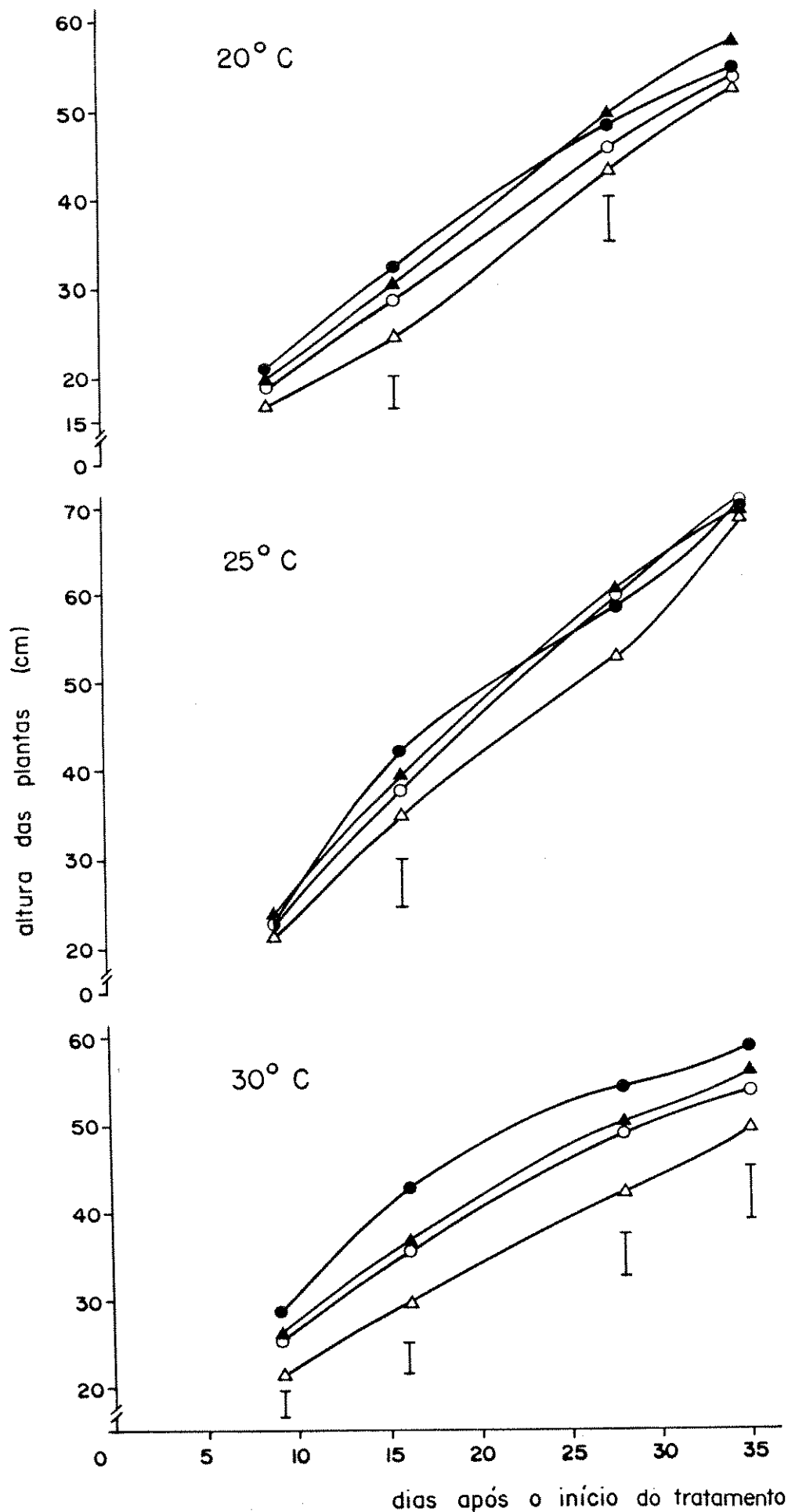


FIGURA 6. Crescimento em altura de plantas de *Hyptis brevipes* em 3 temperaturas (20°C, 25°C e 30°C) e 4 regimes fotoperiódicos. As barras verticais correspondem à DMS_{5%}, calculada para valores significativos de F. 11 horas (●); 12 horas (○); 13 horas (▲); 14 horas (△).

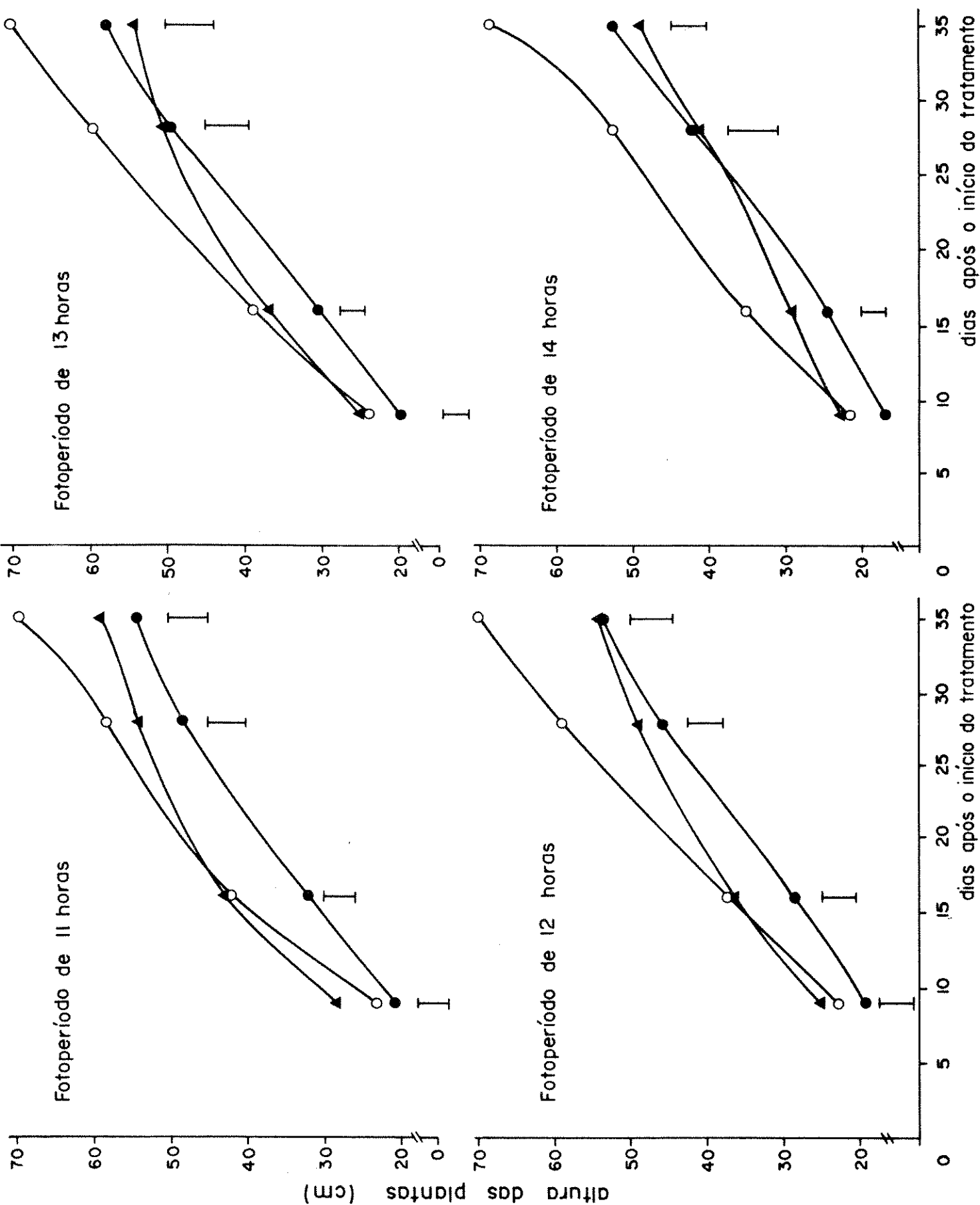


FIGURA 7. Crescimento em altura de plantas de *Hyptis brevipes* em 4 fotoperíodos (11, 12, 13 e 14 horas) e 3 temperaturas. As barras verticais correspondem aos valores de DMS_{5%}. (●) 20°C; (○) 25°C; (▲) 30°C.

conforme pode ser visto na figura 7. Em todos os dias em que foi medido o crescimento das plantas, notou-se uma diferença significativa no que se refere aos tratamentos de temperatura. Na tabela 2 pode ser observada a velocidade de crescimento (b) dessas plantas. A velocidade de crescimento não é modificada pelo tratamento fotoperiódico, mas a 25°C , a velocidade média de crescimento é maior que a 30°C e a 20°C . Os valores de b encontrados mostram que nos fotoperíodos mais curtos (11 e 12 horas), 20°C e 30°C são iguais.

A análise estatística dos resultados obtidos mostrou haver interação entre temperatura e fotoperíodo a 16 e 35 dias do início dos tratamentos. O desdobramento da interação entre esses dois fatores pode ser acompanhado na tabela 3.

Dezesseis dias após o início dos tratamentos (Tabela 3), ou melhor, um dia após o final dos tratamentos fotoperiódicos, verifica-se que a 20°C , as plantas são significativamente menores do que nas duas outras temperaturas ensaiadas, nos fotoperíodos de 11, 12 e 13 horas. No fotoperíodo de 14 horas, a altura das plantas mantidas a 20°C é igual às tratadas com temperatura de 30°C . A análise estatística mostrou serem significativamente maiores as plantas que receberam fotoperíodo de 11 horas (independentemente da temperatura). O fotoperíodo de 14 horas é desfavorável ao crescimento das plantas, quando dado a 20°C e a 30°C . A 25°C , a temperatura favorável supera o efeito do fotoperíodo.

Trinta e cinco dias após o início dos tratamentos (Tabela 3), 25°C é estabelecida como a temperatura mais favorável para o crescimento das plantas em experimentação, independentemente do fotoperíodo fornecido. A 20°C e a 30°C , as plantas crescem de maneira semelhante. Analisando-se o efeito do fotoperíodo, verifica-se não existirem diferenças na altura das plantas. A temperatura parece ser um fator de maior importância que o fotoperíodo.

TABELA 2. Velocidade de crescimento (b) de plantas de *Hyp*
tis brevipes (cm. dia⁻¹) em três temperaturas e
quatro regimes fotoperiódicos.

Fotoperíodo	Temperatura			$\bar{x}$
	20°C	25°C	30°C	
11h	1,30 A	1,71 B	1,12 A	1,377 n.s.
12h	1,33 A	1,82 B	1,10 A	1,417 n.s.
13h	1,48 A	1,77 A	1,15 B	1,467 n.s.
14h	1,39 A	1,75 B	0,96 C	1,367 n.s.
$\bar{x}$	1,375 A	1,762 B	1,082 A	

$\bar{x}$ = valores médios

F não significativo (n.s.) para fotoperíodo.

F significativo para temperatura ($DMS_{5\%} = 0,31$).

TABELA 3. Interação entre o efeito da temperatura e do fotoperíodo no crescimento (cm) de plantas de *Hyp*
tis brevipes.

Dias após o início do tratamento	Fotoperíodo	Temperatura		
		20°C	25°C	30°C
16	11h	32,4 Aa	42,2 Ba	43,0 Ba
	12h	28,8 Ab	37,6 Bb	37,0 Bb
	13h	30,6 Aab	39,2 Bab	37,0 Bb
	14h	24,6 Ac	35,1 Bbc	28,6 Ac
35	11h	54,2 Aab	69,6 Ba	58,6 Aa
	12h	53,7 Aab	70,4 Ba	53,9 Aab
	13h	57,8 Aa	70,1 Ba	56,1 Aa
	14h	52,5 Ab	68,7 Ba	49,4 Ab

Letras maiúsculas comparam na horizontal ($DMS_{5\%} = 4,0$ para 16 dias e $DMS_{5\%} = 4,6$ para 35 dias).

Letras minúsculas comparam na vertical ($DMS_{5\%} = 3,6$ para 16 dias e $DMS_{5\%} = 5,1$ para 35 dias).

1.2. Número de nós

Plantas de *H. brevipes*, mantidas desde a germinação à temperatura de 20°C e em fotoperíodo de 20 horas, foram transferidas para câmaras automáticas, com temperaturas constantes de 15°C ou 25°C e fotoperíodo de 8 horas durante 10, 20 ou 30 dias, retornando a seguir para as condições iniciais de cultura. Os resultados obtidos foram analisados 20 dias após o término do tratamento mais longo.

A figura 8A mostra o efeito das duas temperaturas ensaiadas e da temperatura-controle (20°C) no número médio de nós das plantas. A temperatura de 25°C proporciona maior crescimento vegetativo, aqui traduzido pelo número de nós do eixo principal da planta.

A figura 8B reflete o efeito conjunto da temperatura e de dias curtos no número de nós de plantas que permaneceram nessas condições fotoperiódicas por 10, 20 e 30 dias. Conforme pode-se observar, a 15°C, não há diferença no número de nós de plantas que receberam 10, 20 ou 30 dias curtos. No entanto, a 25°C, nota-se que maior número de nós são formados quando se aumenta o tempo de exposição a dias curtos. Assim, em baixa temperatura, o fotoperíodo não tem efeito no crescimento das plantas.

1.3. Comprimento dos ramos laterais

Foram também medidos os comprimentos dos ramos laterais das plantas, a partir do quarto nó até a região apical. As medidas foram tomadas a partir desse nó, pois logo abaixo dele localizava-se a folha marcada, indicando o estágio de crescimento das plantas quando foi iniciado o tratamento fotoperiódico e de temperatura.

Num primeiro experimento apresentado na figura 9, podem ser observados os comprimentos médios dos dois

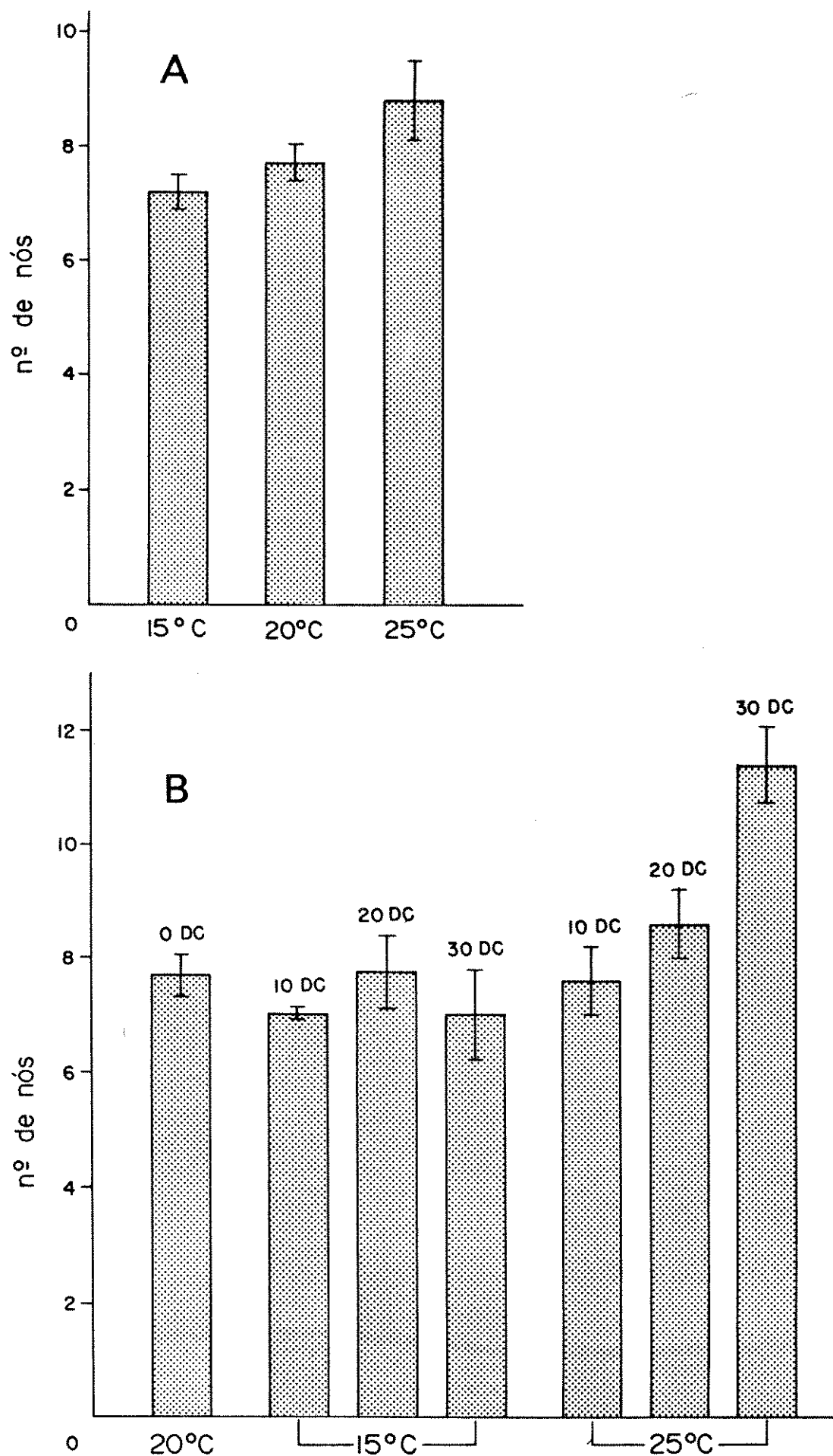


FIGURA 8. Efeito da temperatura (A) e do número de dias curtos associado à temperatura (B) no número médio de nós formados após o início do tratamento em plantas de *Hyptis brevipes*. As barras correspondem aos intervalos de confiança das amostras.

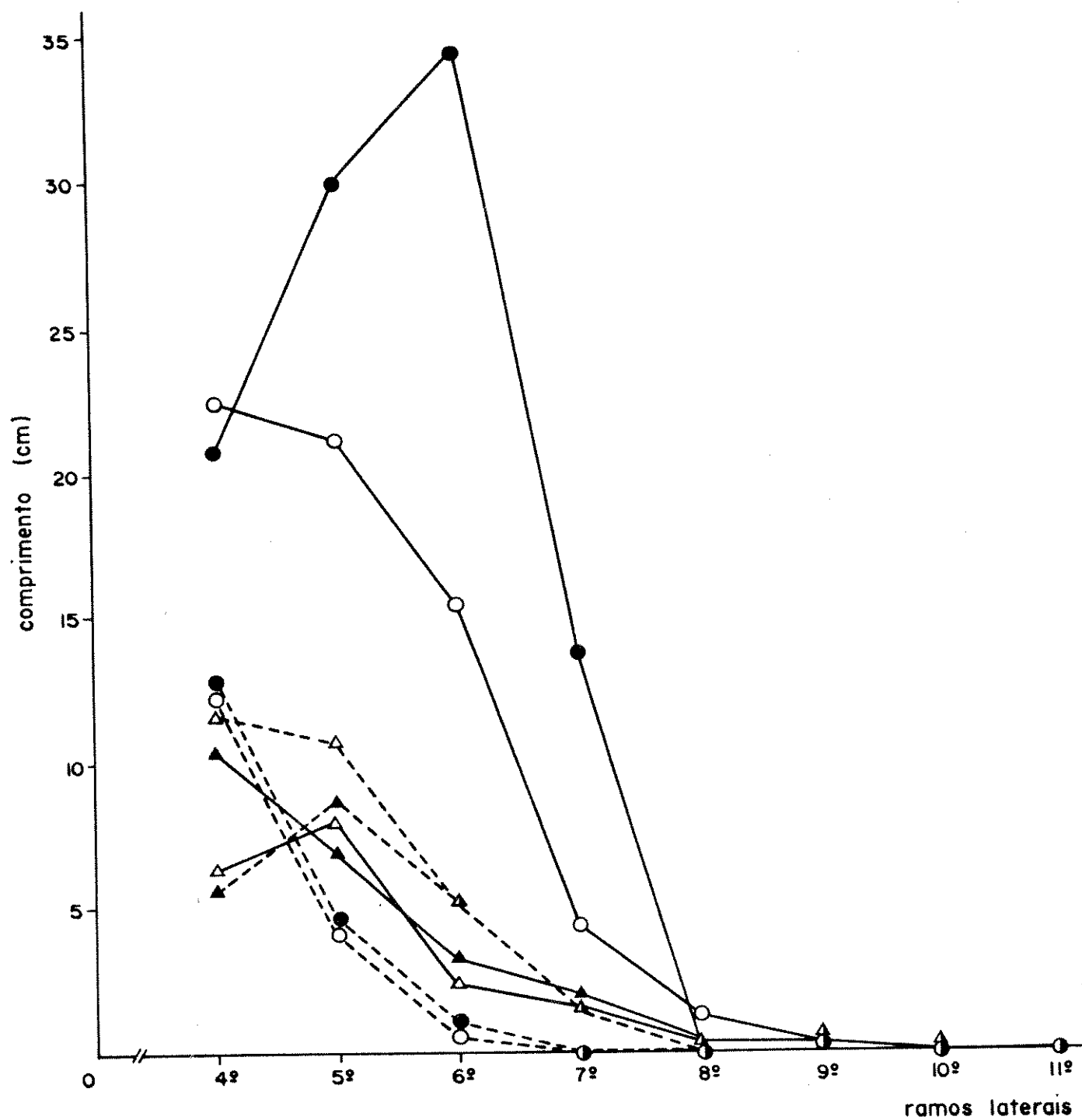


FIGURA 9. Comprimento médio dos ramos laterais de plantas de *Hyptis brevipes*, que permaneceram por 10, 20 e 30 dias em fotoperíodo de 8 horas, às temperaturas de 15°C e 25°C.
 25°C (—); 15°C (---); 30DC (●); 20 DC (○);
 10DC (△); ODC (▲).

ramos laterais de cada nó das plantas tratadas, nas temperaturas de 15°C e 25°C.

À temperatura de 25°C, pode-se verificar que ocorre grande crescimento dos ramos laterais localizados no 4º, 5º, 6º e 7º nós, nas plantas que permaneceram por 30 dias em fotoperíodo de 8 horas. A permanência por 20 dias em condições de dias curtos a 25°C também confere maior crescimento aos ramos laterais dos nós 4, 5 e 6, quando se compara com os outros tratamentos, sendo porém menor do que o crescimento obtido com 30 dias curtos. A 15°C, o comprimento dos ramos laterais é menor.

A figura 10 mostra o efeito da temperatura e do número de dias curtos no comprimento dos ramos laterais do 5º nó. A 25°C, o crescimento desses ramos é maior, sendo também superior o valor de b . Comparando-se os valores de r obtidos, verifica-se que a 25°C, como r é mais elevado, os dados são mais homogêneos. Não existem diferenças estatisticamente significativas entre 20°C e 30°C.

O efeito de dias longos no crescimento vegetativo de *H. brevipes*, pode ser visto no experimento relatado a seguir.

Nesse experimento, procurou-se verificar o efeito da intercalação de diferentes números de dias longos (DL) de 20 horas diárias de luz numa série de 24 dias curtos (DC) de 8 horas diárias de luz. As plantas foram mantidas à temperatura constante de 25°C e os dados de altura total e comprimento dos ramos laterais foram tomados 50 dias após o início dos tratamentos, sendo mostrados na figura 11.

Conforme pode-se observar, intercalando-se 3 DL num total de 24 DC, obtém-se um crescimento significativamente menor das plantas e à medida que se aumenta o número de dias longos fornecidos, menor é a planta. Quanto ao comprimento dos ramos laterais, nota-se que o crescimento dos ramos localizados no 4º e no 5º nós é afetado pelo(s)

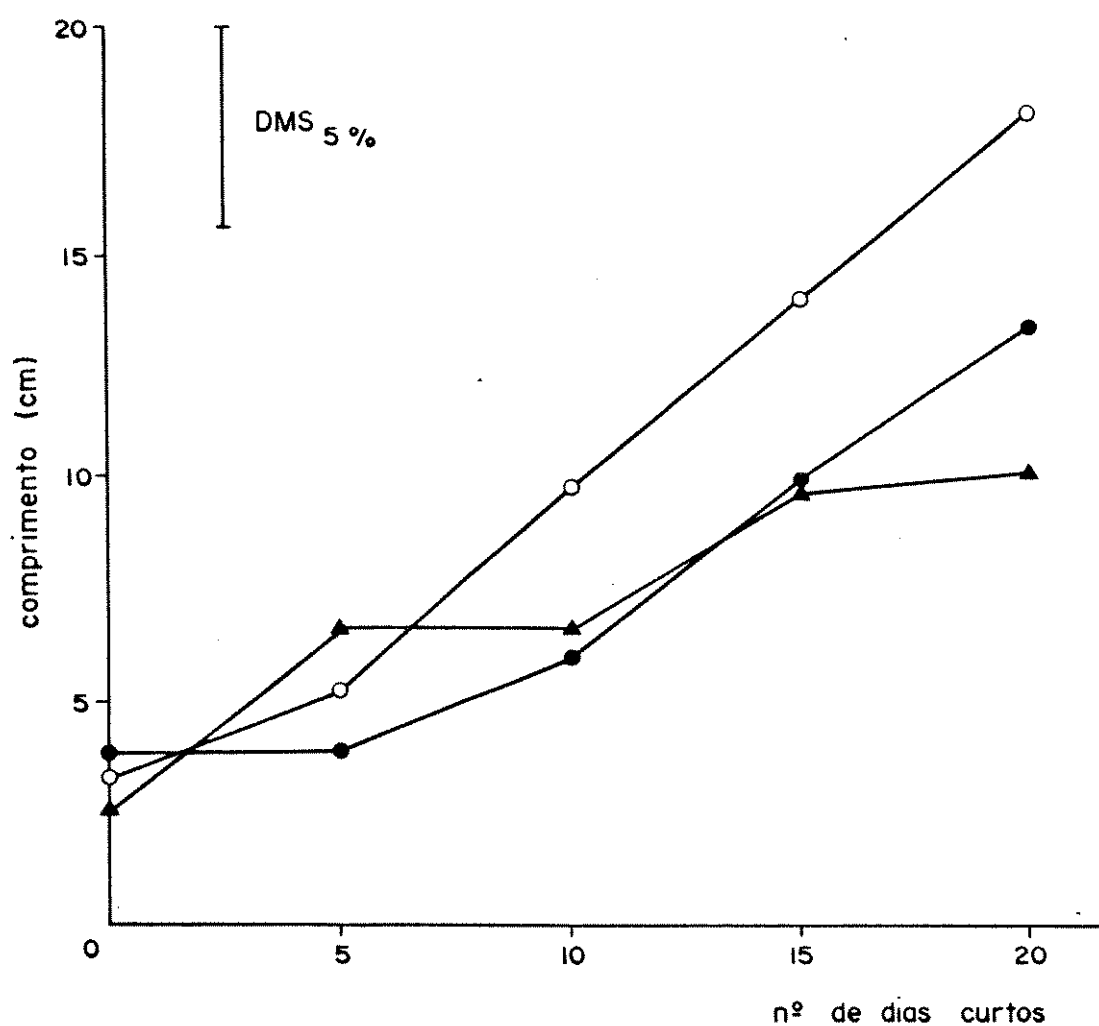


FIGURA 10. Efeito da temperatura e do número de dias curtos no comprimento dos ramos laterais do 5º nó de plantas de *Hyptis brevipes*.

30°C (●) $b = 4,9$; $r = 0,95$

25°C (○) $b = 7,6$; $r = 0,99$

20°C (▲) $b = 3,8$; $r = 0,94$

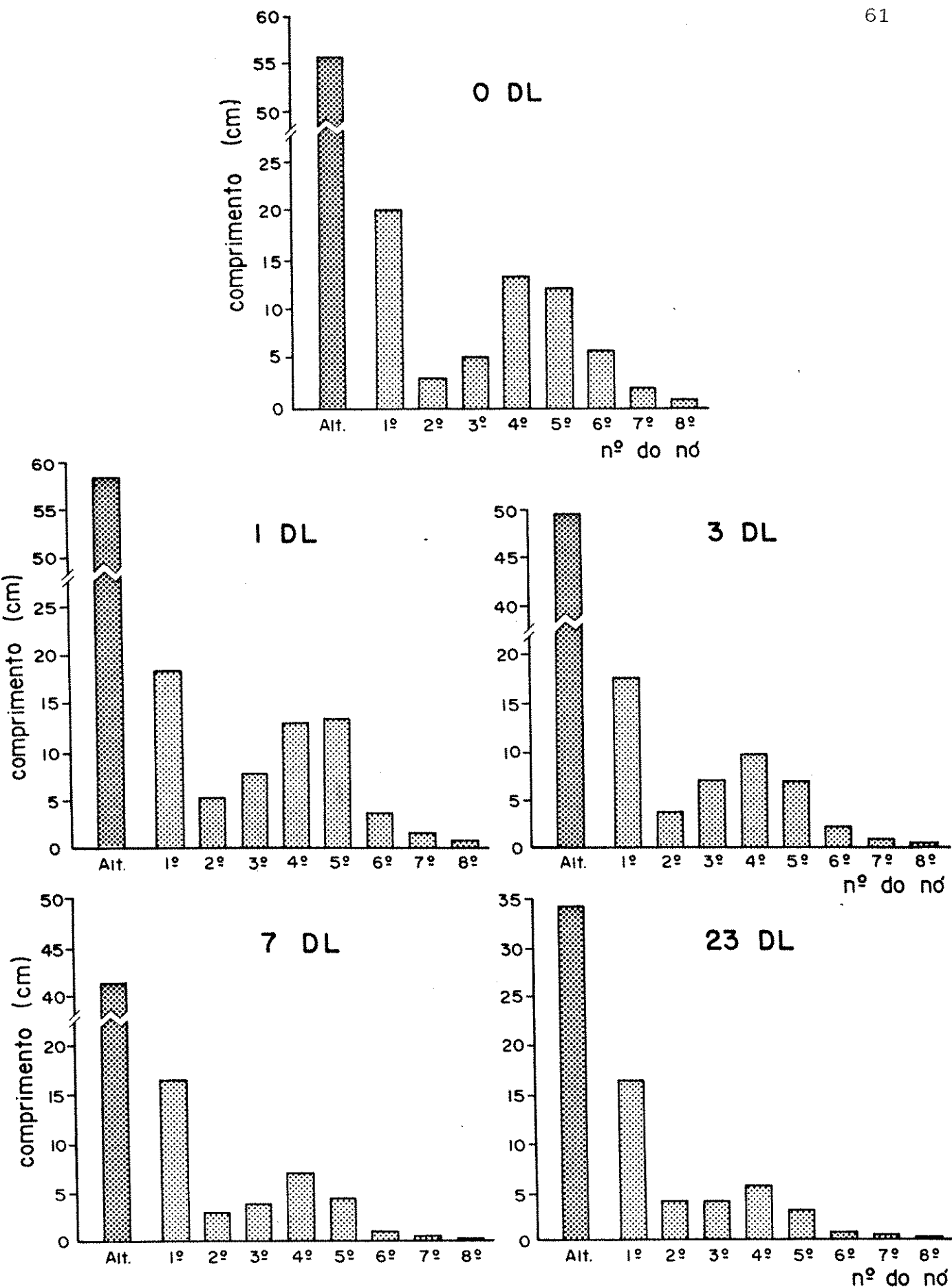


FIGURA 11. Efeito da intercalação de diferentes números de dias longos (DL) na altura (Alt.) e no comprimento dos ramos laterais localizados em diferentes nós das plantas de *Hyptis brevipes* submetidas a um total de 24 dias curtos.
 $DMS_{5\%} = 3,63$ para a altura das plantas.

dia(s) longo(s) intercalado(s), diminuindo à medida que se aumenta o número de dias longos.

1.4. Área foliar

A área média das folhas adultas de plantas mantidas por 10, 15 e 20 dias em condições de DC, às temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C é mostrada na tabela 4. Às temperaturas de 20°C e 25°C, as folhas das plantas são significativamente maiores do que aquelas de plantas mantidas a 30°C. A 20°C e a 25°C, a área foliar foi maior quando as plantas receberam 15 DC, tendo havido redução com 10 e 20 DC. A 30°C, a área das folhas é quase a metade do tamanho encontrado nas outras temperaturas, tendo ocorrido uma redução significativa quando foram dados 20 DC. A interação entre temperatura e número de dias curtos recebidos pelas plantas não foi estatisticamente significativa. Do ponto de vista da área foliar, as condições ideais de crescimento de *H. brevipes* são 15 DC e temperatura de 20°C ou 25°C.

TABELA 4. Efeito da temperatura e do número de dias curtos na área foliar (cm^2) de plantas de *Hyptis brevipes*.

Temperatura	Número de dias curtos		
	10	15	20
20°C	60,65 Aa	66,44 Ba	51,52 Ca
25°C	57,81 Ab	63,21 Bb	60,23 Cb
30°C	28,64 Ac	30,42 Ac	22,30 Bc

Letras maiúsculas comparam na horizontal ($\text{DMS}_{5\%} = 2,03$).

Letras minúsculas comparam na vertical ($\text{DMS}_{5\%} = 2,03$).

2. EFEITO DO FOTOPERÍODO E DA TEMPERATURA NA FLORAÇÃO

2.1. Fotoperíodo crítico

Plantas jovens, com apenas o 1º par de folhas, foram colocadas nos diferentes tratamentos fotoperiódicos, em oito repetições por tratamento.

A floração das plantas foi acompanhada durante cerca de 100 dias (Figura 12), com temperatura não controlada. Os resultados obtidos permitiram classificar a espécie *Hyptis brevipes* Poit. como uma planta qualitativa de dias curtos, uma vez que a floração ocorreu em 100% das plantas que permaneceram em fotociclos diários de 8, 10, 12 e 13 horas. No fotoperíodo de 14 horas, apenas uma planta floresceu e nos fotoperíodos mais longos, não houve floração. A figura 12 mostra também que, em relação ao fotoperíodo de 8 horas, os tratamentos fotoperiódicos mais longos atrasaram a floração.

Esse efeito pode ser visualizado melhor na figura 13 onde, através do número de nós, podemos inferir o tamanho das plantas à época do início da floração. À medida que se prolonga o fotoperíodo, a floração, vai ocorrendo mais tardiamente: no fotoperíodo de 14 horas, a única planta que floresceu apresentou gemas florais apenas no 10º nó.

Pelos resultados mostrados na figura 12, conclui-se que o fotoperíodo crítico para floração em *H. brevipes* deva estar em torno de 13 horas.

Procurou-se então estabelecer o fotoperíodo crítico de *H. brevipes* sob condições controladas de temperatura. Para tanto, utilizaram-se os tratamentos fotoperiódicos de 11, 12, 13 e 14 horas diárias de luz durante 15 dias, às temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C, em oito repetições.

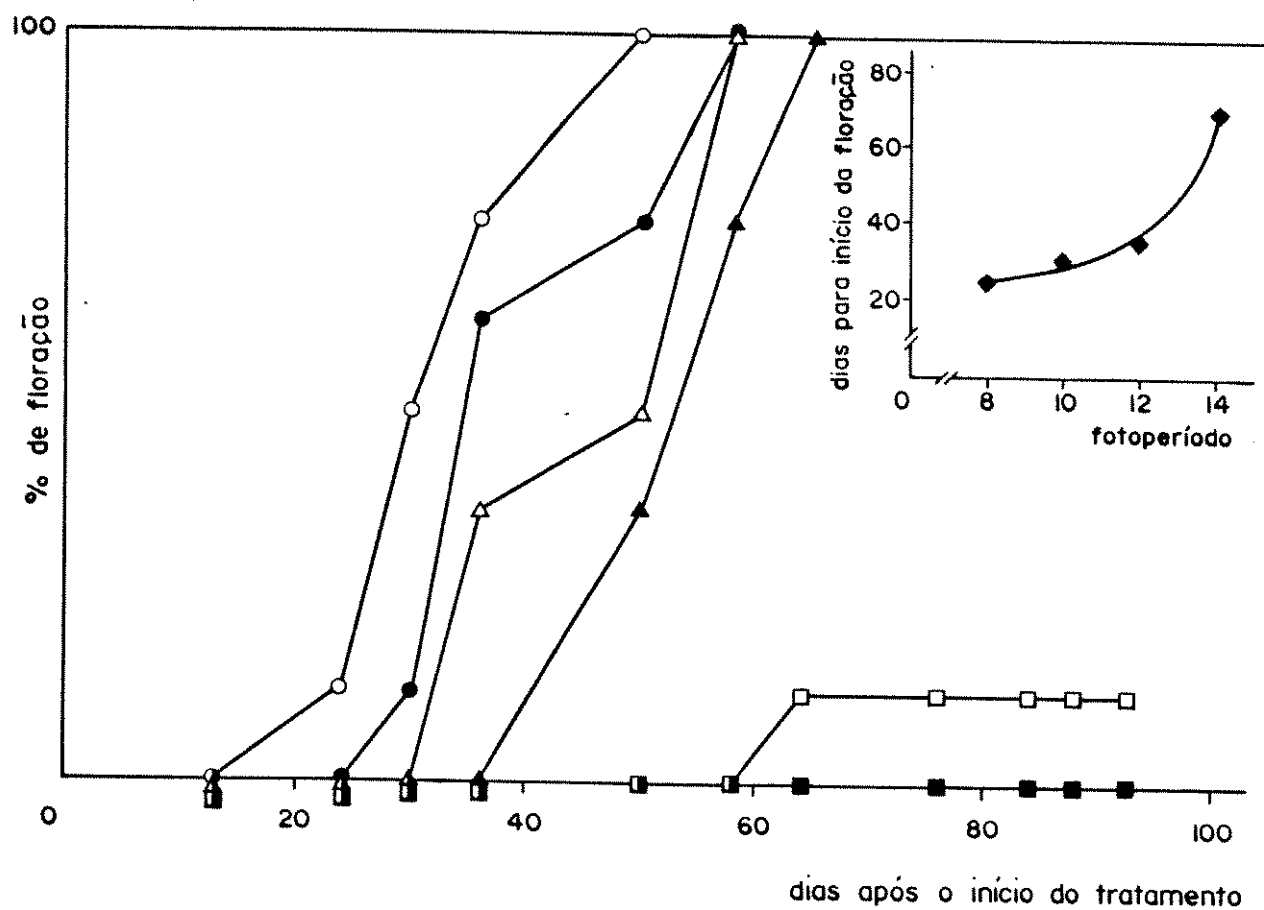


FIGURA 12. Floração em *Hyptis brevipes* - determinação do fotoperíodo crítico.

Plantas com um par de folhas colocadas em fotoperíodo de 8h (○), 10h (●), 12h (△), 13h (▲), 14h (□), 16h, 18h, 20h, 24h e 8h + NI (■), em condições de casa de vegetação.

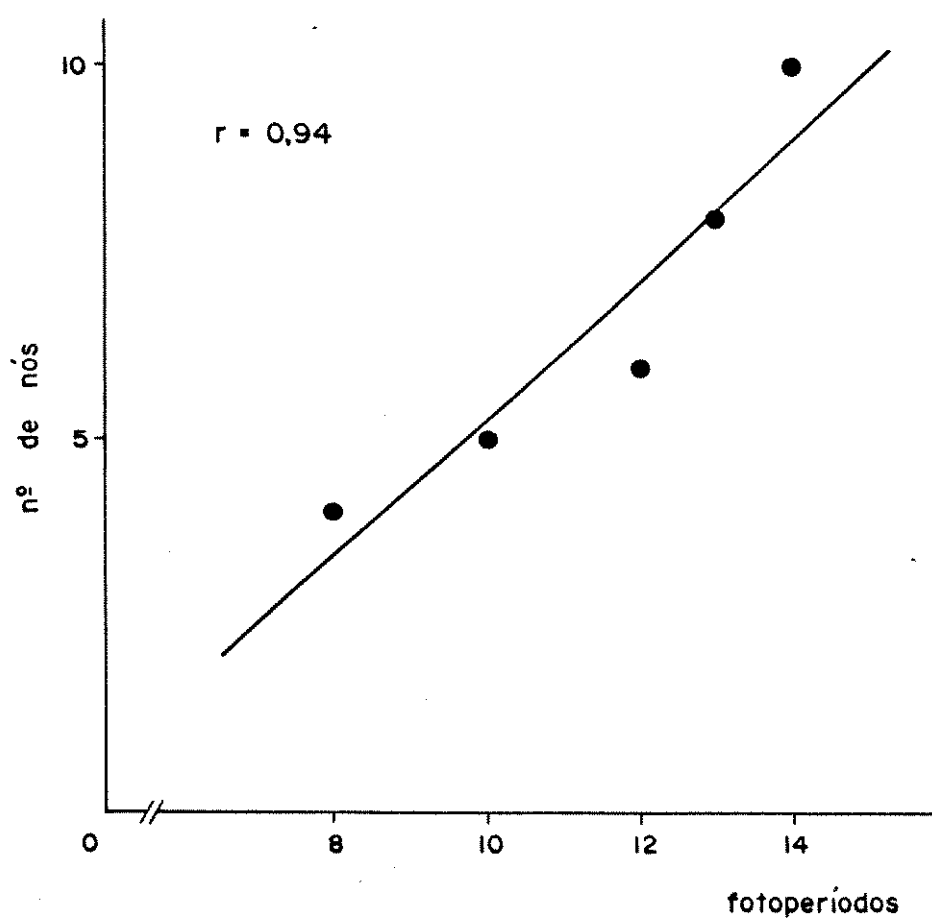


FIGURA 13. Número mínimo de nós necessários para o início da floração em *Hyptis brevipes*, nos fotoperíodos de 8h, 10h, 12h, 13h e 14 horas.

Os resultados obtidos são mostrados nas tabelas 5 e 6. A 20°C, o fotoperíodo crítico foi aumentado de uma hora em relação às outras duas temperaturas ensaiadas (Tabela 5). No fotoperíodo de 11 horas, as plantas mostraram maior número de inflorescências (Tabela 6). No fotoperíodo de 13 horas a 20°C, apesar de ter ocorrido floração em 57% das plantas (Tabela 5), o número médio de inflorescências por planta (Tabela 6) foi muito baixo, inferior a dois, que seria o mínimo de duas inflorescências em um único nó por planta, como normalmente acontece em *H. brevipes*.

A análise estatística do número médio de inflorescências formadas por planta (Tabela 6) mostrou não haver interação entre fotoperíodo e temperatura. Nos fotoperíodos de 11 e 14 horas, as temperaturas ensaiadas não tiveram efeito sobre a floração.

2.2. Aspectos morfológicos externos do desenvolvimento da inflorescência

Nem sempre a porcentagem é o melhor parâmetro para medidas de floração, a qual, em alguns casos, precisa ser quantificada.

Foi feito, então, um estudo da inflorescência de *H. brevipes*, a fim de obter esquemas simples, que refletissem seu desenvolvimento. Foi utilizado o fotoperíodo de 8 horas para induzir a floração nas plantas por 5, 10, 15 e 20 dias, às temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C, em cinco repetições. No tratamento controle, as plantas permaneceram em dias longos. Dez dias após o final dos tratamentos, as plantas foram dissecadas e as gemas examinadas ao microscópio estereoscópico. Foram feitos desenhos esquemáticos e uma seqüência de desenvolvimento foi estabelecida, conforme mostrado na figura 14.

TABELA 5. Efeito da temperatura na determinação do fotoperíodo crítico para floração em *Hyptis brevipes*.

Tratamento fotoperiódico	% de plantas floridas		
	20°C	25°C	30°C
11h	86	100	88
12h	100	71	88
13h	57	0	0
14h	0	0	0

TABELA 6. Efeito da temperatura e do fotoperíodo no número médio de inflorescências em *Hyptis brevipes*.

Tratamento fotoperiódico	N.º médio de inflorescências / planta		
	20°C	25°C	30°C
11h	3,85 Aa	3,43 Aa	3,12 Aa
12h	3,12 Aab	1,57 Bb	2,25 ABa
13h	1,71 Ab	0,00 Bb	0,00 Bb
14h	0,00 Ac	0,00 Ab	0,00 Ab

DMS_{5%} para fotoperíodo = 1,62 (letras minúsculas).

DMS_{5%} para temperatura = 1,49 (letras maiúsculas).

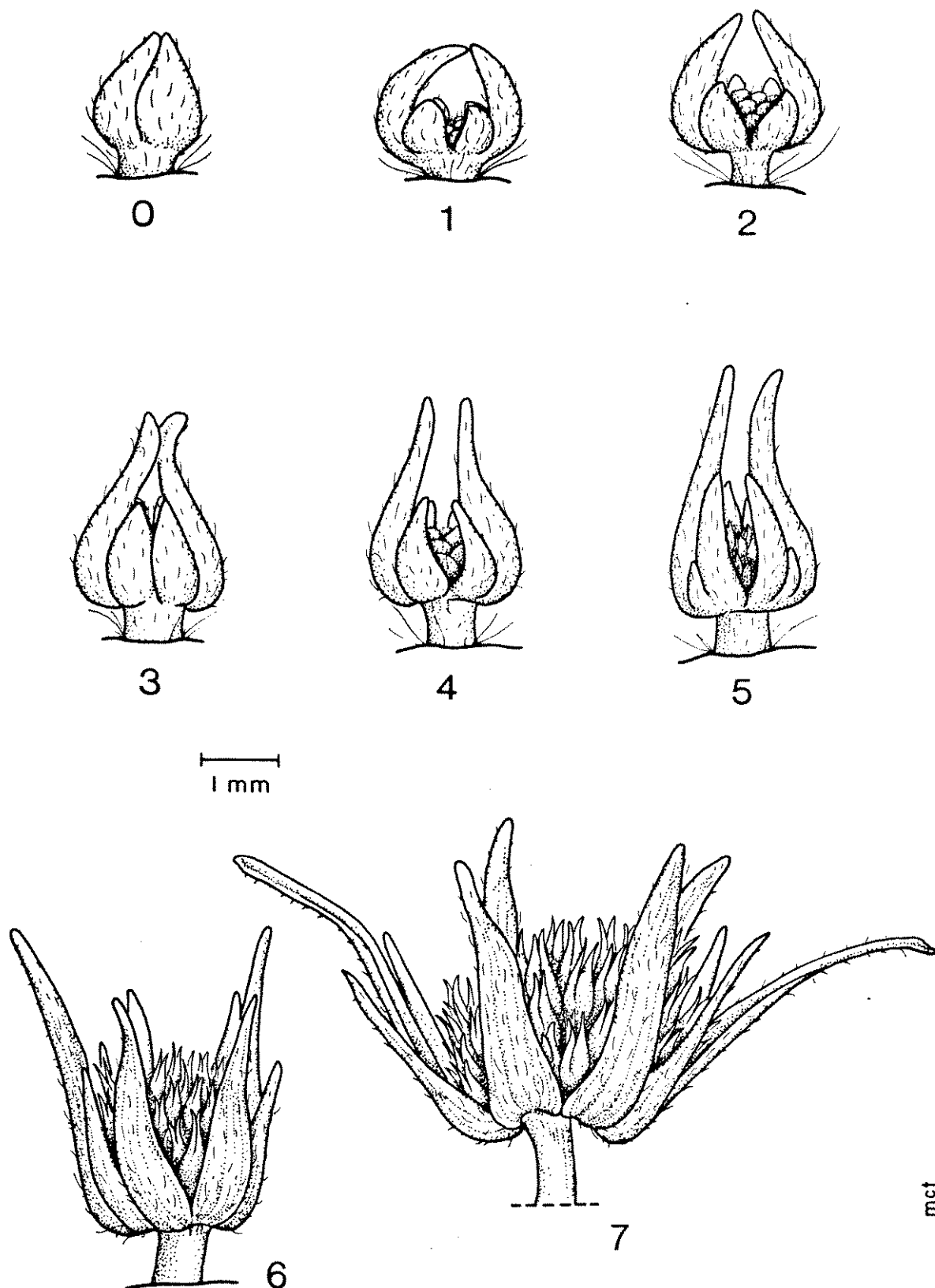


FIGURA 14. Desenvolvimento da inflorescência de *Hyptis brevipes*. Os números colocados seqüencialmente, correspondem a cada um dos estádios de desenvolvimento observados.

A seqüência de desenvolvimento da inflorescência é assim caracterizado, nos diferentes estádios:

- 0 - estágio vegetativo, facilmente reconhecível pelo par de folhas fortemente fechadas.
- 1 - início do desenvolvimento da inflorescência; abertura das brácteas maiores e aparecimento de duas brácteas menores de cada lado da inflorescência em desenvolvimento. As brácteas distinguem-se das folhas pela tonalidade verde mais escura e por serem mais rígidas e finas.
- 2 - alongamento das brácteas menores até cerca de 2/3 do tamanho das brácteas maiores.
- 3 - alongamento das brácteas externas, conferindo à inflorescência um aspecto piriforme.
- 4 - visualização dos botões florais da inflorescência.
- 5 - aparecimento de mais quatro brácteas, cada uma das quais localizada entre a bráctea maior e a menor.
- 6 - os botões florais podem ser definidos como flores, com os estames facilmente visíveis (início de ântese).
- 7 - as brácteas abrem-se, o mesmo acontecendo com alguns botões, dando à inflorescência um aspecto globoso, podendo-se visualizar algumas flores abertas, com suas corolas brancas.

2.3. Aspectos anatômicos e histoquímicos do desenvolvimento das inflorescências

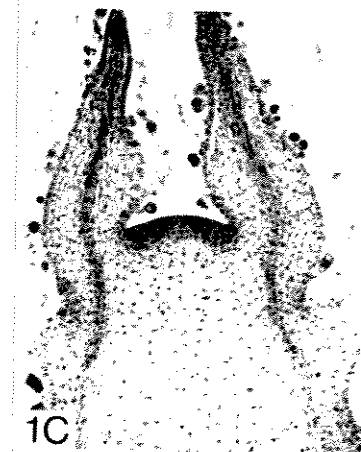
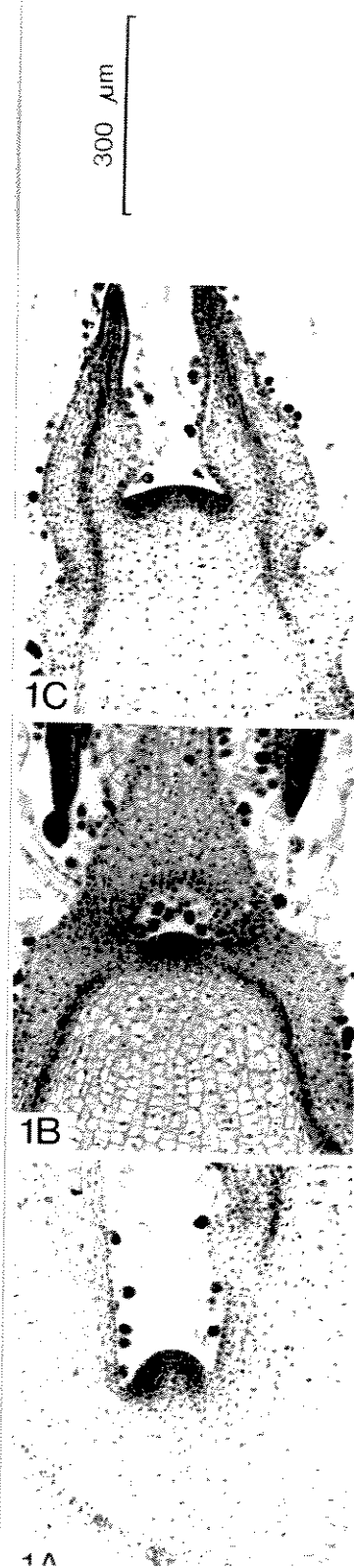
As gemas axilares e a apical de cada planta foram estudadas em seus aspectos estruturais gerais, assim como histoquímicos, tendo sido feitas fotomicrografias sempre com a mesma objetiva e ocular de campo, de modo a constatar, além das alterações morfológicas, as diferenças de tamanho de cada gema (Figuras 15, 16, 17 e 18). As figuras foram organizadas de modo que o 12º nó (a partir do qual foram feitas as observações) fosse considerado o nó 1, crescendo a numeração em direção à região apical, facilitando assim a visualização do grau de diferenciação das gemas, tal qual se apresentam no eixo principal das plantas.

Observa-se que somente as plantas que receberam 20 fotociclos de 8 horas (dias curtos) apresentaram certas modificações morfológicas típicas de plantas que estão respondendo a um estímulo floral.

As gemas apicais (Aspectos 3E das figuras 15, 16, 17 e 18) têm a mesma organização das gemas apicais das plantas que receberam 15 dias curtos (Aspectos 2D das figuras 15 e 16; 2C da figura 17 e 2E da figura 18) e daquelas que são vegetativas (Aspectos 1C das figuras 15, 16, 17 e 18). Nas diversas fotomicrografias das figuras 15, 16, 17 e 18, as gemas apicais são vistas em seus contornos de área mínima (em fases iniciais de evidênciação, nos aspectos 3E da figura 16 e 2C da figura 17), de área máxima (em fases finais de evidênciação, nos aspectos 3E das figuras 15 e 18) e intermediários, todos associados ao crescimento do ápice e à formação das saliências típicas que, gradualmente, também crescem e vão formar os primórdios foliares, que se desenvolvem posteriormente em folhas. Estas, em *H. brevipes*, apresentam-se aos pares e são opostas-cruzadas.

Em sua organização, o ápice meristemático das gemas apicais das plantas que receberam 20 fotociclos

FIGURA 15. Cortes longitudinais medianos das gemas axilares e apicais de plantas de *Hyptis brevipes*. As folhas são opostas cruzadas. Coloração: safra nina-"fast-green". Ampliação 50x. 1. Planta do lote mantido sob condições não indutoras de floração (luz contínua); 1A: Parte do 12º nó, com gema axilar, vegetativa; 1B: Parte do 13º nó, com gema axilar, vegetativa; 1C: 14º nó, sem gemas axilares; a mesma condição existe no 15º nó; e gema apical vegetativa; nesta observam-se a zona central e a zona periférica; comparando-se as duas, verifica-se que a segunda apresenta-se mais corada; o meristema de fileiras - da medula - não está evidente. 2. Planta do lote que recebeu 15 dias curtos (8h); 2A: Parte do 12º nó, com ramo lateral vegetativo, em alongamento; 2B: Parte do 13º nó, com gema axilar, vegetativa; 2C: Parte do 14º nó, com gema axilar, vegetativa; 2D: 15º nó, sem gemas axilares; a mesma condição existe no 16º nó; e gema apical, vegetativa, onde são vistas a zona central e a zona periférica, apresentando-se esta última com coloração intensa; o meristema de fileiras - da medula - não está conspícuo. 3. Planta do lote que recebeu 20 dias curtos (8h); 3A: Parte do 12º nó, apresentando um ramo lateral vegetativo em alongamento, portando gema acessória; 3B: Parte do 13º nó com uma inflorescência lateral em desenvolvimento, onde se distinguem duas brácteas e os primórdios de flores distribuindo-se na periferia do ápice; 3C: Parte do 14º nó, com inflorescência lateral em início de desenvolvimento; 3D: Parte do 15º nó, com gema axilar mostrando o aspecto de ápice floral, apresentando brácteas em início de desenvolvimento; 3E: 16º nó, com primórdios de gemas axilares; o 17º nó não apresenta gemas axilares; e gema apical, vegetativa, em área máxima, mas já com início de formação das saliências que formarão os primórdios das folhas do 18º nó; são observadas, neste ápice, a zona central, pouco corada, contrastando com a zona periférica, intensamente corada; o meristema de fileiras - da medula - não está evidente.



300 μm

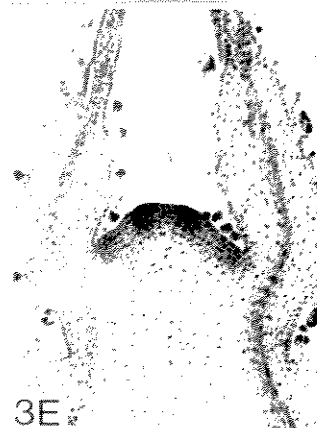
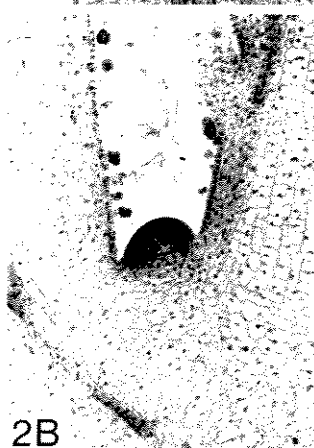
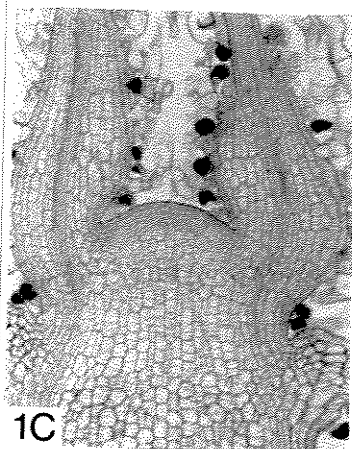


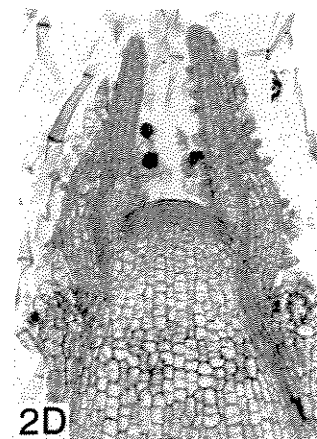
FIGURA 16. Cortes longitudinais medianos das gemas axilares e apicais de plantas de *Hyptis brevipes*. As folhas são opostas cruzadas. Teste histoquímico "PAS" para carboidrato total. Ampliação 50x.

1. Planta do lote mantido sob condições não indutoras de floração (luz contínua); 1A: Parte do 12º nó, com gema axilar, vegetativa, em início de alongamento para formar um ramo, observando-se a organização do ápice de acordo com a teoria simples que admite a presença de uma túnica, no caso bi ou trisseriada, envolvendo o corpo; 1B: Parte do 13º nó, com gema axilar, vegetativa; 1C: 14º nó, sem gemas axilares; a mesma condição existe no 15º nó; e gema apical, vegetativa; é possível visualizar uma túnica bi ou trisseriada envolvendo o corpo. 2. Planta do lote que recebeu 15 dias curtos (8h); 2A: Parte do 12º nó, com ramo lateral vegetativo, em alongamento; 2B: Parte do 13º nó, com gema axilar, vegetativa, em início de alongamento para formar um ramo; 2C: Parte do 14º nó, com gema axilar, vegetativa; 2D: 15º nó sem gemas axilares; a mesma condição ocorre no 16º nó; e gema apical, vegetativa, onde se observa a presença de uma túnica bi ou trisseriada, envolvendo o corpo. 3. Planta do lote que recebeu 20 dias curtos (8h); 3A: Parte do 12º nó, com ramo lateral vegetativo, em alongamento, e portando gema acessória, notando-se a existência do corpo envolvido por uma túnica bi ou trisseriada; 3B: Parte do 13º nó, com ramo lateral em alongamento, distinguindo-se uma túnica bi ou trisseriada cobrindo o corpo; 3C: Parte do 14º nó, com inflorescência lateral em desenvolvimento, observando-se os primórdios de flores e de brácteas; 3D: Parte do 15º nó, com gema axilar, mostrando o aspecto de ápice floral, com primórdios de brácteas; 3E: 16º nó, com primórdios de gemas axilares; o 17º nó não apresenta gemas axilares; e gema apical, vegetativa, em fase inicial de área mínima, e com os primórdios das folhas do 18º nó, distinguindo-se a presença de uma túnica, no caso bi ou trisseriada, envolvendo o corpo.

300 μm



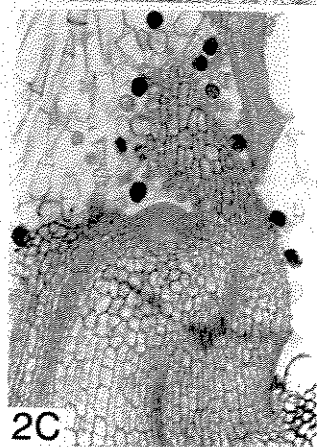
1C



2D



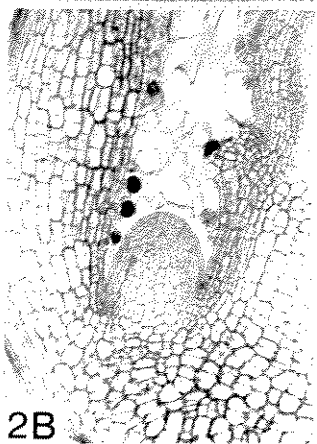
3E



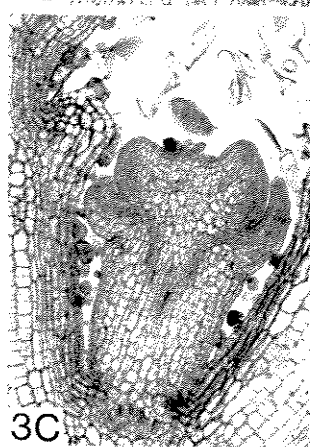
2C



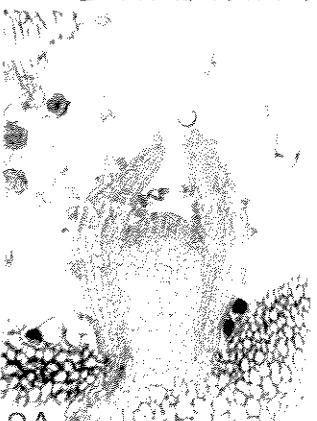
3D



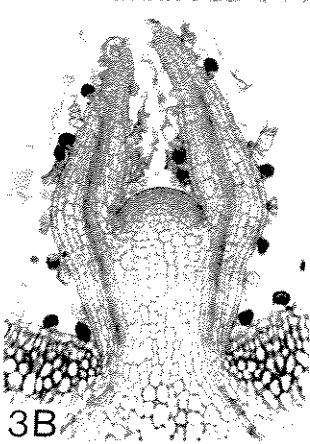
2B



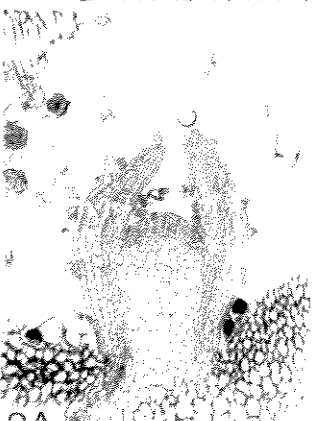
3C



2A



3B



2A



3A



2A



3A

FIGURA 17. Cortes longitudinais medianos das gemas axilares e apicais de plantas de *Hyptis brevipes*. As folhas são opostas cruzadas. Teste histoquímico utilizando "aniline blue-black", para proteína total. Ampliação 50x. 1. Planta do lote mantido sob condições não indutoras de floração (luz contínua); 1A: Parte do 12º nó, com gema axilar, vegetativa; 1B: Parte do 13º nó, com gema axilar, vegetativa; 1C: 14º nó com primórdios de gemas em início de desenvolvimento; o 15º nó não apresenta gemas axilares; e gema apical, vegetativa; nesta, distinguem-se: zona central e zona periférica; a zona central apresenta-se levemente menos corada que a zona periférica; o meristema de fileiras - da medula - não está evidente. 2. Planta do lote que recebeu 15 dias curtos (8h); 2A: Parte do 12º nó, com ramo lateral em alongamento, portando gema acessória; neste ramo, o ápice - vegetativo - mostra: zona central e zona periférica; a zona central apresenta-se com uma coloração um pouco menos intensa, quando comparada com a zona periférica; o meristema de fileiras - da medula - não está conspícuo; 2B: Parte do 13º nó, com gema axilar, vegetativa; 2C: 14º nó, com primórdios de gemas axilares, vegetativas; o 15º nó não apresenta gemas axilares; e gema apical, vegetativa, em uma das fases iniciais de área mínima, e com os primórdios das folhas do 16º nó; observam-se nessa gema a zona central e a zona periférica; esta última está relacionada com a formação dos primórdios foliares, e nela a coloração apresenta-se mais intensa do que na zona central; o meristema de fileiras - da medula - não está evidente. 3. Plantas do lote que recebeu 20 dias curtos (8h); 3A: Parte do 12º nó, com ramo lateral vegetativo, em alongamento, portando gema acessória; 3B: Parte do 13º nó, com ramo lateral, vegetativo, em alongamento; 3C: Parte do 14º nó, com inflorescência lateral em início de formação; a sua parte apical mostra um primórdio de flor cortado longitudinalmente; na parte basal do eixo da inflorescência há uma gema acessória; 3D: Parte do 15º nó, com gema axilar, mostrando o aspecto de um ápice que, aparentemente, está em estágio pré-floral, com possível início de formação das saliências que formarão as brácteas; 3E: 16º nó com primórdios de gemas axilares; o 17º nó não apresenta gemas axilares; e gema apical, vegetativa.

300 μ m

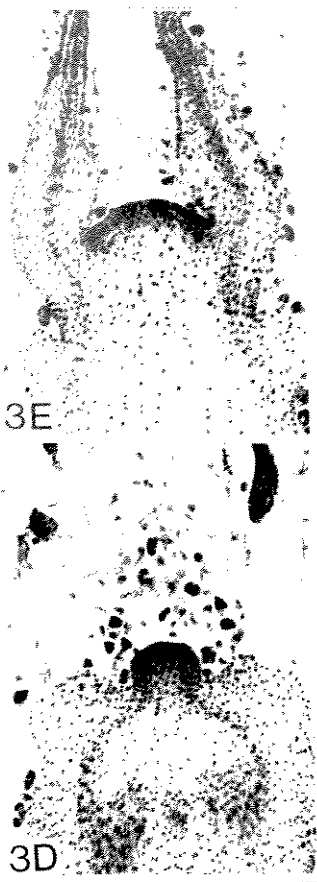
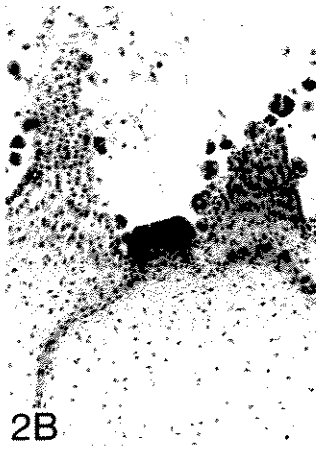
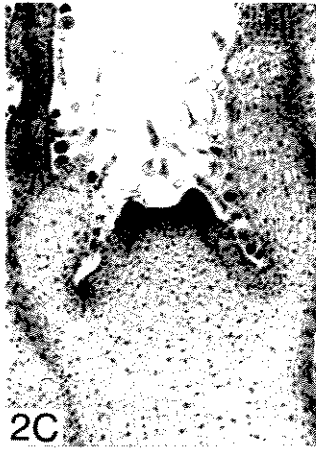
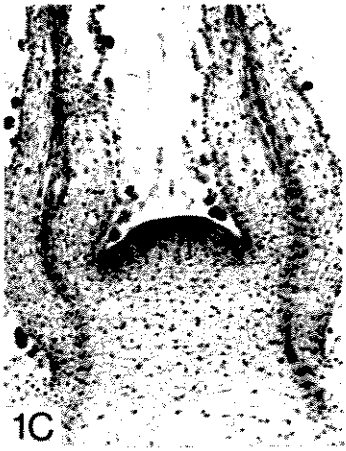
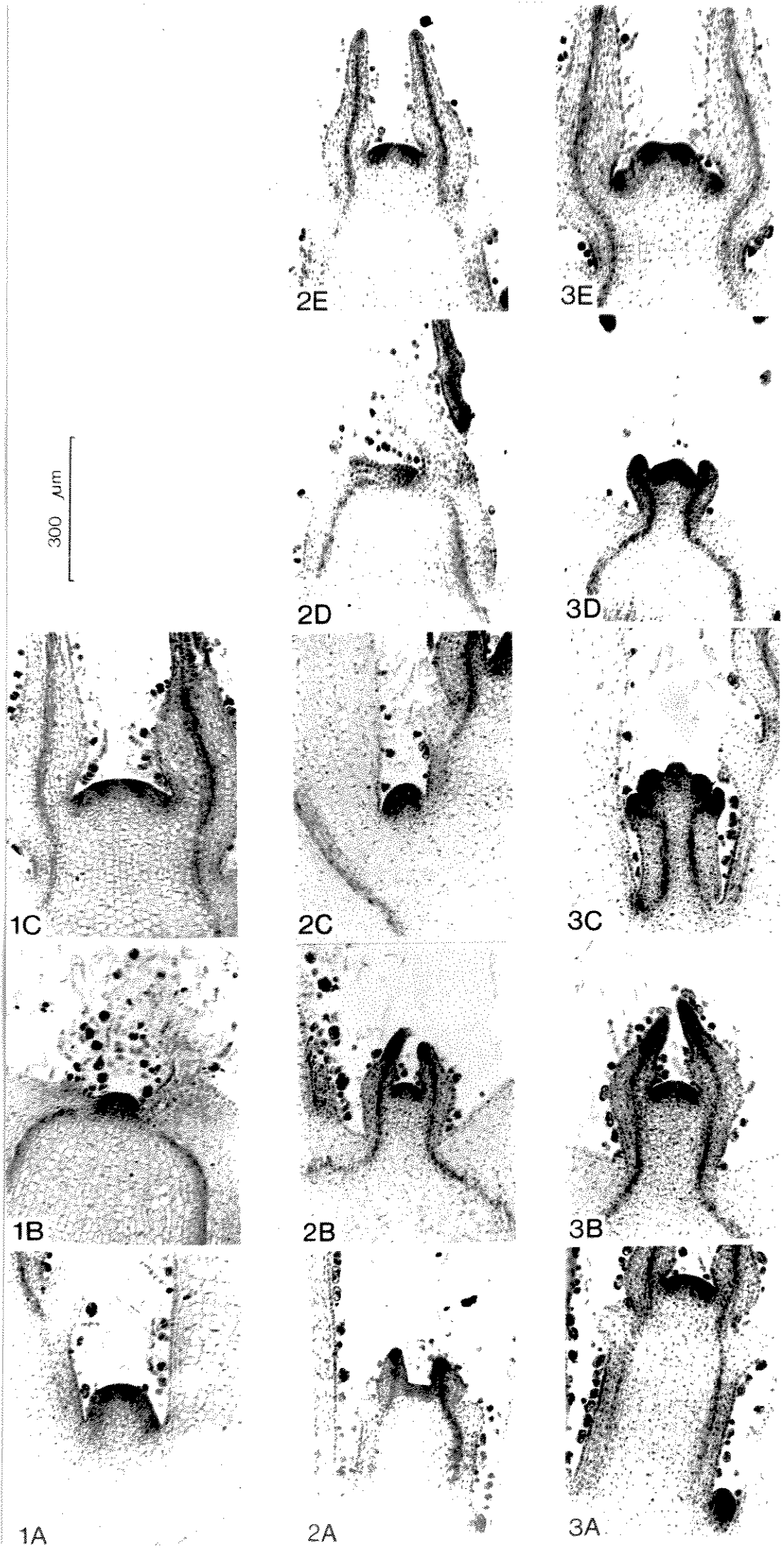


FIGURA 18. Cortes longitudinais medianos das gemas axilares e apicais de plantas de *Hyptis brevipes*. As folhas são opostas cruzadas. Teste histoquímico utilizando "Azure B", para ácidos nucleicos, especialmente ácido ribonucleico (RNA). Ampliação: 50x. 1. Planta do lote mantido sob condições não indutoras de floração (luz contínua); 1A: Parte do 12º nó, com gema axilar, vegetativa, em início de alongamento para formar um ramo; o ápice - vegetativo - mostra uma zona central menos corada que a zona periférica; o meristema de fileiras - da medula - não está conspícuo; 1B: Parte do 13º nó, com gema axilar, vegetativa; 1C: 14º nó, com início de formação de gemas axilares; o 15º nó não apresenta gemas axilares; e gema apical, vegetativa; nesta, nota-se a zona central pouco corada quando comparada à zona periférica; o meristema de fileiras - da medula - não está evidente. 2. Planta do lote que recebeu 15 dias curtos (8h); 2A: Parte do 12º nó, com ramo lateral em alongamento, portando gema acessória; nesse ramo o ápice - vegetativo - está em área mínima; 2B: Parte do 13º nó, com ramo lateral em alongamento; neste, o ápice - vegetativo - mostra a zona central e a zona periférica, esta última densamente corada, quando comparada à primeira; o meristema de fileiras - da medula - não está conspícuo; 2C: Parte do 14º nó, com gema axilar, vegetativa; 2D: Parte do 15º nó, com gema axilar, vegetativa; 2E: 16º nó sem gemas axilares; a mesma condição ocorre no 17º nó; e gema apical, vegetativa; nesta, vêem-se a zona central, menos corada do que a zona periférica; o meristema de fileiras - da medula - não está evidente. 3. Planta do lote que recebeu 20 dias curtos (8h); 3A: Parte do 12º nó, com ramo lateral em alongamento, portando gema acessória; nesse ramo, o ápice - vegetativo - mostra a zona central pouco corada, contrastando com a zona periférica, densamente corada; o meristema de fileiras - da medula - não está conspícuo; 3B: Parte do 13º nó, com ramo lateral em alongamento; neste, o ápice - aparentemente vegetativo - mostra a zona central e a zona periférica; a zona central está um pouco menos corada que a zona periférica; o meristema de fileiras - da medula - não está conspícuo; 3C: Parte do 14º nó, com inflorescência lateral em início de desenvolvimento; 3D: Parte do 15º nó, com gema axilar mostrando o aspecto de ápice floral, apresentando brácteas em início de desenvolvimento; 3E: 16º nó, com primórdios de gemas axilares; o 17º nó não apresenta gemas axilares; e gema apical, vegetativa, em área máxima, mas já originando as saliências que formarão os primórdios das folhas do 18º nó; são vistas, neste ápice, a zona central, pouco corada, contrastando com a zona periférica, in-



de 8 horas é vegetativo, isto é, possui a túnica, que se apresenta bi ou trisseriada, envolvendo o corpo. Tal organização está mais expressiva na figura 16, relacionada com a aplicação do teste "PAS" utilizado para evidenciação de carboidrato total e, nessa figura, está melhor mostrada nos aspectos 3E e 2D, respectivamente, de plantas que receberam 20 e 15 fotociclos indutores e em 1C, de planta vegetativa.

Sobre a organização túnica-e-corpo, impõe-se outra, a do zoneamento cito-histológico, bem evidenciada com a aplicação dos métodos de coloração com safranina e "fast-green" (Figura 15), detecção de proteína total após coloração com "aniline blue-black" (Figura 17) e detecção de ácidos nucleicos, especialmente ácido ribonucleico (RNA), após coloração com "Azure B" (Figura 18), sendo mais expressiva nesse último teste histoquímico. De um modo geral, o zoneamento cito-histológico inclui: a zona central, abrangendo a porção axial da túnica e as porções superior e central do corpo; a zona periférica, constituída de uma porção da túnica, nos flancos do ápice e de uma porção do corpo; e o chamado meristema de fileiras, contíguo à parte basal da zona central.

Em *H. brevipes*, tanto nos ápices das gemas apicais das plantas que receberam 20 e 15 fotociclos de 8 horas, como nas vegetativas, a zona central e a zona periférica do zoneamento cito-histológico, acima descrito, são visíveis, mas o meristema de fileiras não é evidente (Aspectos 1C, 2D e 3E da figura 15; 1C e 2C da figura 17; 1C, 2E e 3E da figura 18).

Modificações morfológicas externas e internas relacionadas com a resposta das plantas ao estímulo floral são realmente detectadas somente nas gemas axilares; assim, nas plantas que receberam 20 dias curtos, observa-se o processo de desenvolvimento das gemas florais ocorrendo acropeamente, a partir de um determinado nó (Aspectos 3B, 3C, 3D e 3E da figura 15 e 3C, 3D e 3E das figuras 16, 17 e 18).

Observando-se os nós das plantas que recebem 20 fotociclos, nota-se que, acima de um determinado nó, o qual contém um ramo vegetativo em alongamento, os demais possuem, sucessivamente, em direção ao ápice do eixo principal da planta, inflorescências em formação (Aspectos 3B e 3C da figura 15 e 3C das figuras 16, 17 e 18), gemas em estágio floral, portando brácteas em desenvolvimento (Aspectos 3D das figuras 15, 16 e 18) e gemas em estágio pré-floral (Aspecto 3D - aparentemente - da figura 17). Ao que parece, um manto de vários estratos de células meristemáticas organiza-se já nas gemas em estágio pré-floral. A partir desse manto, que se cora densa e homogeneamente nos métodos que utilizam safranina e "fast-green", "aniline blue-black" e "Azure B" (respectivamente empregados nas observações de estrutura, detecção de proteína total e ácidos nucleicos - em especial RNA) é que se formam as brácteas que caracterizam as gemas em estágio floral (Aspectos 3D das figuras 15, 16 e 18) e os primórdios de flores das inflorescências em desenvolvimento (Aspectos 3B e 3C da figura 15 e 3C das figuras 16, 17 e 18). Estruturalmente - convém salientar - a gema floral contém, tipicamente, um manto constituído por células pequenas, meristemáticas, cobrindo um miolo de células vacuoladas (Aspectos 3D das figuras 15, 16, 17 e 18).

Na gema apical de cada ramo em alongamento, presente no nó situado imediatamente abaixo daquele em que aparece a inflorescência em desenvolvimento, podem ser observadas as organizações de ápice vegetativo, isto é, o conjunto túnica-e-corpo, bem evidenciado com a utilização do teste "PAS" para carboidrato total (Aspectos 3A e 3B da figura 16) e o zoneamento cito-histológico (Aspectos 3A e 3B da figura 18).

Nas plantas vegetativas e nas que receberam 15 fotociclos, as gemas axilares têm aparência essencialmente vegetativa (Aspectos 1A, 1B, 2A, 2B, 2C da figura 15; 1A, 1B, 2B, 2C da figura 16; 1A, 1B, 2B da figura 17; 1A, 1B,

2C, 2D da figura 18). Nas mesmas plantas, nas gemas que es t ão em início de alongamento para formar ramos e nos ramos que estão em alongamento, o ápice apresenta a organização do conjunto túnica-e-corpo (Aspecto 1A da figura 16) e a organização do zoneamento cito-histológico (Aspectos 2A da fi gu ra 17; 1A e 2B da figura 18).

Não foi observada a presença de grãos de ami do nas gemas apicais e nem nas axilares, em todos os lotes de plantas examinados. Na figura 16, que se refere à detecção de carboidrato total, estão sendo mostrados aspectos das plantas vegetativas (1A, 1B, 1C), das que receberam 15 fotociclos (2A, 2B, 2C, 2D) e daquelas que receberam 20 fo to ci cl os (3A, 3B, 3C, 3D, 3E), confirmando essa afirmação.

2.4. Efeito do número de ciclos indutores e da temperatura

Em plantas que receberam 10, 20 e 30 dias curtos de oito horas às temperaturas de 15°C e 25°C , re to r n a n do em seguida para condições de dias longos de 20 horas e temperatura de 20°C , observou-se que com 10 DC, obteve-se floração em 60% das plantas que receberam o tratamento fo to p e r i ó d i c o à temperatura de 25°C (Tabela 7). A partir de 20 DC, a floração ocorreu em todas as plantas, independentemente da temperatura fornecida.

Além da porcentagem de floração, contou-se também o número de inflorescências que cada planta ap r e s e n t ou e esse resultado está mostrado na figura 19. Conforme pode-se verificar, a temperatura de 25°C foi significativamente mais favorável para a floração. Verifica-se também que 30 ciclos indutores a 15°C provocam a formação do mesmo número de inflorescências que a 25°C , porém com apenas 20 ciclos indutores.

Quando se conta o número de nós do eixo pr i n c i p a l da planta que apresentam inflorescências, obtêm-se duas retas, independentemente da temperatura ensaiada, d e m o n s t r a n d o mostrando haver uma proporcionalidade direta entre o nú m e r o

TABELA 7. Floração de plantas de *Hyptis brevipes* submetidas a diferentes números de ciclos indutores, em duas temperaturas.

n. ^o de ciclos indutores	% de plantas em floração	
	15 ^o C	25 ^o C
0	0	0
10	0	60
20	100	100
30	100	100

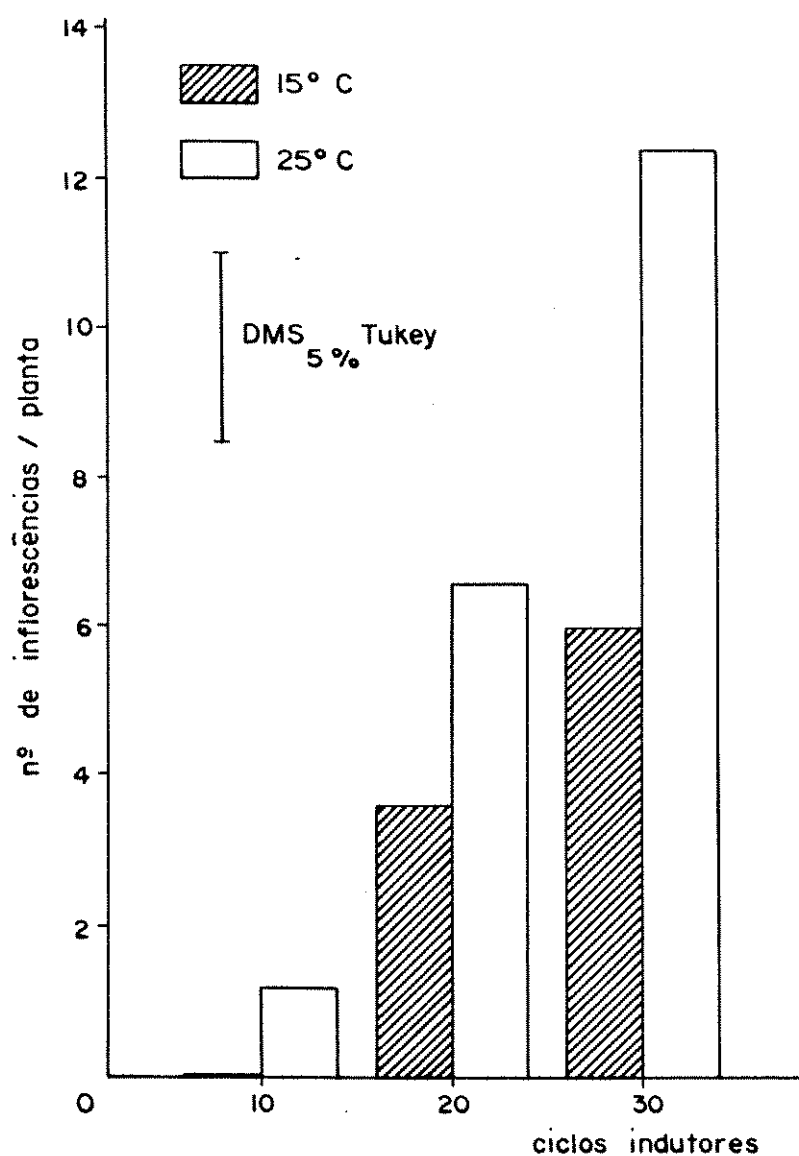


FIGURA 19. Floração em *Hyptis brevipes* - efeito da temperatura e do número de ciclos indutores no número de inflorescências por planta.

ro de ciclos indutores e a intensidade de floração (Figura 20). Calculando-se a velocidade (b) do aparecimento de nós com inflorescências em relação ao número de ciclos indutores fornecidos, observa-se que a 25°C essa velocidade é maior do que a 15°C.

Tendo em vista os resultados descritos acima, a fim de se estabelecer o número mínimo de ciclos indutores necessários para provocar a indução floral, plantas foram colocadas em dias curtos de oito horas por 5, 10, 15 e 20 dias, às temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C. Os resultados foram obtidos 28 dias após o final dos tratamentos.

Confirmando o resultado descrito anteriormente, verificou-se que a floração só é induzida com um mínimo de 10 DC (Figura 21). Contando-se os nós do eixo principal da planta que apresentam inflorescências, verifica-se novamente uma resposta quantitativa de floração (quanto mais ciclos indutores são fornecidos, maior a resposta de floração).

Quando utilizou-se como medida de floração o índice floral, verificou-se que com 5 DC não há início de floração, que principia apenas após o fornecimento de 10 DC às plantas e que, tal como foi verificado para as outras medidas de floração utilizadas, também existe uma forte proporcionalidade entre o número de ciclos indutores recebidos e o desenvolvimento da inflorescência (Figura 22). Como com 5 DC não se obteve floração e com 10 DC o índice floral foi cerca de 2,6, provavelmente o número mínimo de ciclos indutores esteja entre 5 e 10 DC. Por outro lado, a temperatura parece não afetar o desenvolvimento da inflorescência da espécie estudada, pelo menos dentro da faixa de 20°C a 30°C.

Inflorescências em desenvolvimento de plantas induzidas (5 plantas) foram examinadas ao microscópio estereoscópico e, utilizando-se o índice floral, foram montadas as tabelas 8, 9 e 10. As tabelas foram construídas

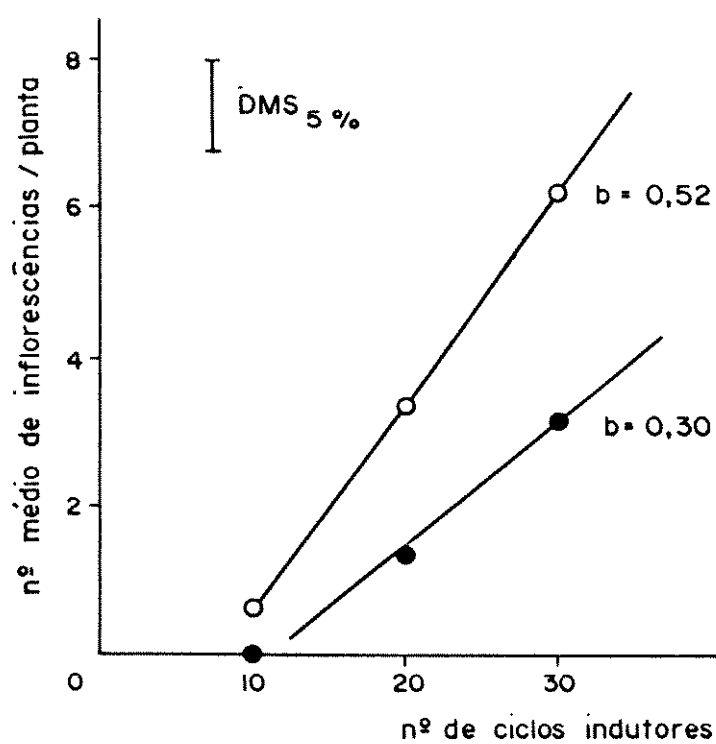


FIGURA 20. Floração em *Hyptis brevipes* - efeito da temperatura e do número de ciclos indutores no número de nós do eixo principal que apresentaram inflorescências.
25°C (○); 15°C (●).

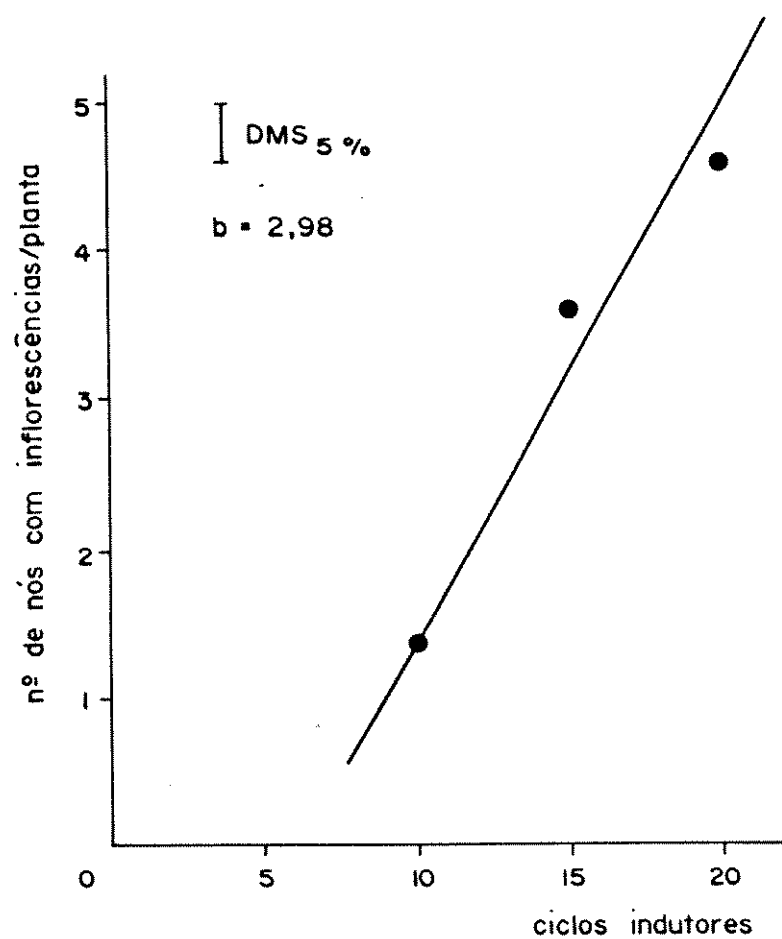


FIGURA 21. Efeito do número de ciclos indutores no total de nós com inflorescências de *Hyptis brevipes*.

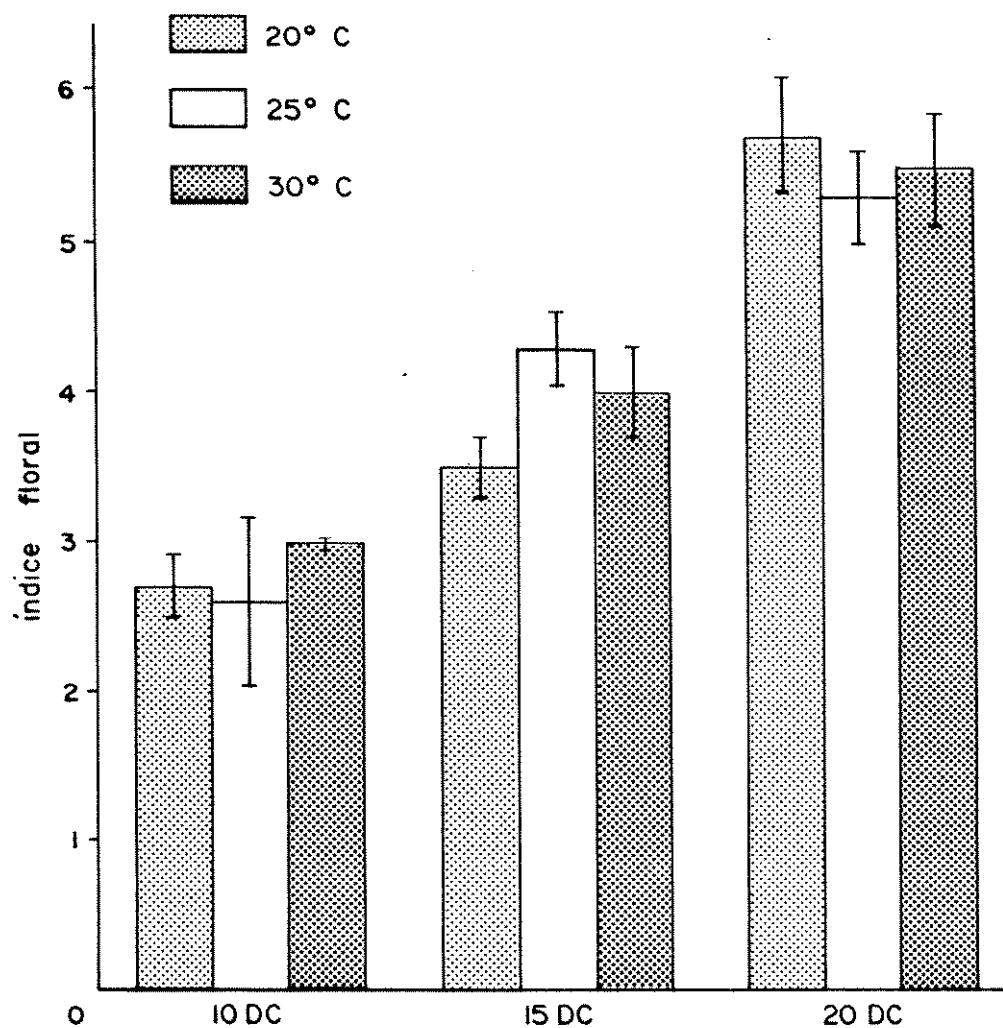


FIGURA 22. Efeito do número de ciclos indutores e da temperatura no desenvolvimento da inflorescência de *Hyptis brevipes*. As barras verticais referem-se aos intervalos de confiança.

TABELA 8. Efeito do número de dias curtos no desenvolvimento da inflorescência de *Hyptis brevipes*, à temperatura de 20°C.
 Cada uma das inflorescências está representada por x e o traço que liga duas inflorescências significa que pertencem ao mesmo nó (5 plantas por tratamento).

TEMPERATURA DE 20°C

ÍNDICE	10 DIAS CURTOS					15 DIAS CURTOS					20 DIAS CURTOS				
	planta número					planta número					planta número				
FLORAL	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
															
															
															
															
															
															
															
															

TABELA 9. Efeito do número de dias curtos no desenvolvimento da inflorescência de *Hyptis brevipes*, à temperatura de 25°C. Cada uma das inflorescências está representada por x e o traço que liga duas inflorescências significa que pertencem ao mesmo nó (5 plantas por tratamento).

TABELA 10. Efeito do número de dias curtos no desenvolvimento da inflorescência de *Hyptis brevipes*, à temperatura de 30°C.
Cada uma das inflorescências está representada por x e o traço que liga duas inflorescências significa que pertencem ao mesmo nó (5 plantas por tratamento).

TEMPERATURA DE 30°C

ÍNDICE	10 DIAS CURTOS					15 DIAS CURTOS					20 DIAS CURTOS				
	planta	planta	planta	planta	planta	planta	planta	planta	planta	planta	planta	planta	planta	planta	
FLORAL	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
															
															
															
															
															
															
															
															
															

de modo que as inflorescências mais desenvolvidas (com índice floral maior) ficassem na parte inferior da tabela, tal qual ocorre no eixo principal da planta. São mostradas apenas as gemas florais em desenvolvimento; evidentemente, acima e abaixo delas estão nós com gemas vegetativas.

De maneira geral, as respostas obtidas foram bastante homogêneas nas três temperaturas ensaiadas. Verificou-se que, dos cento e quarenta pares de gemas examinados, apenas em 11 pares as duas gemas não apresentaram o mesmo grau de desenvolvimento, 50% dos quais em plantas que foram induzidas a 20°C. Observa-se também que quanto mais tempo uma gema floral permanece em condições de dias curtos, maior é o seu desenvolvimento, confirmando que em *H. brevipes* a resposta de floração é realmente quantitativa.

2.5. Maturidade para floração

Utilizando-se plantas mantidas desde a germinação em DC ou em LC e transferindo-se, a cada novo par de folhas, para LC ou DC (respectivamente) até o aparecimento do 5º par de folhas, verificou-se que todas as plantas que permaneceram desde o 1º ao 3º par de folhas em DC sendo então transferidas para LC não floresceram (Tabela 11).

A partir do 4º par de folhas, as plantas em DC já apresentavam botões florais macroscópicos e não mais foram transferidas para LC. Todas as plantas que foram transferidas ainda jovens (com 1 a 4 pares de folhas) de LC para DC floresceram, porém houve atraso na floração, uma vez que as primeiras gemas florais surgiram em nós cada vez mais altos em relação à base da planta. As plantas que permaneceram em LC não floresceram.

TABELA 11. Número mínimo de pares de folhas necessários para o aparecimento de botões florais em *Hyptis brevipes*.

pares de folhas no dia da transferência	% de floração		nó em que apareceu a 1ª inflorescência		dias para o início da floração*	
	DC→DL	DL→DC	DC→DL	DL→DC	DC→DL	DL→DC
1	0	100	-	5º	-	107
2	0	100	-	5º	-	107
3	0	100	-	7º	-	118
4	100	80	4º**	9º	90	130
5	100	70	4º**	12º	90	153

* Dias contados a partir da semeadura

** As plantas já estavam com botões florais à época da transferência para dias longos

2.6. Efeito de dias longos

O efeito de dias longos na floração de *H. brevipes* foi verificado quando se intercalaram diferentes números de dias longos de 20 horas num total de 24 dias curtos. Os resultados obtidos estão mostrados na tabela 12.

Um único DL diminuiu em 40% o número de inflorescências no eixo principal da planta, além de diminuir consideravelmente o número total de inflorescências e de atrasar a floração em sete dias. Esse dia longo foi dado entre dois grupos de 12 DC. Pelos resultados já mostrados, com 12 DC a planta já estaria induzida e os doze dias curtos subsequentes deveriam promover o aparecimento de novos botões florais e/ou o desenvolvimento daqueles formados na primeira etapa da indução. Esse único dia longo teve, então, um forte efeito inibidor, que se manifesta melhor quando três ou mais DL foram fornecidos.

O efeito inibidor de dias longos manifesta-se no desenvolvimento da inflorescência. Esse efeito pode ser visto na figura 23 A e B. Em A, vê-se uma planta que foi induzida por 20 dias curtos (DC), voltando a seguir para condições de dias longos de 20 horas; conforme pode-se verificar, houve formação de gemas florais em quatro nós, que se apresentam em diferentes estádios de desenvolvimento, os menos desenvolvidos próximos ao ápice da planta. Em B, vemos parte de uma planta induzida à mesma época, porém que permaneceu em dias curtos, mostrando pleno desenvolvimento das inflorescências.

TABELA 12. Efeito de diferentes números de dias longos (DL) de 20 horas intercalados num total de 24 dias curtos (fotoperíodo de oito horas), à temperatura de 25°C, na floração de *Hyptis brevipes*.

nº de DL	nº médio de inflorescências no eixo principal	nº médio total de inflorescências	aparecimento do 1º botão floral (dias)*
0	7,7	18,1	19
1	4,7	7,1	26
3	0,0	0,0	—
7	0,0	0,0	—
23	0,0	0,0	—

* contados a partir do início do tratamento.



FIGURA 23. Efeito inibidor de dias longos no desenvolvimento da inflorescência de *Hyptis brevipes*. A. Parte de uma planta induzida por 21 dias curtos e transferida para dias longos, mostrando inflorescências nos 4 nós mais basais. B. Parte de uma planta controle, que permaneceu em DC. Foto tirada 40 dias após o final da indução.

2.7. Floração em estacas

Estacas enraizadas, medindo de 8 a 10cm de comprimento e com cerca de três nós, provenientes de plantas de *H. brevipes* mantidas em condições de DL foram induzidas à floração por 20 DC. Os resultados obtidos (Tabela 13 mostram que o número médio de inflorescências produzidas independe da origem da estaca. O número de inflorescências aparentemente maior nas estacas mediana e basal deve-se ao fato de que, com a quebra de dominância apical, dois ramos laterais se desenvolvem, produzindo inflorescências.

2.8. Efeito de reguladores de crescimento

O efeito de alguns reguladores de crescimento na floração de *H. brevipes* foi visto em dois experimentos. Num deles, as substâncias hormonais foram aplicadas com microagulhas em plantas provenientes de estacas e em condições de dias longos e curtos. Não foi notada diferença entre as plantas tratadas e as plantas-controle, florescendo todas as que estavam em dias curtos e permanecendo vegetativas as que receberam apenas dias longos.

Quando os reguladores de crescimento foram aplicados antes, durante e após a indução floral por 18 DC (Tabela 14), observamos novamente que essas substâncias não tiveram efeito na floração (nem inibiram, nem promoveram), independentemente da época de aplicação. Como nesse caso a floração foi medida pelo índice floral, pequenas diferenças poderiam ser detectadas, o que não aconteceu.

TABELA 13. Floração em estacas enraizadas de *Hyptis brevipes*.

	% de floração	nº médio de inflorescências / estacas
Estaca apical	100	5,66
Estaca mediana	100	10,22
Estaca basal	100	10,11
Planta intacta	100	6,88

3. VARIAÇÃO DURANTE 24 HORAS NOS NÍVEIS DE AÇÚCARES SOLÚVEIS E AMIDO EM FOLHAS DE PLANTAS MANTIDAS SOB CONDIÇÕES DE DIAS CURTOS E DE LUMINOSIDADE CONTÍNUA

3.1. Análise quantitativa

Os teores de açúcares solúveis redutores e totais e de amido das folhas são mostrados na figura 24.

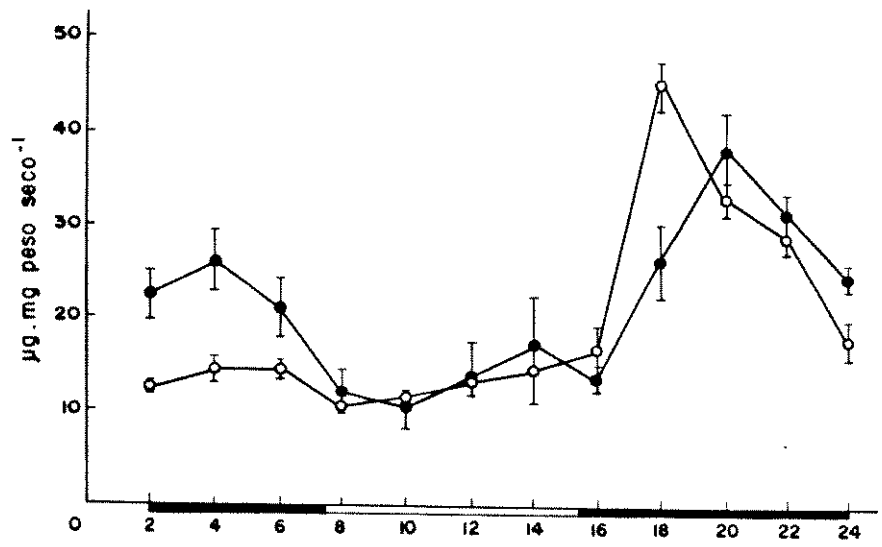
No período em que os dois grupos de plantas permaneceram na luz, não houve diferenças no teor de açúcares redutores (Figura 24A) dos dois grupos de plantas. Às 18 horas, ocorre um rápido aumento de açúcares redutores nas plantas em luz contínua; nas plantas do tratamento em dias curtos, esse aumento máximo é retardado por duas horas, permanecendo o teor desses açúcares mais alto, durante a segunda metade da noite longa. Comparando-se as partes A e B da figura 24, verifica-se que uma grande proporção dos açúcares solúveis é composta por açúcares redutores, especialmente nas plantas em dias curtos.

Quanto às variações quantitativas observadas nos açúcares solúveis totais das plantas mantidas nas duas condições fotoperiódicas (Figura 24B), verifica-se que são semelhantes, ocorrendo níveis significativamente mais elevados nas plantas que permaneceram sob luz contínua. No decorrer do período de 24 horas, observa-se uma queda no teor dos açúcares solúveis entre 8 e 16 horas e uma subsequente e rápida elevação por volta de 18 horas, tanto nas plantas em dias curtos como em luz contínua.

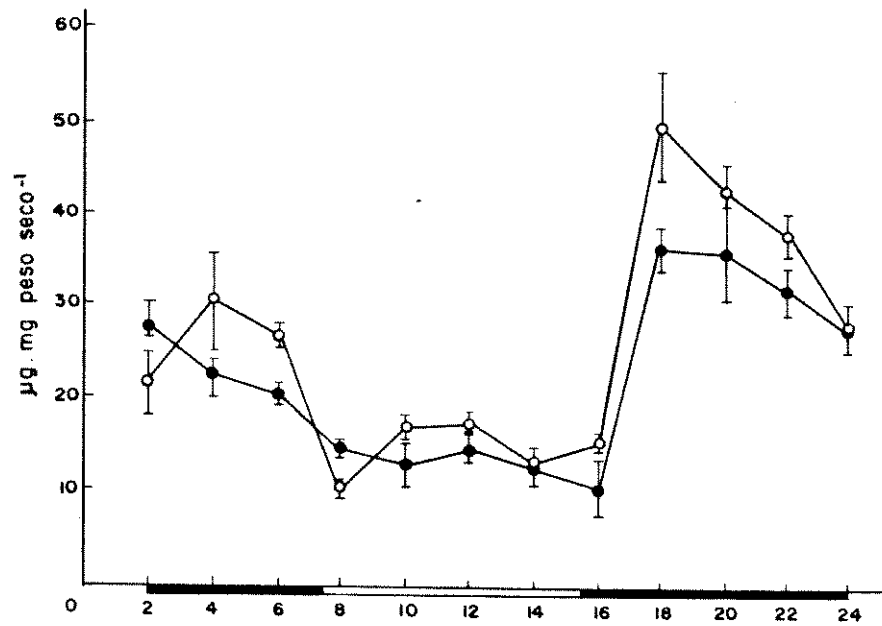
No que diz respeito ao amido (Figura 24C), encontramos uma curva praticamente inversa àquela apresentada pelos açúcares solúveis: o teor de amido permaneceu alto até às 12 horas; às 14 horas, foi registrada uma violenta diminuição, que se manteve até às 24 horas. Plantas sob

FIGURA 24. Conteúdo de carboidratos em folhas de *Hyptis brevipes* sob duas condições fotoperiódicas, durante 24 horas.
A: Açúcares redutores; B: Açúcares solúveis totais; C: Amido.
As barras pretas na abscissa referem-se ao período de escuro no tratamento de dias curtos. Linhas verticais correspondem aos intervalos de confiança.
Luz contínua (○); dias curtos (●).

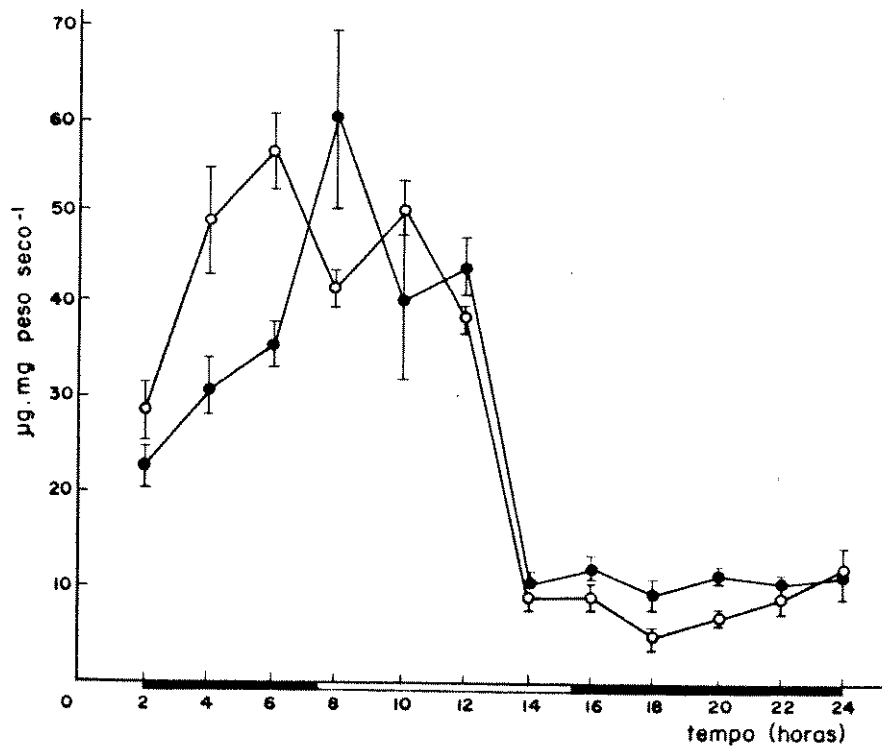
A



B



C



luz contínua possuem teores mais altos de amido do que as plantas mantidas em fotoperíodo curto apenas nas primeiras horas do período de observação, período esse que corresponde à segunda metade da noite longa para as plantas em dias curtos.

3.2. Análise dos açúcares

A análise cromatográfica dos extratos brutos de folhas de plantas em dias curtos e sob luz contínua revelou a presença de oligossacarídeos e de alguns monossacarídeos, conforme pode ser observado na tabela 15. Nessa tabela está mostrada a identificação dos açúcares presentes nos extratos, em três diferentes sistemas de solventes e com o uso de reveladores específicos. Assim, foram identificados, por comparação, os seguintes açúcares: estaquiose, rafinose, melibiose, sacarose, galactose, glucose, manose e frutose, além de um outro composto, que ocorre em quantidades relativamente elevadas, não identificado (R_f 0,22 e 0,40, respectivamente em Acet. Etila: Ácido acético: Piridina: Água e em Butanol: Piridina: Água).

Na figura 25, pode ser observado o resultado da análise densitométrica dos cromatogramas, após revelação com solução alcalina de nitrato de prata. Durante o período de 24 horas, ocorrem flutuações nos diferentes carboidratos, sendo observada, nas plantas em dias curtos, às 8 e às 20 horas, maior intensidade de reação com o nitrato de prata alcalino nos oligossacarídeos (considerando-se entre eles um composto não identificado). Às 10 horas, há maior intensidade de reação para os monossacarídeos das plantas em luz contínua. A porcentagem relativa de cada composto está mostrada na tabela 16. Em termos de porcentagem relativa, a glucose é o açúcar que aparece com maior intensida

TABELA 15. Identificação dos carboidratos de folhas de *Hyptis brevipes* através de seus Rgs, em 3 solventes.

A Ç Ú C A R	S I S T E M A D E S O L V E N T E S					
	Propanol:Acet.Etila:H ₂ O (7:1:2)		Acet. Etila:Ác.acét.:Piridina:H ₂ O (12:3:3:2)		Butanol:Piridina:H ₂ O (6:4:3)	
	Rg Padrão	Rg Extrato	Rg Padrão	Rg Extrato	Rg Padrão	Rg Extrato
Estaquiose	0,17	0,19	0,01	0,01	0,14	0,13
Rafinose	0,36	0,38	0,07	0,07	0,45	0,44
Melibiose	0,47	0,48	0,13	0,16	-	-
Não identif.	-	-	-	0,22	-	0,40
Sacarose	0,82	0,83	0,31	0,31	0,85	0,86
Galactose	0,91	0,93	0,90	0,93	0,89	0,90
Glucose	1,00	1,04	1,00	1,08	1,00	1,00
Manose	-	-	1,38	1,34	1,05	1,07
Frutose	1,19	1,12	1,59	1,57	1,17	1,14

- = não detectado

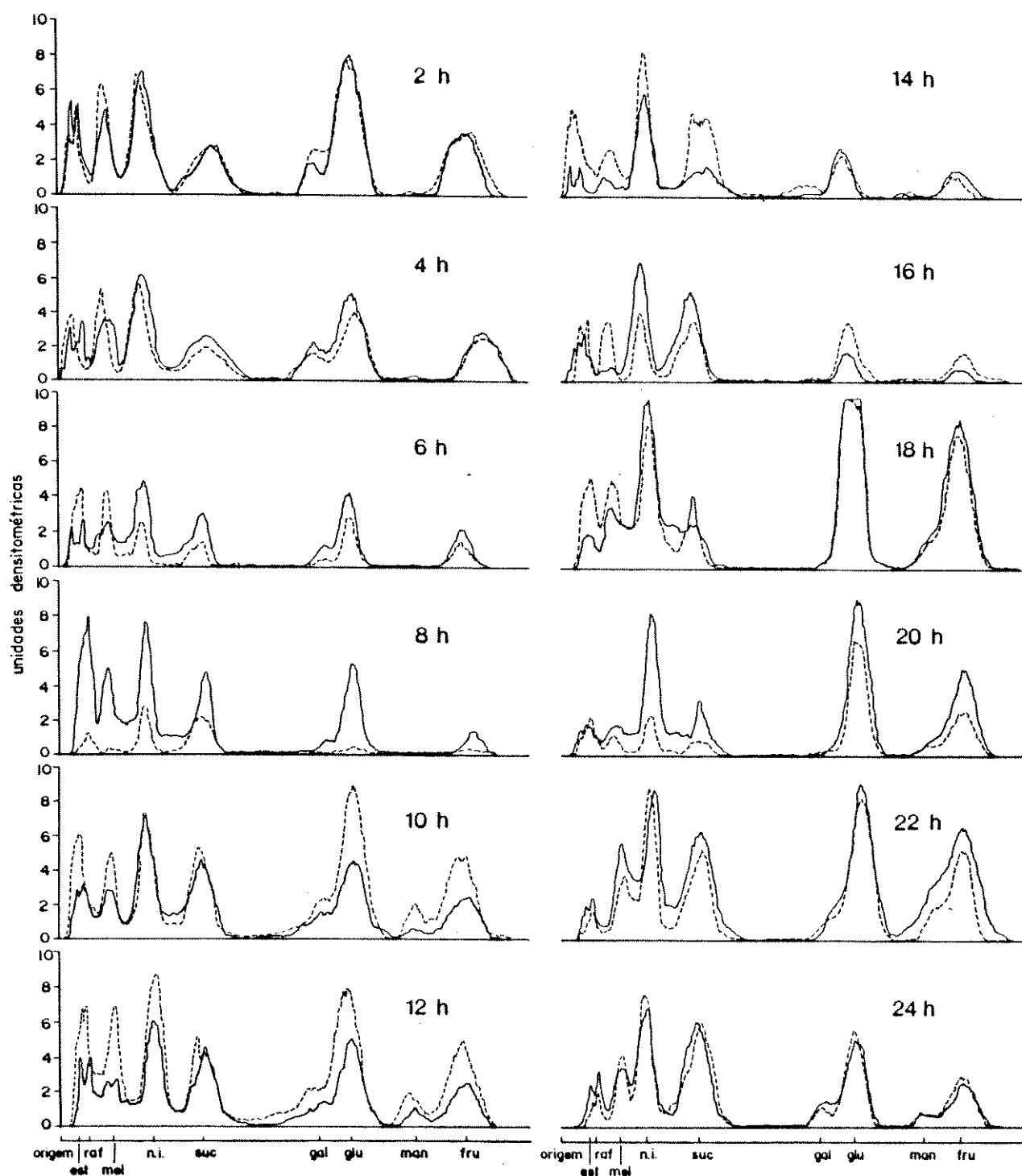


FIGURA 25. Densitogramas dos cromatogramas de carboidratos de folhas de *Hyptis brevipes* em dias curtos (—) e luz contínua (---), durante 24 horas. Sistema de solventes: Acetato de Etila:Ácido acético:Piridina:Água (60:15:15:10). Uma unidade densitométrica corresponde aproximadamente a 2,0µg de glucose, a 2,5µg de galactose, a 2,2µg de manose e a 6,0µg de frutose.

TABELA 16. Proporção relativa (%) das intensidades das manchas dos carboidratos presentes nas folhas de *Hyptis brevipes*, em condições de dias curtos e sob luz contínua, durante 24 horas. Dados não corrigidos para as diferenças molares nas intensidades.

H O R A S	% R E L A T I V A								
	Estaquiose	Rafinose	Melibiose	N.I.	Sacarose	Galactose	Glucose	Manose	Frutose
2h DC	4,71	5,05	9,30	16,55	14,11	5,92	27,68	-	16,66
LC	3,00	4,69	11,60	15,60	13,50	7,90	23,44	0,63	19,64
4h DC	2,74	3,94	9,48	18,77	22,21	6,77	20,57	1,38	14,13
LC	4,93	4,88	12,54	16,71	13,94	10,09	18,92	-	17,98
6h DC	4,48	6,65	16,30	19,57	15,87	5,98	20,50	-	10,64
LC	5,22	24,54	16,09	11,31	9,46	3,41	18,33	-	11,99
8h DC	9,17	14,39	11,35	16,96	16,57	3,68	21,22	-	6,65
LC	1,59	13,64	4,92	21,12	31,65	-	12,12	-	14,96
10h DC	3,00	6,15	7,86	21,74	19,10	5,96	20,10	3,51	12,57
LC	4,35	5,23	6,84	12,96	13,05	6,56	27,14	4,78	19,07
12h DC	4,13	5,35	8,59	17,81	18,12	6,97	20,83	5,16	13,05
LC	4,63	3,45	10,55	17,52	12,59	7,12	22,63	4,61	16,89
14h DC	2,79	1,81	5,05	31,99	25,91	1,21	17,20	1,36	12,67
LC	7,22	7,99	8,74	25,36	29,31	4,38	10,04	1,38	5,58
16h DC	5,22	5,88	3,96	31,16	37,01	1,02	9,81	0,76	5,15
LC	5,73	7,56	14,46	16,21	25,93	1,41	19,20	-	9,48
18h DC	2,45	1,65	5,92	18,68	8,96	0,40	34,81	3,03	24,08
LC	2,59	5,22	8,49	12,96	6,07	-	40,75	2,57	21,35
20h DC	1,13	4,14	4,12	21,81	9,47	0,58	34,13	2,88	21,73
LC	0,98	3,36	3,21	6,59	4,68	0,80	64,07	2,82	13,47
22h DC	1,42	1,89	7,79	13,81	19,43	3,94	23,04	7,65	21,02
LC	0,37	2,57	7,27	20,95	20,45	2,86	21,41	4,04	20,08
24h DC	3,81	4,12	11,06	20,99	18,65	5,03	21,26	2,44	12,64
LC	2,42	2,44	8,90	20,55	27,49	3,66	19,57	2,70	12,24

- = não detectado
N.I. = não identificado

de de reação com o nitrato de prata, seguida de um composto não identificado e da frutose. Algumas variações grandes individuais entre os açúcares de plantas em dias curtos e luz contínua foram notadas, tais como: a estaquiose e a melibiose, às 8 horas; a rafinose, às 14 horas; a melibiose e um composto não identificado, às 16 horas; a glucose e um composto não identificado, às 20 horas. É conveniente mencionar ainda que para a confecção da figura 25 e da tabela 16, não foram corrigidos os valores dos diferentes açúcares analisados, em termos do seu poder redutor. Esses valores foram calculados para os monossacarídeos, conforme mencionado na legenda da figura 25. Para os oligossacarídeos, não puderam ser calculados, uma vez que só são revelados após aquecimento, sendo difícil controlar o tempo de exposição ao vapor d'água e, conseqüentemente, a intensidade da mancha obtida.

A proporção relativa (Figura 26) entre os valores calculados para mono e oligossacarídeos (esses com valores não corrigidos) revelou ser positiva em favor dos últimos, em praticamente todas as horas do dia e nas duas condições fotoperiódicas. Em dias curtos, o maior aumento na proporção oligossacarídeos:monossacarídeos ocorreu duas horas depois que em luz contínua, no início da noite longa.

3.3. Características do composto não identificado, presente nos extratos foliares.

Depois da glucose, que é o açúcar que ocorre em maior quantidade, em termos de porcentagem relativa, é esse o composto que aparece em teores bastante representativos (Tabela 16) nos extratos de folhas. Essa substância só é revelada após aquecimento, no método que utiliza o nitrato de prata alcalino. Apresenta um R_g baixo (Tabela 15),

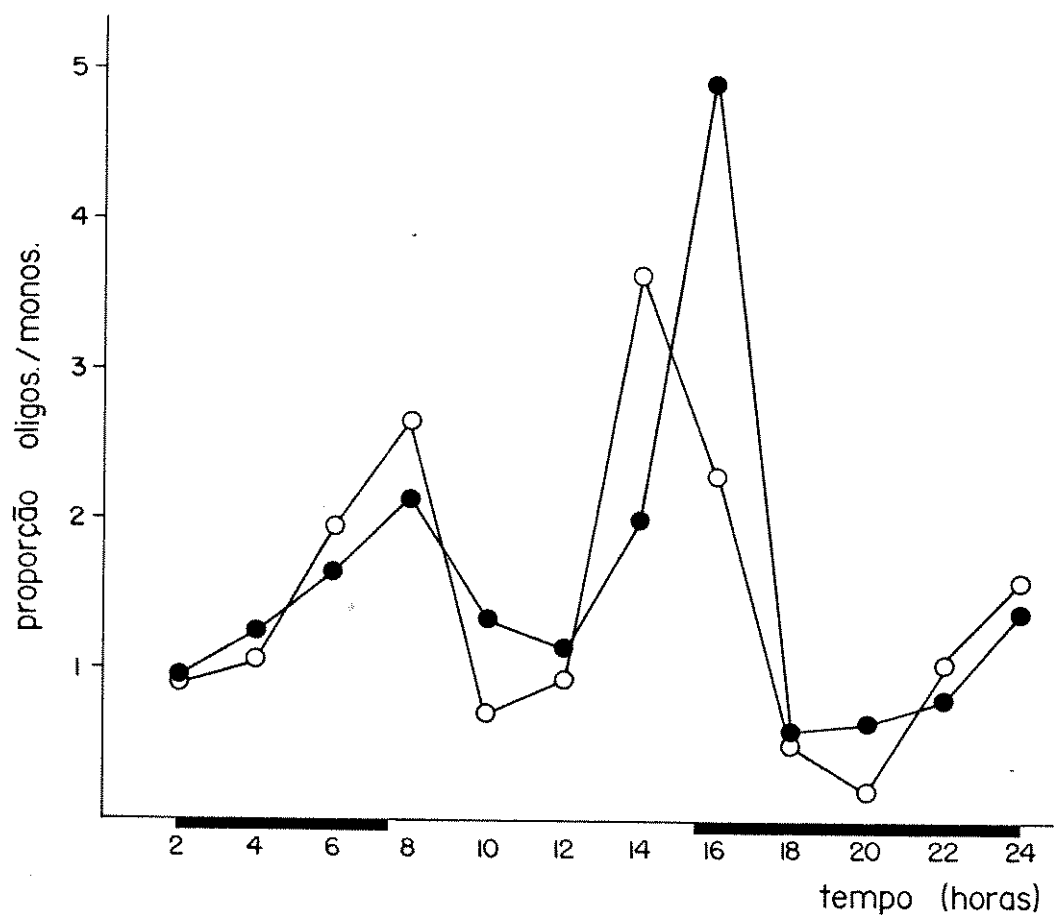


FIGURA 26. Proporção relativa das intensidades das manchas de oligossacarídeos/monossacarídeos dos cromatogramas de extratos foliares de *Hyptis brevipes* em dias curtos (●) e luz contínua (○), durante 24 horas.

localizando-se no cromatograma entre a melibiose e a sacarose, isto é, entre dois dissacarídeos. Por hidrólise ácida com TFA, constatou-se (por cromatografia e posterior revelação) a presença dos seguintes monossacarídeos em pequenas proporções: glucose, galactose e frutose, permanecendo com R_g inalterado a maior quantidade do composto de partida.

A substância fluoresce sob luz UV, porém essa fluorescência foi perdida após a hidrólise ácida. Foi constatada reação positiva para grupamentos NH₂ tanto antes como após a hidrólise ácida do composto.

3.4. Abertura estomática

Conforme pode ser verificado na Figura 27, os estômatos de *H. brevipes*, localizados na epiderme inferior, permanecem parcialmente abertos durante a maior parte do período de observação. Fecham-se por volta das 18 horas, mas nas plantas em dias curtos, voltam a se abrir às 20 horas, assim permanecendo por todo o período de escuro. Plantas sob luz contínua permanecem com os estômatos parcialmente fechados, entre às 18 e às 24 horas; a seguir, voltam a se abrir, prosseguindo o ritmo endógeno de abertura/fechamento estomático.

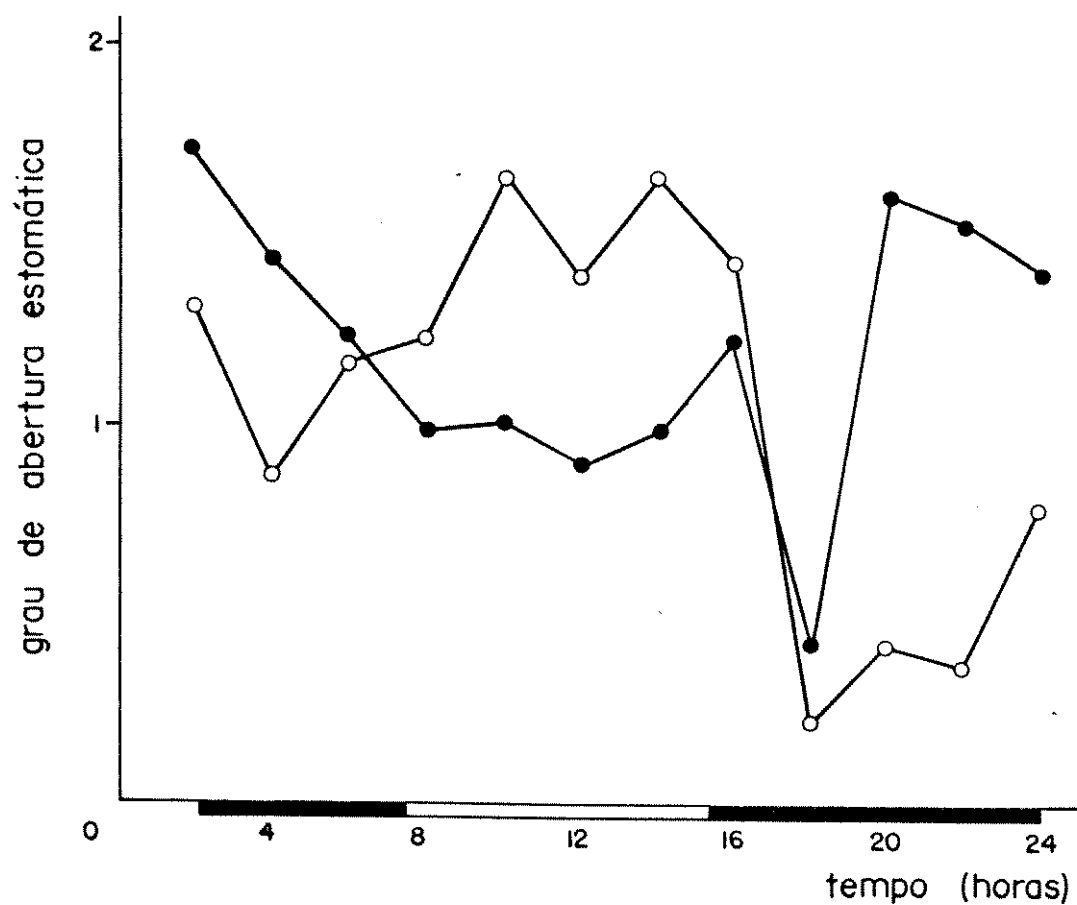


FIGURA 27. Abertura estomática em folhas de *Hyptis brevipes* sob duas condições fotoperiódicas: luz contínua (O) e dias curtos (●). As faixas pretas na abscissa referem-se ao período de escuro no tratamento de dias curtos.

V. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Dentre os fatores ambientais que influenciam o crescimento e o desenvolvimento das plantas, o fotoperíodo é o mais constante; outros, como a temperatura e o regime das chuvas, estão sempre sujeitos a variações diárias imprevisíveis. Em *Hyptis brevipes* tanto o crescimento vegetativo como a floração são influenciados pelas variações quantitativas dos períodos de luz/escuro.

Na maioria das espécies até hoje estudadas, dias longos promovem maior crescimento vegetativo, em alguns casos sob controle direto do fotoperíodo, em outros como resultado do aumento da atividade fotossintética (VINCE-PRUE, 1975). NITSCH (1963), no entanto, propôs que o maior crescimento encontrado em plantas mantidas em DL esteja relacionado com o alto nível de promotores de crescimento. Em *Hyptis brevipes*, entretanto, o crescimento vegetativo foi maior em dias curtos. Esse efeito foi constatado na altura das plantas (Figuras 5 e 6), no número de nós formados (Figura 8B) e no crescimento de ramos laterais (Figuras 9 e 10), tendo sido encontrada uma forte relação entre o número de dias curtos fornecidos e a resposta de crescimento.

Quando as plantas receberam até 10 dias curtos ininterruptos, o estímulo de crescimento gerado nessas

condições permaneceu nas plantas, mesmo após sua transferência para dias longos. No entanto, a intercalação de 1 dia longo após 6 dias curtos provocou uma diminuição do crescimento em altura e do comprimento do 4º e 5º ramos laterais (Figura 11). Esse efeito foi mais forte quando mais dias longos foram intercalados, sugerindo que, em dias curtos, ocorreu a síntese de promotores de crescimento que são impedidos de agir em condições de dias longos ou que, em dias longos, inibidores estariam atuando no controle do crescimento das plantas.

Nos experimentos em que a temperatura foi controlada e as plantas receberam um número variável de dias curtos (Figuras 4 e 5), deve ser salientado que, no início do tratamento, as plantas tinham idades diferentes, uma vez que iniciaram os tratamentos a cada 5 dias, a fim de que estes terminassem no mesmo dia. As plantas-controle permaneceram em dias longos por 20 dias, às temperaturas ensaiadas sendo, portanto, controle verdadeiro das que receberam 20 DC. Na figura 5, o efeito do fotoperíodo é perfeitamente visível no crescimento em altura das plantas, quando se comparam os diferentes números de dias curtos fornecidos.

Dentro de certos limites, a altura de uma planta reflete seu número de nós, o que foi também constatado em *H. brevipes* (Figura 8B). SIMMONDS (1982) não encontrou diferença no número de nós de um híbrido de *Impatiens* submetido a fotoperíodos de 8h, 14h e 18h. Trabalhando numa faixa estreita de tratamentos fotoperiódicos, verificou-se serem mais altas as plantas de *H. brevipes* que receberam fotoperíodo de 11h, em relação às que permaneceram em 12h, 13h e 14h (Figura 6), sendo essas diferenças mais evidentes a 30°C.

As diversas partes que compõem uma planta respondem diferentemente ao tratamento fotoperiódico. As

sim, em *Bidens pilosa*, KIRSZENZAFIT e VÁLIO (1977) verificaram que o 2º nó a partir da base da planta apresentou maior crescimento nos fotoperíodos de 8 e 15h do que nos fotoperíodos intermediários de 10h, 12h e 14h ensaiados. Num trabalho posterior (KIRSZENZAFIT e VÁLIO, 1979), esses autores mostraram em *B. pilosa*, que a resposta dos diferentes entrenós ao tratamento fotoperiódico era dependente da sua posição no eixo da planta, sendo que os mais apicais eram os mais afetados pelo fotoperíodo, refletindo esses resultados uma provável distribuição heterogênea dos reguladores de crescimento na planta. Em *H. brevipes*, os ramos laterais localizados no 4º, 5º e 6º nós (Figuras 9, 10 e 11) manifestaram maior sensibilidade ao tratamento fotoperiódico, o que sugere também ocorrer, nessa espécie, diferentes graus de sensibilidade ao fotoperíodo, ao longo do eixo principal da planta.

Nos experimentos em que os tratamentos fotoperiódicos foram dados sob temperatura controlada, ficou estabelecido que a 25°C há maior crescimento vegetativo, conforme mostrado nas figuras 4, 7, 8A, 9 e 10. Nessa temperatura foi também encontrada a maior velocidade de crescimento das plantas.

De todos os parâmetros de crescimento analisados, a área foliar mostrou ter maior sensibilidade à temperatura do que ao fotoperíodo (Tabela 4), tendo sido constatada uma redução de mais de 50% nas plantas que receberam os tratamentos fotoperiódicos a 30°C.

EL-ANTABLY e WAREING (1966), trabalhando com três plantas de dias curtos (*Pharbitis nil*, *Chenopodium rubrum* e *Ribes nigrum*), verificaram que a abscisina (ácido abscísico) tinha efeito promotor de floração quando as plantas eram cultivadas em condições indutoras de floração. SACHS *et al.* (1967) verificaram em *Fuchsia* que as gibberelinas inibiam a floração, mas promoviam o crescimento

do caule e, mais recentemente, POULHE *et al.* (1984), estudando transformações histológicas de meristema em plântulas de *Bidens radiata*, que floresce muito precocemente, verificaram que o crescimento vegetativo diminui a capacidade de florescer. Pelos resultados obtidos nesses e em outros trabalhos, ficou postulado na literatura que fatores que promovem floração são antagônicos aos que permitem o desenvolvimento vegetativo e vice-versa. Nesse conceito, *H. brevipes* é uma exceção, pois sendo uma planta de dias curtos para floração (Figura 12), também seu crescimento vegetativo é promovido nessas condições.

Em *H. brevipes* o crescimento vegetativo não cessa após a indução floral, como em *Bidens pilosa* (FELIPPE, 1978a) e em *Porophyllum lanceolatum* (FELIPPE e GIULIETTI, 1971a), que apresentam inflorescências terminais; tampouco ocorre um crescimento rápido do eixo principal devido ao desenvolvimento do escapo floral, como em *Stevia rebaudiana* (METIVIER e VIANA, 1979) e em numerosas plantas em roseta como, por exemplo, *Silene armeria* (ENDE VAN DEN e ZEEVAART, 1971). *H. brevipes* apresenta inflorescências sempre axilares, nunca terminais, a gema apical permanecendo vegetativa, conforme demonstrado nas observações estruturais e histoquímicas das figuras 15, 16, 17 e 18; assim, dias curtos promovem tanto a floração como o crescimento em extensão e o de certos ramos laterais.

Quanto à floração, os resultados obtidos permitiram classificar *Hyptis brevipes* como uma espécie de dias curtos, pois requer necessariamente dias menores que 13 horas para florescer, nunca tendo apresentado inflorescências sob fotoperíodos mais longos (Tabela 5). Plantas colocadas desde a germinação sob luz contínua senescem e morrem, mesmo sem ter jamais florescido, aproximadamente à mesma época das plantas que completaram normalmente seu ciclo de vida. O fato das plantas não terem florescido no

tratamento de 8 horas com interrupção do período noturno (Figura 12) confirma que a espécie é realmente de dias curtos para floração.

Pelos resultados apresentados na figura 12, observa-se que a floração ocorreu mais cedo no menor fotoperíodo fornecido às plantas (8 horas) e a única planta que floresceu no fotoperíodo de 14 horas o fez no triplo do tempo necessário para o início da floração no tratamento de 8 horas. Esse atraso temporal na floração, observado quando se aumenta o fotoperíodo em apenas uma ou duas horas (ou se diminui uma ou duas horas da noite longa) reflete-se também no grau de desenvolvimento da planta, no que diz respeito ao nó em que apareceram as primeiras inflorescências (Figura 13): com fotoperíodo de 8 horas, as primeiras inflorescências apareceram no 4º nó e, com fotoperíodos maiores, foram aparecendo cada vez em nós mais apicais, chegando até o 10º nó, na planta que floresceu no tratamento fotoperiódico de 14 horas.

Quanto ao fotoperíodo crítico (Tabela 5), foi observado em *H. brevipes* que, a 25°C e a 30°C, localiza-se entre 12 e 13 horas e, com o abaixamento da temperatura para 20°C, ocorreu extensão de uma hora no fotoperíodo crítico. Esses resultados são semelhantes aos obtidos com *Stylosanthes guianensis* (ISON e HUMPHREYS, 1984), em que temperaturas mais baixas também provocaram aumento do fotoperíodo crítico. VINCE-PRUE (1975) e outros autores que publicaram revisões sobre floração afirmam ser esperado que temperaturas mais baixas prolonguem o fotoperíodo crítico em plantas de dias curtos. Posteriormente, SCHWABE e WIMBLE (1976) lançaram a hipótese de que noites frias limitariam a formação de um inibidor de floração em plantas de dias curtos.

Em *S. guianensis* (ISON e HUMPHREYS, 1984), o atraso na floração e no desenvolvimento das flores, observados sob temperaturas altas contínuas, é compensado pelo en

curtamento dos dias ou pelo fornecimento de mais ciclos indutores. Em *H. brevipes* ao contrário (Tabela 7), a 25°C constantes, com 10 fotociclos de 8 horas, 60% das plantas apresentaram floração, enquanto que a 15°C constantes, foram necessários 20 fotociclos para que todas as plantas florescessem. Esse resultado foi comprovado quantitativamente na figura 9, onde se observa haver número significativamente maior de inflorescências nas plantas que receberam 30 fotociclos de 8 horas a 25°C. O número de inflorescências formadas a 15°C e com 30 fotociclos é comparável ao obtido a 25°C, porém com 20 fotociclos (Figuras 19 e 20).

Quanto ao número de fotociclos indutores necessários para a iniciação floral, foi visto que, à temperatura constante de 25°C, um mínimo de 10 DC são necessários (Figura 19). A temperaturas não controladas, mais fotociclos devem ser fornecidos para se obter a resposta de floração, conforme visto no experimento em que se observou o desenvolvimento das gemas axilares, ao nível estrutural (Figu^{ras} 15, 16, 17 e 18), quando foram necessários mais de 15 DC para induzir floração. Em *Perilla crispa* (Labiatae), ZEEVAART (1969) relata serem necessários 9 DC à temperatura controlada e 20 DC sem controle de temperatura para que a floração seja induzida, à semelhança de *H. brevipes*.

Observações ao nível estrutural, feitas nas regiões apicais de plantas crescidas em condições não controladas de temperatura mostraram que até 15 DC não ocorreu formação de gemas florais em nenhum dos nós observados, enquanto que após 20 DC, as gemas localizadas no 13º nó eram florais e já bem desenvolvidas. Assim, num tipo de experimento em que, com diferentes números de fotociclos indutores se pretendia verificar o desenvolvimento das gemas florais nos diferentes lotes de plantas, observou-se que, na verdade, esse desenvolvimento pode ser acompanhado examinando-se as gemas axilares ao longo do eixo principal de

uma planta plenamente induzida, o qual mostra uma boa graduação em termos de diferenciação das gemas florais (Aspectos 3 das figuras 15, 16, 17 e 18).

Em *H. brevipes* o estímulo floral distribui-se acropetamente, sendo que as gemas localizadas a partir do 13º e do 14º nós (Aspectos 3B da Figura 15, 3C das Figuras 16, 17 e 18) responderam ao estímulo, modificando-se em gemas florais. Nas gemas axilares dos nós localizados acima dessas gemas evidentemente florais (Aspectos 3B e 3C da figura 15 e 3C das figuras 16, 17 e 18), foi observado que as células do manto meristemático em desenvolvimento são pequenas, com características meristemáticas, e cobrem um miolo constituído por células vacuoladas, como visto, tipicamente, durante a transição da gema vegetativa para floral (GIFFORD e CORSON, 1971). Uma vez que o estímulo floral atinge uma determinada gema, parece ocorrer uma rápida produção de gemas florais, havendo também um desenvolvimento relativamente avançado das gemas axilares próximas ao ápice, isso constatado ao se comparar as gemas axilares de mesma posição nas plantas mantidas vegetativas. GIFFORD e CORSON (1971) mencionaram que quando PDL e PDC, absolutas ou quantitativas, são transferidas para condições de floração, a transição para a fase reprodutiva é muito rápida, como verificado para *H. brevipes* onde, com um intervalo de cinco dias, grandes modificações estruturais puderam ser observadas.

O tamanho e a forma do meristema apical modificam-se dependendo do estágio de desenvolvimento da planta. Essas alterações estão associadas ao crescimento vertical do ápice, mais diretamente, e com a formação de folhas, sendo especialmente marcantes nas espécies que apresentam mais de uma folhas por nó, como *Glechoma hederacea*. Nessa espécie, que possui folhas opostas cruzadas, o ápice cresce cerca de 240µm em altura e triplica em espessura durante o

período necessário para a formação de um par de folhas (CUTTER, 1971). Em *H. brevipes*, também com filotaxia oposta-cruzada, não foram registradas alterações drásticas de tamanho. No entanto, foram observadas fases de áreas mínima (Aspectos 3E da figura 16 e 2C da figura 17) e máxima (Aspectos 3E das figuras 15 e 18), correspondentes respectivamente aos estádios mais jovens e mais adiantados do plastocrono.

O ápice meristemático das gemas apicais de *H. brevipes* é sempre vegetativo, sendo possível visualizar facilmente a túnica, que se apresenta bi ou trisseriada, envolvendo o corpo (teoria do conjunto túnica-e-corpo de SCHMIDT, 1925 *in* ESAU, 1977). Sobre essa organização é reconhecida a do zoneamento cito-histológico, originalmente descrita para *Ginkgo biloba* (FOSTER, 1938) e depois reconhecida em outras gimnospermas e na maioria das angiospermas (GIFFORD e CORSON, 1971). Em *H. brevipes*, a evidência desse zoneamento foi obtida quando se aplicaram os métodos para observações estruturais (Figura 15) e para detecção de proteína total (Figura 17) e de ácidos nucleicos (Figura 18). Após a aplicação do corante "Azure B", para detecção de RNA, a zona central adquire uma coloração mais fraca do que a zona periférica, por possuir células bem vacuoladas, apresentando teores de proteína total e de RNA menores do que os encontrados na zona periférica; comparando-se ainda essas duas zonas, observa-se que, na zona central, a atividade mitótica é bem baixa (GIFFORD e CORSON, 1971; BERNIER *et al.*, 1981). Na zona periférica, a atividade mitótica é conspícua, especialmente naquelas posições de origem das saliências que formarão os primórdios foliares; as células dessa zona estão ainda bastante associadas com o alongamento do conjunto caulinar por divisões anticlinais, assim como com o aumento em largura do mesmo, por divisões periclinais (ESAU, 1977). O meristema de fileiras, cujas células são geralmente vacuoladas, é originador da medula,

mas em *H. brevipes* é inconspícuo.

Os tecidos apicais respondem diferentemente (qualitativa e quantitativamente), ao estímulo floral, mostrando que a resposta específica de um tecido depende do seu estado de diferenciação no momento da chegada do estímulo floral (BERNIER, 1971). Daí a importância de se trabalhar com materiais o mais homogêneos possível, com o que muito se ampliou o conhecimento sobre as transformações morfológicas e histoquímicas dos ápices induzidos de plantas que requerem um único ciclo indutor (BERNIER *et al.*, 1981).

O conceito de plantas de dias curtos quantitativa aplica-se bem a *H. brevipes*: quanto mais curto o fotoperíodo, mais rápida é a evocação floral em termos de tempo (Figura 12), do número do nó em que aparece a primeira inflorescência (Figura 13) e da maior intensidade de floração (Tabela 6). Por outro lado, o fornecimento de mais ciclos indutores de floração aumenta a porcentagem de plantas floridas (Tabela 7) e também o número de inflorescências em cada planta (Figuras 19 e 20). Conforme está bem explicado por BERNIER *et al.* (1981), a indução floral é um processo progressivo, de natureza quantitativa, comumente observado quando o número de ciclos indutores fornecidos excede o mínimo necessário para a formação de flores: em muitas espécies, quando se compara indução ótima com indução mínima, verifica-se, no primeiro caso, produção de mais flores ou inflorescências (como em *Sinapis alba*) e aceleração do desenvolvimento destas estruturas reprodutivas (como em *Lolium temulentum*).

A quantificação da floração é um parâmetro extremamente útil nos estudos desse processo de desenvolvimento, especialmente naquelas plantas que exibem uma resposta quantitativa ao tratamento fotoperiódico. Assim, SALISBURY (1955) estabeleceu estádios florais para *Xanthium strumarium*, SCHWABE (1957) contou o número de flores da inflorescência de *Kalanchoe blossfeldiana*, o número de plantas

com gemas florais em *Perilla nanikensis* e a proporção de gemas laterais contendo primórdios florais na soja Biloxi. Em *H. brevipes*, o estabelecimento de índices florais, refletindo uma sequência de desenvolvimento das inflorescências, após a observação de dezenas de gemas florais em diferentes graus de desenvolvimento, permitiu também quantificar a floração nessa espécie.

Utilizando-se esse parâmetro, verificou-se (Tabelas 8, 9 e 10 e Figura 22) que com mais ciclos indutores de 8 horas (20 DC) obteve-se maior número de inflorescências e em maior grau de desenvolvimento. Foi também observado que as primeiras inflorescências que se formam, localizadas num determinado nó, após o fornecimento do tratamento fotoperiódico apropriado, são as mais desenvolvidas, decrescendo o índice floral no sentido acrópeto do eixo principal da planta, conforme observado nas tabelas 8, 9 e 10. As figuras 15, 16, 17 e 18 confirmam estas observações, agora do ponto de vista anatômico/estrutural. Estes resultados sugerem que dias curtos são necessários não apenas para a indução, como também para a evocação e, posteriormente, para o desenvolvimento das inflorescências.

Em *Vigna unguiculata* (PDC), BUNTING (1975 *in* LUSH e EVANS, 1980) propôs que dias mais curtos do que os necessários para a indução floral devem ser fornecidos para que ocorra o desenvolvimento das gemas florais. Haveria então um fotoperíodo crítico para a iniciação e outro para o desenvolvimento da flor, como ocorre em *Phaseolus vulgaris* (OJEHOMON *et al.*, 1973) e em outras espécies (EVANS, 1969b). LUSH e EVANS (1980), testando essa hipótese de Bunting, em *V. unguiculata*, verificaram não haver diferença no fotoperíodo crítico para esses dois processos, mas sim no número de dias curtos necessários para se completar cada um dos estádios: mais DC são necessários para o desenvolvimento da inflorescência do que para sua iniciação.

MORGAN (1977) mostrou que os reguladores de crescimento exercem um papel importante na regulação do desenvolvimento das estruturas reprodutoras de *Phaseolus vulgaris*, cevada (*Hordeum vulgare*) e *Brassica napus*. Esse papel regulador, nessas espécies, se manifestaria após a iniciação floral, podendo essas substâncias atuarem como fatores internos que mediarão os efeitos ambientais nos processos analisados. Os reguladores de crescimento utilizados no experimento cujos resultados são apresentados na tabela 14 não tiveram qualquer efeito sobre a indução, a evocação ou o desenvolvimento das inflorescências de *H. brevipes* ao nível do parâmetro de floração utilizado (índice floral). Como foram aplicados em três épocas diferentes - antes, durante e após a indução floral por dias curtos - talvez sejam realmente ineficazes nessa espécie. O experimento feito, entretanto, não descarta a hipótese de que os reguladores de crescimento tenham sido aplicados em concentrações sub-ótimas para *H. brevipes*, podendo ainda não ter havido sua penetração nas plantas ou terem sido metabolizados antes de atingirem seus *loci* de ação.

Plantas de *H. brevipes* induzidas à floração por 20 DC, condição essa indutora de floração, se transferidas para dias longos (luz contínua) não apresentam desenvolvimento das inflorescências (Figura 23). Esse efeito inibidor, provocado por dias longos no desenvolvimento da inflorescência também se manifestou na indução floral, quando dias longos foram intercalados numa série total de 24 dias curtos (Tabela 12). Analisando-se os resultados mostrados nessa tabela, verifica-se que a intercalação de 1 único dia longo, apesar de não impedir a floração, provocou uma evidente diminuição na quantidade de inflorescências formadas no eixo caulinar e na planta como um todo, além de atrasar a floração por sete dias. Intercalação de três dias longos, isto é, um dia longo após cada série de seis dias curtos provocou inibição total da floração. Por outro lado, a per

manência de plantas jovens de *H. brevipes* em dias longos, seguindo-se sua transferência para DC, provocou um atraso no nó em que apareceu a primeira inflorescência, além de um substancial atraso para o início da floração (Tabela 11).

Desde os resultados iniciais divulgados por Garner e Allard em 1925, numerosos experimentos confirmaram que dias longos podem inibir floração em plantas de dias curtos tendo, portanto, papel ativo no processo (JACOBS, 1980). A inibição da síntese do estímulo floral na folha foi primeiro demonstrada por SCHWABE (1956) em experimentos de intercalação de dias longos numa série de dias curtos, em *Kalanchoe blossfeldiana*, os quais indicaram haver uma evidente relação quantitativa entre o número de ciclos inibidores e a supressão do processo de indução. A partir de então, acumularam-se dados na literatura, apontando para a existência de inibidores de floração, geralmente observados em plantas de dias curtos.

Os exemplos mais significativos da inibição da floração, provocada por dias longos foram relatados para *Kalanchoe blossfeldiana* (Crassulaceae) e *Perilla* (Labiatae), apesar de outras espécies também terem sido bem estudadas nesse aspecto (SCHWABE, 1984). Uma das evidências do efeito inibidor de DL, em PDC, vem de experimentos em que se forneceu DL numa série de DC, tendo sido calculado que cada dia longo intercalado cancelava o efeito indutor de 1,4 dias curtos em *K. blossfeldiana* (SCHWABE, 1956). Esse efeito de DL em *H. brevipes* não foi calculado matematicamente, não se conhecendo, portanto, o número de dias curtos cancelados por cada dia longo fornecido. Em *Perilla*, cuja indução floral é completada após 9 DC, sob temperaturas controladas, inibição completa da floração foi obtida quando 3 DL foram inseridos num número final de 12 DC (SCHWABE, 1957). Os resultados obtidos para *K. blossfeldiana* e para *Perilla* demonstram que dias longos intercalados têm um efeito anula

dor muito maior do que uma mera destruição de um efeito pro motor.

Em *Salvia* (também Labiatae), BHARGAVA (1964 *in* JACOBS, 1980) mostrou que um único dia de luz contínua, se dado após oito de uma série de 10 DC (período de sensibilidade máxima à luz contínua), atrasou a floração por 11 dias. JACOBS (1980) trabalhando com duas espécies de *Co* *leus*: *C. fredericii* (PDC) e *C. blumei* (PDN) - também Labiatae - demonstrou através de enxertia de folhas retiradas de plantas induzidas ou não, que folhas de plantas de dias curtos produzem um estímulo de floração em dias curtos e um inibidor de floração em dias longos.

Um outro ponto de interesse que surge dessa discussão é sobre o que ocorre com as plantas após a indução. Segundo CHOUARD (1950), em algumas espécies, a indução floral persiste por toda a vida da planta, conforme visoto, por exemplo, em *Xanthium strumarium*.

Em outras espécies, quando cessa a indução, pode ocorrer reversão para o estágio vegetativo. Esses fenômenos de reversão ocorrem espontaneamente, mas alguns trabalhos mostraram que é possível obtê-la experimentalmente, na maioria das vezes através de um determinado tratamento fotoperiódico ou, mais raramente, pelo emprego de substâncias químicas (VON WITSCH, 1965). Os mecanismos que controlam a permanência ou não do estado indutor têm sido estudados em poucas espécies (ZEEVAART, 1984), mas a compreensão desses processos reveste-se da maior importância, pois deles depende a finalização do processo da floração.

Em *Perilla crispa*, quando o tratamento de dias curtos é prolongado, a floração é induzida, em seguida há produção de sementes, fechando-se o ciclo de vida com a morte das plantas. Entretanto, se a indução floral for subótima, de 10 a 20 DC, é observada a "reação de reversibilidade", conforme definida por ZEEVAART (1969) e descrita ano

teriormente por JACOBS e RAGHAVAN (1962) para *P. frutescens*: nessa espécie, as plantas induzidas por 25 DC florescem e continuam produzindo flores até sua morte. A diferenciação floral é no sentido acrópeto, as gemas axilares vegetativas localizadas mais baixo no eixo caulinar diferenciando-se em florais antes daquelas localizadas em níveis superiores do caule. Em *P. frutescens*, a transferência de plantas induzidas subliminarmente para DL provocou a não-abertura das flores formadas e, apesar dessas apresentarem estrutura normal de flor (cálice, corola, grãos de pólen, óvulos), secavam e acabavam por sofrer abscisão; permanecendo em DL, as plantas retornaram ao crescimento vegetativo.

ZEEVAART (1969) explicou a reversão da floração para o crescimento vegetativo, em *Perilla crispa*, pelo fato de que o ápice caulinar forma sempre gemas florais axilares, nunca uma gema floral terminal. Além disso, as folhas jovens que crescem na parte superior do caule não sofrem indução por DC, controlando gradualmente o ponto de crescimento do caule.

Posteriormente, BAGNARD *et al.* (1972) definiram morfológicamente a reversão da inflorescência de *Sinapis alba* (PDL) pela inserção, num dado eixo, de ramificações vegetativas ou inflorescenciais, acima de uma série de flores. Nesse trabalho, a reversão foi estudada ao nível de observações histológicas que mostraram que durante o período em que as plantas permaneceram em condições não promotoras de floração (fotoperíodo inadequado e baixa intensidade luminosa), o meristema terminal manteve a estrutura inflorescencial adquirida durante a fase de indução, havendo, entretanto, uma redução considerável de sua atividade orgânica.

À vista das considerações acima expostas, observamos que em *H. brevipes* deve também ocorrer a referida reversibilidade. A observação das plantas induzidas e de

pois transferidas para condições de dias longos (luz contínua) nos indicou que a indução em *H. brevipes* é localizada e que o crescimento vegetativo é rapidamente retomado nessas condições. A figura 23 mostra a região apical de duas plantas da espécie estudada, onde se vê à direita (Figura 23B) uma planta que permaneceu em dias curtos e, à esquerda, (Figura 23A) uma planta induzida por 21 DC e que voltou para condições de DL (temperatura não controlada); observa-se nessa última uma nítida volta ao crescimento vegetativo acima da gema floral, pouco desenvolvida.

Na floração de plantas de dias curtos, é durante o período de obscuridade que a indução floral se processa e, se esse(s) período(s) for(em) suficientemente longo(s) leva(m) à síntese ou liberação de fatores que induzem floração. Portanto, a maior influência da luz em PDC está em impedir a indução floral através da inibição de estímulos de floração ou da promoção de inibidores desse processo. Por outro lado, não pode ser esquecido que a luz também tem um efeito promotor na floração devido à fotossíntese que ocorre no período principal de luz; nesse período, altas irradiâncias produzem energia adicional e substratos para o crescimento e desenvolvimento mais rápido das flores (COCKSHULL, 1984). Em PDC, as condições de irradiância são particularmente importantes, sugerindo que os produtos primários produzidos durante o período de luz sejam necessários para a indução, como também mostraram anteriormente IRELAND e SCHWABE (1982a, 1982b).

Modificações que afetam a floração da maioria das espécies fotoperiódicas podem ser influenciadas por tratamentos que afetam também a fotossíntese: alteração na concentração do CO₂ atmosférico, variações na energia irradiante, aplicação de açúcares às folhas e fornecimento de inibidores de fotossíntese (EVANS, 1971). A grande maioria dessas observações foi feita em PDL, especialmente em *Sina*u

pis alba. Esta espécie pode ser induzida por um único foto período longo ou por um dia curto com alta energia luminosa. Pode ainda ser induzida por um dia curto deslocado (e assim recebendo o mesmo tempo de luz do que em dia curto), constituindo-se em excelente material de trabalho para as relações fotossíntese/floração, conforme atestam alguns trabalhos mais relevantes (BODSON, 1977; BODSON *et al.*, 1977; PRYKE e BERNIER, 1978; HAVELANGE e BERNIER, 1983).

Em plantas de dias curtos, a dependência ao CO_2 não é tão evidente como em plantas de dias longos, porém IRELAND e SCHWABE (1982a) confirmaram a necessidade do CO_2 ser diretamente absorvido nas folhas induzidas para que a floração ocorra, tanto em *Kalanchoe blossfeldiana* como em *Xanthium pennsylvanicum*. Nessas espécies, a ausência de CO_2 não foi revertida pelo fornecimento de açúcares, apesar da sacarose exógena ter provocado significativo desenvolvimento floral em *X. pennsylvanicum*.

BODSON (1977) observou os teores de carboidratos solúveis e amido nas folhas e gemas de plantas de *Sinapis alba*, em transição da fase vegetativa para reprodutiva, tendo sugerido haver uma correlação entre esses compostos e a floração.

Com base nesses dados, foi feita uma análise da variação nos níveis de açúcares solúveis e amido em folhas de plantas de *H. brevipes*, em condições de dias curtos e de luminosidade constante (LC). Como a espécie é induzida, em condições não controladas de temperatura, por 15 a 20 DC, conforme mostrado anteriormente, a coleta das folhas e sua análise subsequente foram feitas após o 6º dia de indução (para as plantas em DC), na tentativa de se constatar alterações nos níveis dos carboidratos no início do processo de indução floral.

METIVIER e VIANA (1979) mostraram, em *Stevia rebaudiana* (PDC), que as folhas de plantas em dias longos

apresentam um teor total de açúcares três vezes maior do que o encontrado nas folhas de plantas em dias curtos. Em *H. brevipes*, as variações, bem como as flutuações diurnas constatadas, tanto nos açúcares solúveis como no amido (Figura 24), nos dois grupos de plantas de *H. brevipes*, foram bastante semelhantes, conforme verificado anteriormente em cevada, por GORDON *et al.* (1982). Estes autores também observaram uma relação inversa entre o conteúdo de amido e o de açúcares solúveis, visto igualmente na espécie por nós estudada. HALMER e BEWLEY (1982) citaram a existência de variações da atividade amilásica, num ritmo circadiano, em folhas de *Phaseolus multiflorus*, *Glycine max* e *Kalanchöe*. As flutuações nos níveis dos carboidratos de *H. brevipes* sugerem mais uma resposta a um controle endógeno do que uma reação a mudanças ambientais. Entretanto, não se pode descartar a possibilidade de que as pequenas diferenças observadas possam ser devidas aos tratamentos fotoperiódicos.

HEWITT *et al.* (1985), cultivando soja (PDC) em condições de dias curtos e longos, verificaram que, em condições indutoras de floração, a hidrólise do amido nas folhas foi significativamente menor, tendo o conteúdo total desse carboidrato de reserva diminuído nas quatro horas finais do período de escuro. Em *H. brevipes*, tal diminuição, significativa em relação àquela encontrada nas folhas das plantas em luz contínua, ocorreu durante a segunda metade da noite longa.

Convém ainda salientar ter havido um período de defasagem de cerca de 4 horas entre a diminuição de amido, registrada às 14 horas e a elevação do nível de açúcares totais, observada às 18 horas, esta última sendo significativamente maior nas plantas sob luz contínua (Figura 24B e C). Tanto no escuro (nas plantas em dias curtos) como em baixa intensidade luminosa (nas plantas em luz contínua), não seria possível ter ocorrido fotossíntese num ní

vel tal que explicasse esse rápido aumento nos açúcares so lúveis. Esse aumento também não pode ser interpretado como proveniente da hidrólise do amido da própria folha, sendo, provavelmente, resultante da translocação de açúcares de ou tras partes da planta. Por outro lado, 18 horas coincide com o menor grau de abertura estomática nas folhas (Figura 27), sugerindo haver em *H. brevipes* uma dinâmica bem estabelecida no metabolismo e na translocação de carboidratos.

A análise cromatográfica dos açúcares presentes nos extratos brutos de folhas das plantas em dias cur tos e em luz contínua revelou a presença de mono e de oli gossacarídeos (Tabela 15), cujo teor estimado por densitometria (Figura 25) oscilou nas diferentes horas do dia, mesmo considerando as limitações da metodologia empregada (conforme consta da legenda da figura mencionada).

Dos açúcares identificados, os da série rafi nose são comumente encontrados em plantas, até mesmo a estaquiose (KANDLER e HOPF, 1982), apesar de sua presença ser mais freqüente em órgãos de reserva do que em folhas. Segundo AVIGAD (1982), existem poucos dissacarídeos livres na na tureza, a sacarose sendo o mais assíduo; a detecção de ou tros dissacarídeos está geralmente associada à degradação de glicosídeos complexos pré-existentes, como é o caso da maltose, resultante da degradação do amido e da melibiose, proveniente de α -galactosil sacarose, podendo ainda ser en contrados outros dissacarídeos, em pequenas quantidades, ori ginados de polissacarídeos da parede celular, de compostos de reserva, de glicoproteínas ou de glicolipídeos, através das reações hidrolíticas que ocorrem continuamente durante o crescimento e o desenvolvimento celular. Talvez essas afirmações apliquem-se a *H. brevipes*, explicando o apareci mento desse considerável número de oligossacarídeos, presentes em concentração elevada e cuja presença em folhas é realmente de difícil entendimento.

Conforme apresentado no capítulo anterior, foram feitas tentativas de identificação do composto presente nos extratos foliares, não se tendo, entretanto, chegado a uma conclusão definitiva. Por suas características (perda da fluorescência por hidrólise, presença de grupamentos NH_2 e associações com outros açúcares) e suas variações durante o período de observação, esse composto deve ser melhor estudado e caracterizado quimicamente, após sua obtenção em maior quantidade.

No presente trabalho, foram analisados os carboidratos presentes em folhas de plantas de *H. brevipes*, crescendo sob condições indutoras e não indutoras de floração, tendo sido observadas algumas variações no teor total e individual dos açúcares. Uma análise semelhante nas gemas laterais, próximas ao ápice e capazes de responder ao estímulo de floração, seria de grande interesse na tentativa de relacionar essa classe de compostos ao processo da floração na espécie estudada.

Dentre os processos controlados pelo fotoperiodismo estão alguns movimentos foliares, a gutação e a atividade de algumas enzimas. A abertura e o fechamento de estômatos obedece um ritmo endógeno e, à vista da importância das trocas gasosas na folha, controladas pelos estômatos, foram feitas observações sobre o efeito do fotoperíodo no movimento estomático, em plantas mantidas em dias curtos e em luz contínua (Figura 27). A abertura dos estômatos encontrada durante o período de escuro é muito semelhante àquela observada em *Chrysanthemum* por SCHWABE (1952); diferenças na abertura dos estômatos de plantas de dias curtos, em condições indutoras de floração (noites longas) podem acarretar modificações apreciáveis na concentração interna de CO_2 que, segundo já mencionado, estão relacionadas com os processos de indução floral. Mais recentemente, IRELAND e SCHWABE (1982a) mostraram que o estresse hídrico re

duziu e atrasou a floração em *Xanthium pennsylvanicum*, provavelmente, segundo os autores, porque 50% dos estômatos das folhas permaneceram fechados e de 30% a 40%, parcialmente fechados, impedindo a entrada de CO_2 para as células.

No teste histoquímico para carboidratos (Figura 16) não foi constatado acúmulo de amido nas gemas axilares e apical de *H. brevipes*. Das observações feitas em *Sinapis alba* (HAVELANGE e BERNIER, 1983) e em *Xanthium strumarium* (citado em BODSON, 1984), concluiu-se que um fator importante para a iniciação floral é a modificação do nível de carboidratos ou do seu metabolismo nas regiões meristemáticas e que essas transformações poderiam fazer parte de um gatilho ("trigger") para a transição para o desenvolvimento reprodutivo. Observações ao nível histoquímico, comparadas com análises de estruturas das gemas axilares de plantas de *H. brevipes* colocadas para induzir e coletando-se as regiões apicais em intervalos de tempo menores, talvez possam contribuir para elucidar o envolvimento dos açúcares na floração dessa espécie.

H. brevipes comporta-se, com relação à floração, de maneira semelhante a algumas espécies já bem estudadas, como *Kalanchoe blossfeldiana* e *Perilla crispa*. Essa semelhança de comportamento, nas três espécies, talvez esteja relacionada com certas características morfológicas (filotaxia oposta-cruzada, inflorescências axilares) que poderiam estar implicadas na fisiologia da floração dessas plantas. Observa-se em todas elas distribuição acrópeta do estímulo de floração, resposta de floração quantitativa e diretamente proporcional ao número de dias curtos fornecidos (mais plantas são induzidas, com maior número de inflorescências, em menor tempo). Além disso, algumas observações sugerem a presença de inibidores de floração e do desenvolvimento posterior das inflorescências nessas plantas, em dias longos.

Os estudos feitos sobre crescimento vegetativo em *H. brevipes* permitiram concluir que essa espécie tem um comportamento peculiar, crescendo melhor em dias curtos. Seria interessante verificar em *K. blossfeldiana* e *P. crispa* se as semelhanças morfo-fisiológicas com *H. brevipes* estendem-se também ao crescimento vegetativo, podendo-se, então, estabelecer padrões de resposta (maior ou menor crescimento, floração, intensidade de floração, etc.), através da manipulação do fotoperíodo, nesse grupo de plantas.

Pelos resultados obtidos e apresentados no presente trabalho, *H. brevipes* pode ser considerada um bom modelo para estudos de indução fotoperiódica da floração e do crescimento vegetativo.

Hyptis brevipes Poit. (Labiatae) é uma planta anual, herbácea, invasora de lavouras perenes e encontra-se facilmente em lugares úmidos, como pastagens de várzea e beira de canais, lagoas e riachos. Os efeitos de tratamentos fotoperiódicos, aplicados ou não a temperaturas controladas, foram analisados no crescimento vegetativo, na floração e na variação dos teores de carboidratos de plantas originárias de sementes, coletadas na região de Campinas, SP.

Quanto ao crescimento vegetativo, foi observado que, em fotoperíodos mais curtos, as plantas apresentaram maior crescimento em altura e maior número de nós, especialmente a 25°C. O número de dias em que as plantas permaneceram em condições de dias curtos influenciou significativamente esses parâmetros de crescimento. Os ramos laterais localizados no 5º e 6º nós mostraram maior sensibilidade ao tratamento fotoperiódico e à temperatura do que os ramos situados abaixo e acima destes no eixo caulinar. Temperatura de 30°C reduziu fortemente a área foliar. A intercalação de dias longos numa série de dias curtos provocou diminuição na altura das plantas e no comprimento dos ramos laterais, sendo que essa inibição de crescimento foi aumentada à medida que mais dias longos foram inseridos.

H. brevipes é uma espécie quantitativa de dias curtos para floração, com fotoperíodo crítico entre 12 e 13 horas. A 20°C, o fotoperíodo crítico aumenta de uma hora. A temperaturas não controladas, são necessários de 15 a 20 dias curtos para induzir a floração; a 25°C, 10 DC induzem subliminarmente o processo. A resposta de floração é diretamente proporcional ao número de ciclos indutores fornecidos e o estado induzido não permanece nas plantas, pois a transferência para dias longos provoca a retomada do crescimento vegetativo. Dias longos inibem a floração, mesmo quando inseridos numa série de dias curtos; um único dia longo reduz a floração em 50%, além de atrasá-la por sete dias.

Observações ao nível estrutural/histoquímico das gemas axilares e apical de plantas vegetativas e induzidas mostraram que o estímulo floral distribui-se acropetamente em *H. brevipes*, as gemas axilares mais inferiores apresentando-se com estruturas florais mais desenvolvidas. A gema apical é sempre vegetativa, mantendo o crescimento, apesar da floração. Apresenta uma túnica bi ou trisseriada, bem evidente no teste para evidencição de carboidratos, e o corpo; sobre essa organização, distinguem-se as zonas central (pouco corada na reação que emprega o Azure B, para evidencição de ácidos nucleicos) e a zona periférica; o meristema de fileiras é inconspícuo.

Os níveis de carboidratos solúveis e de amido de folhas de plantas mantidas em condições indutoras e não indutoras de floração, observados durante 24 horas, não diferem muito entre si. Ocorrem oscilações diárias, provavelmente relacionadas a um ritmo regulador endógeno. A análise dos açúcares presentes nos extratos acusou a presença de frutose, glucose, galactose e maltose entre os monossacarídeos e também de oligossacarídeos, como estaquiose, rafinose, sacarose, melibiose e um outro composto, de natureza

glicosídica, que se localiza no cromatograma entre a sacarose e a melibiose.

Os resultados obtidos fazem de *H. brevipes* um bom material para estudos de floração.

VII. BIBLIOGRAFIA

- ALEIXO, M.F.D. e VÁLIO, I.F.M. 1976. Effect of light, temperature and endogenous growth regulators on the growth of buds of *Cyperus rotundus* L. tubers. *Z. Pflanzenphysiol.* 80: 336-347.
- ALVIM, P.T. 1960. Moisture stress as a requirement for flowering of coffee. *Science* 132: 354.
- ALVIM, P.T. 1973. Factors affecting flowering of coffee. In A.M. Srb (ed.) *Genes, Enzymes, and Populations*. Plenum Publishing Co., New York pp. 193-202.
- ALVIM, R., THOMAS, S. e SAUNDERS, P.F. 1978. Seasonal variation in the hormone content of willow. II. Effect of photoperiod on growth and abscisic acid content of trees under field conditions. *Plant Physiol.* 62: 779-780.
- ANÔNIMO. 1979. La Physiologie de la Floraison. International Colloquium on the Physiology of Flowering. Editions du Centre de la Recherche Scientifique, Paris, n° 285.
- EL-ANTABLY, H.M.M. e WAREING, P.F. 1966. Stimulation of flowering in certain short-day plants by abscisin. *Nature* (Lond.) 210: 328-329.

- AVIGAD, G. 1982. Sucrose and other disaccharides *In* F.A. Loewus, W. Tanner (eds.) *Plant Carbohydrate I. Intracellular Carbohydrates*. Encyclopedia of Plant Physiology New Series vol. 13 A. Springer Verlag, Berlin pp. 217-317.
- BAGNARD, C., BERNIER, G. e ARNAL, C. 1972. Étude physiologique et histologique de la réversion d'inflorescence chez *Sinapis alba* L. *Physiol. Veg.* 10(2): 237-254.
- BARBA, R.C. e POKORNY, T.A. 1975. Influence of photoperiod on the propagation of two *Rhododendron* cultivars. *J. Hortie. Sci.* 50: 55-59.
- BERNIER, G. 1971. Structural and metabolic changes in the shoot apex in transition to flowering. *Can. J. Bot.* 49: 803-819.
- BERNIER, G., KINET, J.M. e SACHS, R.M. 1981. *The Physiology of Flowering*, vols. 1 e 2. CRC Press, Florida.
- BLACK, M. e WAREING, P.F. 1955. Growth studies in woody species. VII. Photoperiodic control of germination in *Betula pubescens* Ehsh. *Physiol. Plant.* 8: 300-316.
- BLACK, M. e WAREING, P.F. 1960. Photoperiodism in the light inhibited seed of *Nemophila insignis*. *J. Exp. Bot.* 11: 28-39.
- BODSON, M. 1977. Changes in the carbohydrate content of the leaf and the apical bud of *Sinapis* during transition to flowering. *Planta* (Berl.) 135: 19-23.
- BODSON, M. 1984. Assimilates and Evocation. *In* D. Vince-Prue, B. Thomas, K.E. Cockshull (eds.). *Light and the Flowering Process*. Academic Press, London pp. 157-169.
- BODSON, M., KING, R.W., EVANS, L.T. e BERNIER, G. 1977. The role of photosynthesis in flowering of the long-day plant *Sinapis alba*. *Aust. J. Plant Physiol.* 4: 467-478.

- BONNER, J. e GALSTON, A.W. 1952. Principles of Plant Physiology. W.H. Freeman and Company, San Francisco p. 55.
- BRAGGIO, W.M. 1984. Fatores que afetam a dominância apical em *Anagallis arvensis* L. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas.
- BUTTROSE, M.S. e SEDGLEY, M. 1978. Some effects of light intensity, daylength and temperature on growth of fruiting and non-fruiting watermelon (*Citrulus lanatus*). *Ann. Bot.* (London) 42: 599-608.
- CARVALHO, C.G. de Sá. 1975. Efeito de diferentes fotoperíodos na bulbificação e crescimento de dois cultivares de alho (*Allium sativa* L.). Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa.
- CHAILAKHYAN, M. Kh. 1968. Flowering hormones of plants. In F. Wightman e G. Setterfield (eds.) Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances. Runge Press, Ottawa pp. 1317-1340.
- CHAILAKHYAN, M. Kh. 1975. Forty years of research on the hormonal basis of plant development - some personal reflections. *Bot. Rev.* 41: 1-29.
- CHARGAFF, E., LEVINE, C. e GREEN, C. 1948. Techniques for the demonstration by chromatography of nitrogenous lipide constituents, sulfure - containing amino - acids and reducing sugars. *J. Biol. Chem.* 175: 67-71.
- CHARLES-EDWARDS, D.A. 1983. An hypothesis about the control of flowering. *Ann. Bot.* (Lond.) 52: 105-107.
- CHOUARD, P. 1950. Réversibilité de l'état reproductif à l'état végétatif sous l'effect du photopériodism. *C.R. Acad. Sci. Ser. D.* 231: 1245-1247.
- CLELAND, C.F. 1975. The florigen enigma. *What's new in Plant Physiology* 7: 1-4.

- COCKSHULL, K.E. 1984. The Photoperiodic Induction of Flowering in Short-day Plants. In D. Vince-Prue, B. Thomas, K.E. Coskshull (eds.). Light and the Flowering Process. Academic Press, London pp. 33-49.
- COSTA, A.V., ROLIM, R.B. e MONTEIRO, P.M.F.O. 1977. Melhoramento de soja (*Glycine max* (L.) Merril) - criação de novas variedades adaptadas às condições do Estado de Goiás. In Empresa Goiana de Pesquisa Agropecuária. Relatório Técnico UEPAE - 1. Resumo de pesquisa 1974-1976, Goiânia pp. 84-85.
- COUTINHO, L.M. 1976. Contribuição ao conhecimento do papel ecológico das queimadas na floração de espécies do cerrado. Tese de Livre-docência, Universidade de São Paulo.
- COUTINHO, L.M. e DIONELLO, S.B. 1980. O capim-gordura (*Me*linis minutiflora Beauv.) uma espécie de dia longo-curto para florescer. *Rev. Bras. Bot.* 3: 59-62.
- CUTTER, E. 1971. Plant anatomy: experiment and interpretation. Part 2, Addison - Wesley Publishing Co, Reading, p. 51.
- DUBOIS, M., GILLIES, K.A., HAMILTON, J.K., ROBERS, P.A. e SMITH, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.* 28: 350-356.
- EDELMAN, J. e JEFFORD, T.G. 1964. The metabolism of frutose polymers in plants. *Biochem. J.* 93: 148-161.
- ENDE VAN DEN, H. e ZEEVAART, J.A.D. 1971. Influence of daylength on gibberellin metabolism and stem growth in *Silene armeria*. *Planta* (Berl.) 98: 164-176.
- ESAU, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. John Wiley & Sons, Inc., New York, 550 p.
- ESTEVES, L.M. e FELIPPE, G.M. 1985. Germination and morphology os spores of *Trichipteris corcovadensis*. *Am. Fern. J.* 75: 92-102.

- EVANS, L.T. 1969a. A Short History of the Physiology of Flowering. In L.T. Evans (ed.) The Induction of Flowering. Mac Millan Company of Australia, Melbourne, pp. 1:13.
- EVANS, L.T. 1969b. The Induction of Flowering. Mac Millan Company of Australia, Melbourne.
- EVANS, L.T. 1971. Flower induction and the florigen concept. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 22: 365-394.
- EWING, E.E. e WAREING, P.F. 1978. Shoot, stolon, and tuber formation on potato (*Solanum tuberosum* L.) cuttings in response to photoperiod. *Plant Physiol.* 61: 348-363.
- FELIPPE, G.M. 1978a. Estudos de germinação, crescimento e floração de *Bidens pilosa* L. *Rev. Mus. Paulista* nova série 25: 183-217.
- FELIPPE, G.M. 1978b. Effects of photoperiod, GA_3 and CCC on flowering of *Panicum maximum*. *Hoehnea* 7: 11-16.
- FELIPPE, G.M. 1979. The flowering of tillers of *Panicum maximum* Jacq. *Rev. Bras. Bot.* 2: 87-90.
- FELIPPE, G.M. 1980. Insect growth hormones and their effects on some plants. *Cienc. Cult.* (São Paulo) 32 (10): 1384-1390.
- FELIPPE, G.M. e GIULIETTI, A.M. 1971a. Efeito do fotoperíodo, ácido giberélico e clóreto de 2-cloroetil trimetilamônio no crescimento de *Porophyllum lanceolatum* DC. *Hoehnea* 1: 41-60.
- FELIPPE, G.M. e GIULIETTI, A.M. 1971b. Efeito do fotoperíodo, ácido giberélico (GA_3) e clóreto de 2-cloroetil trimetilamônio (CCC) no desenvolvimento foliar de *Porophyllum lanceolatum* DC. *Hoehnea* 1: 61-79.
- FELIPPE, G.M., GIULIETTI, A.M. e LUCAS, N.M.C. 1971a. Estudos de germinação em *Porophyllum lanceolatum* DC. I - Efeito de luz, temperatura e fotoperíodo. *Hoehnea* 1: 1-9.

- FELIPPE, G.M., GIULIETTI, A.M. e LUCAS, N.M.C. 1971b. Estudos de floração em *Porophyllum lanceolatum* DC. II - Efeito de GA_3 e CCC na floração. *Hoehnea* 1: 29-40.
- FELIPPE, G.M., LUCAS, N.M.C. e GIULIETTI, A.M. 1971c. Estudos de floração em *Porophyllum lanceolatum* DC. I - Efeito do fotoperíodo na floração. *Hoehnea* 1: 21-27.
- FELIPPE, G.M., AMABIS, J.M., BOSCHINI FILHO, J. e ROSSI, C.L. de B. 1971d. Effects of known quantities of CCC on several plants. *Hoehnea* 1: 107-113.
- FELIPPE, G.M., PEREIRA, A.A., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. e BARRADAS, M.M. 1978. Flowering and corn germination in *Oxalis oxypetala*. *Cienc. Cult.* (São Paulo) 30: 983-990.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1980. Variações fisiológicas e metabólicas no xilopódio de *Ocimum nudicaule* Benth. var. *anisifolium* Giul. em diferentes estádios fenológicos. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo.
- FISCHER, D.B. 1968. Protein staining of ribonned upon sections for light microscopy. *Histochem.* 16: 92-96.
- FOSTER, A.S. 1938. Structure and growth of the shoot apex in *Ginkgo biloba*. *Bull. Torrey Bot. Club.* 65: 531-556.
- GARNER, W.W. e ALLARD, H.A. 1920. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *J. Agric. Res.* 18: 553-606.
- GIFFORD, E.M. Jr. e CORSON, G.E. Jr. 1971. The shoot apex in seed plants. *Bot. Rev.* 37: 143-229.
- GORDON, A.J., RYLE, G.J.A., MITCHELL, D.F. e POWELL, C.E. 1982. The dynamics of Carbon supply from leaves of Barley plants grown in long and short days. *J. Exp. Bot.* 33: 251-260.

- GRAHLE, A. e HOETZEL, C. 1963. Photoperiodische Abhängigkeit der Bildung des ätherischen Öls bei *Mentha piperita* L. *Naturwissenschaften* 50: 552.
- HANDRO, W. 1976. On the flower initiation in *Streptocarpus nobilis* C.B. Clarke (Gesneriaceae). *Bolm Botânica*, Univ. São Paulo, 4: 31-40.
- HANDRO, W. 1977. Photoperiodic induction of flowering on different explanted tissues from *Streptocarpus nobilis* cultured in vitro. *Bolm Botânica*, Univ. São Paulo, 5: 21-26.
- HANDRO, W. e MONTEIRO-SCANAVACCA, W.R. 1978. Changes in the shoot apex of *Streptocarpus nobilis* under conditions of photoperiodic induction. *Can. J. Bot.* 56: 365-369.
- HALMER, P. e BEWLEY, J.D. 1982. Control by external and internal factors over the mobilization of reserve carbohydrates in higher plants. In F.A. Loewers e W. Tanner (eds.) *Plant Carbohydrates I. Intracellular carbohydrates*. Encyclopedia of Plant Physiology New Series vol. 13 A, Springer Verlag. Berlin. pp. 748-793.
- HAVELANGE, A. e BERNIER, G. 1983. Partial floral evocation by high irradiance in the long-day plant *Sinapis alba*. *Physiol. Plant.* 59: 545-550.
- HEDLEY, C.L. e HARVEY, D.M. 1975. Variation in the photoperiodic control of flowering of two cultivars of *Antirrhinum majus* L. *Ann. Bot.* (Lond.) 39: 257-263.
- HEIDE, O.M. 1965. Photoperiodic effects on the regeneration ability of *Begonia* leaf cuttings. *Physiol. Plant.* 18: 185-190.
- HEINS, R.D. e WILKINS, H.F. 1979. Effect of soil temperature and photoperiod on vegetative and reproductive growth of *Alstroemeria* "Regina". *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 104: 359-365.
- HESLOP-HARRISON, J. e HESLOP-HARRISON, Y. 1969. *Cannabis sativa* L. In L. T. Evans (ed.) *The Induction of Flower*

- ing. Mac Millan Company of Australia, Melbourne pp. 205-226.
- HEWITT, J.D., CASEY, L.L. e ZOBEL, R.W. 1985. Effect of day length and night temperature on starch accumulation and degradation in Soybean. *Ann. Bot.* (Lond.) 56: 513-522.
- HICKLETON, P.R. e JOLLIFFE, P.A. 1980. Carbon dioxide and flowering in *Pharbitis nil* Choisy. *Plant Physiol.* 66: 13-17.
- HILLMAN, W.S. 1976. Biological rhythms and physiological timing. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 27: 159-179.
- IRELAND, C.R. e SCHWABE, W.W. 1982a. Studies on the role of photosynthesis in the photoperiodic induction of flowering in the short-day plants *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz and *Xanthium pensylvanicum* Wallr. I. The requirement for CO₂ during photoperiodic induction. *J. Exp. Bot.* 33: 738-747.
- IRELAND, C.R. e SCHWABE, W.W. 1982b. Studies on the role of photosynthesis in the photoperiodic induction of flowering in the short-day plants *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. and *Xanthium pensylvanicum* Wallr. II. The effect of chemical inhibitors of photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 33: 748-760.
- ISIKAWA, S. 1954. Light sensitivity against germination. I. Photoperiodism of seeds. *Bot. Mag.* (Tokyo) 67: 51-56.
- ISON, R.L. e HUMPHREYS, L.R. 1984. Day and night temperature control of floral induction in *Stylosanthes guianensis* var. *guianensis* cv. Schofield. *Ann. Bot.* (Lond.) 53: 207-211.
- JACOBS, W.P. 1980. Inhibition of flowering in short-day plants. In F. Skoog (ed.) *Plant Growth Substances* 1979. Springer-Verlag, Berlin pp. 301-309.

- JACOBS, W.P. e RAGHAVAN, V. 1962. Studies on the floral histogenesis and physiology of *Perilla* - I. Quantitative analysis of flowering in *P. frutescens* (L.) Britt. *Phytomorphology* 12: 144-167.
- JARVIS, M.C. e DUNCAN, H.J. 1974. Paper chromatography of plant sugars. *J. Chromatogr.* 92: 454-456.
- JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry: Principles and Practice. W.H. Freeman Co., London, 408 p.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. Mac Graw Hill Book Company, Inc., New York, 523 p.
- JOLY, A.B. 1983. Botânica. Introdução à taxonomia vegetal. Companhia Editora Nacional, São Paulo, 6ª edição pp. 582-586.
- KANDLER, O. e HOPF, H. 1982. Oligosaccharides based on sucrose (Sucrosyl Oligosaccharides) In F.A. Loewus e W. Tanner (eds.) Plant Carbohydrates I. Intracellular Carbohydrates. Encyclopedia of Plant Physiology New Series vol. 13 A, Springer Verlag, Berlin, pp. 348-383.
- KIRSZENZAFT, S.L. e FELIPPE, G.M. 1978. Effects of photoperiod and growth regulators on flowering of *Bidens pilosa* L. *Cienc. Cult.* (São Paulo) 30: 357-361.
- KIRSZENZAFT, S.L. e VÁLIO, I.F.M. 1976. The effect of growth regulators on height and leaf form in *Bidens pilosa* L. *Hoehnea* 6: 1-6.
- KIRSZENZAFT, S.L. e VÁLIO, I.F.M. 1977. Efeito do fotoperíodo na formação de ramos laterais em *Bidens pilosa* L. *Cienc. Cult.* (São Paulo) 29: 459-462.
- KIRSZENZAFT, S.L. e VÁLIO, I.F.M. 1979. Vegetative growth of *Bidens pilosa* L. under different photoperiods. *Rev. Bras. Bot.* 2: 41-44.

- LABOURIAU, L.G. 1969. Flower initiation in *Vicia graminea* Sm. *An. Acad. Bras. Cienc.* 41: 453-469.
- LABOURIAU, L.G. e COSTA, J.A.F. 1976. Objetivos e instalações básicas de um laboratório de fisiologia vegetal. Herman Lent (ed.). Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro pp. 1-59.
- LADEIRA, A.M., DIETRICH, S.M.C. e FELIPPE, G.M. 1982. Acetylcholine and flowering of photoperiodic plants. *Rev. Bras. Bot.* 5: 21-24.
- LANG, A. 1965. Physiology of flower initiation. In W. Ruhland (ed.) *Encyclopedia of Plant Physiology* vol. 15/1 Springer Verlag, Berlin, pp. 1380-1536.
- LANG, A. 1984. Die Photoperiodische Regulation von Förderung und Hemmung der Blütenbildung. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 97: 293-314.
- LEONARD, M., KINET, J.M., BODSON, M., HAVELANGE, A., JACQUARD, A. e BERNIER, G. 1981. Flowering in *Xanthium strumarium* Initiation and development of female inflorescence and sex expression. *Plant Physiol.* 67: 1245-1249.
- LORENZI, H. 1982. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. H. Lorenzi (ed.). Nova Odessa, p. 270.
- LUSH, W.M. e EVANS, L.T. 1980. Photoperiodic regulation of flowering in cowpeas (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Ann. Bot. (Lond.)* 46: 719-725.
- MARCONDES-FERREIRA, W. e FELIPPE, G.M. 1984. Effects of light and temperature on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. *Rev. Bras. Bot.* 7: 53-56.

- McCREADY, R.M., GUGGOLZ, J., SILVIERA, V. e OWENS, H.S.
1950. Determination of starch and amylose in vegetables. *Anal. Chem.* 22: 1156-1158.
- MELHEM, T.S. 1975. Desenvolvimento da plântula de *Dipterix alata* Vog. (Leguminosae-Lotoideae). *Hoehnea* 5: 91-121.
- METIVIER, J. e VIANA, A.M. 1979. The effect of long and short day length upon the growth of whole plants and the level of soluble proteins, sugars and stevioside in leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. *J. Exp. Bot.* 30: 1211-1222.
- MONTEIRO, A.M. e SHARIF, R.R. 1985. Fotoperíodo e correlação dos principais eventos do desenvolvimento de milho. *Rev. Bras. Bot.* 8: 163-168.
- MORGAN, D.G. 1977. Plant growth substances and flower development. *Pestic. Sci.* 8: 230-235.
- MUKUNO, D.R.O. e VÁLIO, I.F.M. 1985. Efeito de fatores ambientais na morfologia das folhas de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. (aguapé). *Rev. Bras. Bot.* 8: 231-239.
- NITSCH, J.P. 1963. The mediation of climatic effects through endogenous regulating substances. In L.T.Evans (ed.) *Environmental Control of Plant Growth*. Academic Press, New York, pp. 175-193.
- OJEHOMON, O.O., ZEHNI, M.S. e MORGAN, D.G. 1973. The effects of photoperiod on flower-bud development in *Phaseolus vulgaris*. *Ann. Bot. (Lond.)* 37: 871-874.
- PEREIRA, A.R. 1985. Previsão do florescimento em cana-de-açúcar. Comunicação da Pesquisa Agropecuária (Coordenação da Pesquisa Agropecuária, Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo) 3: 15-16.

- PEREIRA, M.F.A. e VÁLIO, I.F.M. 1984. Gibberellic acid and the inhibition of aerial tuberization in *Solanum tuberosum* L. *Plant Growth Regulation* 2: 41-47.
- POULHE, R., ARNAUD, Y. e MIGINIAC, E. 1984. Aging and flowering of the apex in young *Bidens radiata*. *Physiol. Plant.* 62: 225-230.
- POURRAT, Y. e JACQUES, R. 1975. The influence of photoperiodic conditions received by the mother plant on morphological and physiological characteristics of *Chenopodium polyspermum* L. seeds. *Plant Sci. Lett.* 4: 273-279.
- PRYKE, J.A. e BERNIER, G. 1978. Acid invertase activity in the apex of *Sinapis alba* during transition to flowering. *Ann. Bot. (Lond.)* 42: 747-749.
- RIDING, R.T. e GIFFORD Jr., E.M. 1973. Histochemical changes occurring at the seedling shoot apex of *Pinus radiata*. *Can. J. Bot.* 51: 501-512.
- ROSEN, H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch. Biochem. Biophys.* 67: 10-15.
- SACHS, R.M., KOFRANEK, A.M. e SHYR, S.-Y. 1967. Gibberellin-induced inhibition of floral initiation in *Fuchsia*. *Am. J. Bot.* 54: 921-929.
- SALISBURY, F.B. 1955. The dual role of auxin in flowering. *Plant Physiol.* 30: 327-334.
- SALISBURY, F.B. 1981. Responses to photoperiod. In O.L. Lange, P.S. Wobrel, C.B. Osmond e H. Ziegler (eds.) *Physiological Plant Ecology I. Encyclopedia of Plant Physiology New Series* vol. 12 A. Springer Verlag, Berlin, pp. 135-167.
- SAWHNEY, S., SAWHNEY, N. e NANDA, K.K. 1978. Effect of varying lengths of inductive and supplementary non-inductive photoperiods on vegetative growth and flowering of *Impatiens balsamina*. *Plant Cell Physiol.* 10: 647-653.

- SCHNEIDER, H. 1981. Plant anatomy and general botany. In G. Clark (ed.) Staining Procedures Used by the Biological Stain Commission. The Williams and Williams Co., Baltimore pp. 315-333.
- SCHWABE, W.W. 1952. Effects of photoperiodic treatment on stomatal movement. *Nature* (Lond.) 169: 1053-1054.
- SCHWABE, W.W. 1956. Evidence for a flowering inhibitor produced in long days in *Kalanchoe blossfeldiana*. *Ann. Bot.* (Lond.) N.S., 20: 1-14.
- SCHWABE, W.W. 1957. Recent work on the inhibitory effect of long days on the flowering of some short-day plants. Publ. No. 34, Ser. B. de l'U.S. I.B. Parma p. 95-109.
- SCHWABE, W.W. 1968. Studies on the role of the leaf epiderm in photoperiodic perception in *Kalanchoe blossfeldiana*. *J. Exp. Bot.* 19: 108-113.
- SCHWABE, W.W. 1969. *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. In L.T. Evans (ed.) The Induction of Flowering. MacMillan of Australia, Melbourne pp. 227-246.
- SCHWABE, W.W. 1970a. The control of flowering, growth and dormancy in *Kleinia articulata* by photoperiod. *Ann. Bot.* (Lond.) 34: 29-41.
- SCHWABE, W.W. 1970b. The control of leaf senescence in *Kleinia articulata* by photoperiod. *Ann. Bot.* (Lond.) 34: 43-55.
- SCHWABE, W.W. 1971. Physiology of vegetative reproduction and flowering. In F.C. Steward (ed.) Plant Physiology - a Treatise vol. VI A. Academic Press, Inc., New York pp. 233-411.
- SCHWABE, W.W. 1984. Photoperiodic induction - Flower inhibiting substances. In D. Vince-Prue, B. Thomas e K.E. Cockshull (eds.) Light and the Flowering Process. Academic Press, London pp. 143-153.

- SCHWABE, W.W. e WIMBLE, R.H. 1976. Control of flower initiation in long- and short-day plants - a common model approach. In N. Sunderland (ed.) Perspectives in Experimental Biology vol. 2 Botany. Pergamon Press, Oxford pp. 41-57.
- SIMMONDS, J. 1982. Temperature and photoperiodic control of flower initiation in a New Guinea *Impatiens* hybrid. *Can. J. Bot.* 60: 320-324.
- SNEDECOR, G.W. 1962. Statistical Methods. The Iowa State University Press, Iowa, 534 p.
- SOMOGYI, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *J. Biol. Chem.* 160: 61-63.
- SONDAHL, M.R., MONACO, L.C., CARVALHO, A. e FAZUOLI, L.C. 1972. Efeito de dias longos em progênies de café, tratadas com benziladenina e giberelina. *Cienc. Cult.* (São Paulo) 24: 336 (Suplemento).
- TEPPER, H.B. e GIFFORD Jr., E.M. 1962. Detection of ribonucleic acid with pyroxin. *Stain Technol.* 37: 52-53.
- TINUS, R.W. 1976. Photoperiod and atmospheric CO₂ level interact to control black walnut (*Juglans nigra* L.) seedling growth (Abstr.). *Plant Physiol.* 57(Suppl.): 106.
- TREVELYAN, W.E., PROCTER, D.P. e HARRISON, J.S. 1950. Detection of sugars on paper chromatograms. *Nature* (Lond.) 166: 444-445.
- VÁLIO, I.F.M. 1966. Efeito do fotoperiodismo na abscisão anual de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Toledo. *Arq. Bot. S. Paulo* 4: 105-108.
- VÁLIO, I.F.M. 1979. Reprodução em plantas superiores. In M.G. Ferri (ed.) *Fisiologia Vegetal* vol. 2. Editora Pedagógica e Universitária Ltda. e Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo pp. 281-312.

- VÁLIO, I.F.M. e VALLE, J.R. 1973. Influence of photoperiod on flowering of *Cannabis sativa*. *Cienc. Cult.* (São Paulo) 25: 533-535.
- VÁLIO, I.F.M. e ROCHA, R.F. 1977. Effect of photoperiod and growth regulator on growth and flowering of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Jpn. J. Crop Sci.* 46: 243-248.
- VALLE, J.R., VIEIRA, J.E.V., AUCÉLIO, J.G. e VÁLIO, I.F.M. 1978. Influence of photoperiodism on cannabinoid content of *Cannabis sativa* L. *Bull Narc.* 30: 67-68.
- VAN de POL, P.A. 1972. Floral induction, floral hormones and flowering. *Meded. Landbouehogesch Wageningen* 72-989 p.
- VINCE-PRUE, D. 1975. Photoperiodism in Plants. McGraw Hill Book Company, London, 444 p.
- VINCE-PRUE, D., THOMAS, B. e COKSHULL, K.E. 1984. Light and the Flowering Process. Academic Press, London, 301 p.
- WISE, C.S., DIMLER, R.J., DAVIS, H.A. e RIST, C.E. 1955. Determination of easily hydrolyzable fructose units in dextran preparations. *Anal. Chem.* 27: 33-36.
- VON WITSCH, H. 1965. Vergrünung und Verlaubung. In W. Ruhland (ed.) *Encyclopedia of Plant Physiology* vol. 15/2, Springer Verlag, Berlin pp. 352-364.
- YELENOVSKY, G. e GUY, C.L. 1977. Carbohydrate accumulation in leaves and stems of "Valencia" orange at progressively colder temperatures. *Bot. Gaz.* 138: 13-17.
- ZAIDAN, L.B.P. e FELIPPE, G.M. 1981. Floração de plantas do cerrado. I. *Bidens brasiliensis*. *Cienc. Cult.* 33: 747 (Suplemento).

- ZAIDAN, L.B.P., DIETRICH, S.M.C. e FELIPPE, G.M. 1980. Effect of photoperiod on flowering and stevioside content in plants of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Jpn. J. Crop Sci.* 49: 569-574.
- ZEEVAART, J.A.D. 1969. Perilla. In L.T. Evans (ed.). The Induction of Flowering. Mac Millan Company of Australia, Melbourne pp. 116-155.
- ZEEVAART, J.A.D. 1976. Physiology of flower formation. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 27: 321-348.
- ZEEVAART, J.A.D. 1984. Photoperiodic induction, the floral stimulus and flower - promoting substances. In D. Vince-Prue, B. Thomas e K.E. Cockshull (eds.) Light and the Flowering Process. Academic Press, London pp. 137-142.
- ZIMMERMAN, P.W. e HITCHCOCK, A.E. 1936. Tuberization of artichokes regulated by capping stem tips with black cloth. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 8: 311-315.