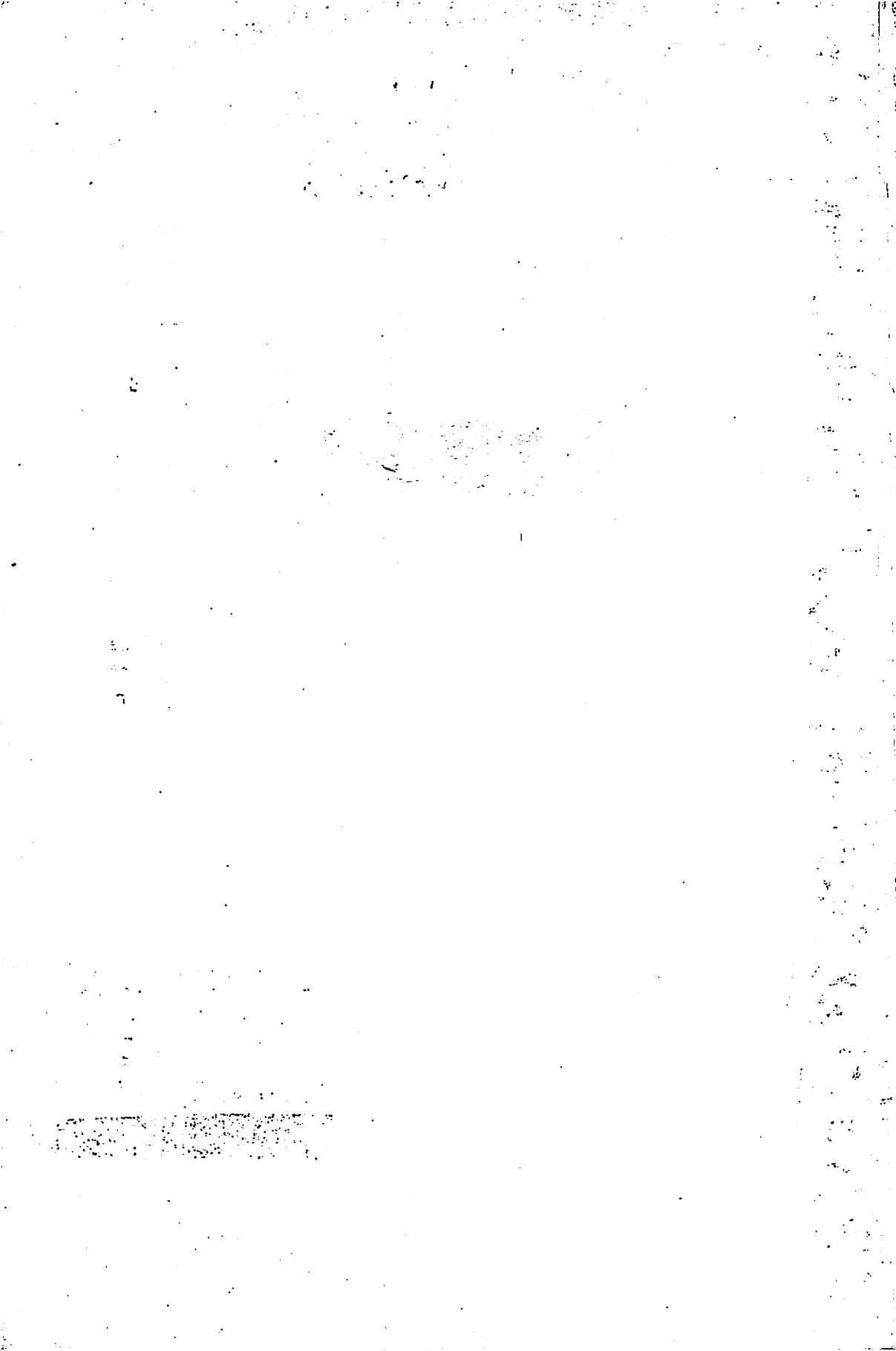


**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E
FITOQUÍMICOS DE PLANTAS DE
CONFREI (*Symphytum officinale* L.)**

ANA HORTÊNCIA FONSÊCA CASTRO

1999



47234

33164 MFN

ANA HORTÊNCIA FONSÊCA CASTRO

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DE PLANTAS DE
CONFREI (*Symphytum officinale* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. AMAURI ALVES DE ALVARENGA

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1999

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Castro, Ana Hortência Fonsêca

Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de plantas de confrei (*Symphytum officinale* L.) / Ana Hortência Fonsêca Castro. – Lavras : UFLA, 1999.
125 p. : il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Confrei. 2. *Symphytum officinale*. 3. Fitoquímica. 4. Fotoperíodo.
5. Alantoína. 6. Auxina. 7. Planta medicinal. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.88377

-615.321

-583.770413342

ANA HORTÊNCIA FONSÊCA CASTRO

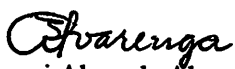
**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DE PLANTAS DE
CONFREI (*Symphytum officinale* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso
de Mestrado em Agronomia, área de
concentração em Fisiologia Vegetal, para
obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 11 de junho de 1999.

Pesquisadora Dra. Maria Cláudia Marx Young - IBT/ SP

Prof. Renato Paiva, PhD - UFLA


Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais Leila e Geraldo,
À minha irmã Maria Aparecida,
À vó Hortência e vô João,
Aos meus sobrinhos Matheus e Lucas,

DEDICO

À minha querida TIA CIDA,
Por seu apoio constante e exemplo de vida,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e serenidade na condução deste trabalho;

Aos meus familiares, pelo apoio e carinho constantes;

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Biologia, pela oportunidade;

Ao Prof. Amauri Alves de Alvarenga, pela orientação, amizade e estímulo;

À Pesquisadora Dra. Maria Cláudia Marx Young, do Instituto de Botânica/SP, pela orientação, atenção e amizade;

Às professoras Lisete C. Davide, Giovana A. Torres e Iara A. Mesquita, pelo apoio, estímulo e compreensão no transcorrer de todo curso;

Aos professores Eduardo Bearzotti, pelo auxílio em algumas análises estatísticas e Eduardo V. Vilas Bôas, pela disponibilização de seu laboratório para realização de algumas análises, no Departamento de Ciência dos Alimentos;

Ao Gui, pelo carinho, amizade e presença constante;

Aos colegas de curso, pela amizade e companherismo;

À Rose e Silvana pelo auxílio na montagem de alguns experimentos e análise de outros;

Aos funcionários do DBI, especialmente ao Joel e Odorêncio, pela valiosa ajuda na coleta das plantas e montagem dos experimentos;

Aos amigos do laboratório de Citogenética/DBI: Gaby, Rose, Juscélio, Vânia, Sandro, Juliane, por compreenderem minha ausência em vários momentos, durante a realização desse curso;

" Vocês foram parte fundamental nas várias etapas deste trabalho. À todos, os meus mais sinceros agradecimentos..."

BIOGRAFIA

ANA HORTÊNCIA FONSÊCA CASTRO, filha de Maria Leila Fonseca Castro e Geraldo Miranda Castro, nasceu em 23 de setembro de 1967, em Lavras-MG. Graduiu-se em Farmácia, em 1988 e em Bioquímica, em 1989 pela Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas (EFOA). Em janeiro de 1990 foi contratada como Bioquímica do Hospital Vaz Monteiro em Lavras, onde permaneceu até setembro de 1991, quando então foi aprovada em concurso público na Universidade Federal de Lavras, ocupando o cargo de Técnica em Laboratório do setor de Citologia/ Departamento de Biologia. Em março de 1997, iniciou o curso de mestrado em Agronomia - Fisiologia Vegetal, concluindo-o em junho de 1999.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1: Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de plantas de confrei (<i>Symphytum officinale</i> L.)	1
1 Introdução Geral	1
2 Referencial Teórico	2
2.1 Caracterização e importância de <i>Symphytum officinale</i> L.)	2
2.1.1 Propriedades terapêuticas	6
2.1.1.1 Alantoína	7
2.1.1.2 Alcalóides pirrolizidínicos	8
2.2 Influência das auxinas na propagação vegetativa de plantas.....	10
2.2.1 Aspectos anatômicos e fisiológicos do enraizamento	10
2.2.2 Auxinas	12
2.3 Efeito da luz no crescimento e na síntese de metabólitos secundários	14
2.3.1 Fotoperíodo	16
2.3.2 Influência do fotoperíodo na síntese e acúmulo de metabólitos secundários	19
3 Referências Bibliográficas	22
CAPÍTULO 2: Influência do ácido indol 3- butírico no crescimento inicial de plantas de confrei (<i>Symphytum officinale</i> L.)	33
1 Resumo	33

2 Abstract	33
3 Introdução	34
4 Material e Métodos	35
4.1 Caracterização geral	35
4.2 Instalação e condução do experimento	36
4.3 Características avaliadas	37
4.4 Delineamento experimental e análise estatística	37
5 Resultados e Discussão	38
5.1 Matéria seca total	38
5.2 Matéria seca foliar (lâminas foliares e pecíolos), raízes e rizomas	40
5.2.1 Lâminas foliares e pecíolos	40
5.2.2 Raízes e Rizomas	44
6 Conclusões	47
7 Referências Bibliográficas	48

CAPÍTULO 3: Influência do fotoperíodo no crescimento inicial de plantas de confrei (<i>Symphytum officinale</i> L.)	51
1 Resumo	51
2 Abstract	51
3 Introdução	52
4 Material e Métodos	54
4.1 Caracterização geral	54
4.2 Instalação e condução do experimento	54
4.3 Características avaliadas	56
4.4 Delineamento experimental e análises estatísticas	58
5 Resultados e Discussão	59

5.1 Matéria seca total e particionada	59
5.2 Área foliar	69
5.3 Razão de área foliar, razão de peso foliar, área foliar específica	73
5.4 Conteúdo de clorofila	78
6 Conclusões	80
7 Referências Bibliográficas	81

CAPÍTULO 4: Influência do fotoperíodo sobre a síntese e acúmulo de alantoína em plantas de confrei (<i>Symphytum officinale</i> L.)	86
1 Resumo	86
2 Abstract	87
3 Introdução	87
4 Material e Métodos	92
4.1 Instalação e condução do experimento	92
4.2 Determinação do conteúdo de alantoína nas amostras	94
4.2.1 Reagentes	94
4.2.2 Obtenção dos extratos	94
4.2.3 Preparo da solução padrão	95
4.2.4 Condições cromatográficas	95
4.3 Determinação dos conteúdos de amido e açúcares solúveis totais nas amostras	96
4.4 Delineamento experimental e análises estatísticas	96
5 Resultados e Discussão	97
6 Conclusões	107
7 Referências Bibliográficas	107
ANEXOS	113

RESUMO

CASTRO, Ana Hortência Fonsêca. Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de plantas de confrei (*Symphytum officinale* L.). Lavras: UFLA, 1999. 125 p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

O nome confrei é usado para designar plantas de diversas espécies do gênero *Symphytum*, pertencentes à família Boraginaceae. Este gênero abrange cerca de 25 espécies, originárias da Ásia e Europa. No Brasil, além de *Symphytum officinale* L., encontram-se comumente, *S. asperum* Lepech., *S. tuberosum* L., *S. uplandicum* Nym. e *S. peregrinum* L., todas introduzidas como forrageiras. Sob o aspecto medicinal, a planta toda e principalmente às raízes e rizomas são atribuídas diversas propriedades terapêuticas, como atividades hemostática e antiinflamatória, devidas principalmente a taninos e mucilagens e uma potente ação na cicatrização e regeneração de tecidos, atribuída comprovadamente à alantoína, composto nitrogenado derivado do metabolismo de purinas. A presença, no entanto, de um grupo de substâncias denominadas alcalóides pirrolizidínicos encontradas em grandes quantidades nas folhas limita seu uso via oral, sendo este proibido pelo Ministério da Saúde. O confrei propaga-se vegetativamente, através de segmentos de rizomas, sendo a ação de fitorreguladores como as auxinas, importante nesse contexto, por estimular tanto o enraizamento adventício, como o lateral das mudas, favorecendo assim seu o crescimento e desenvolvimento. Fatores ambientais como a luz, principalmente sob o ponto de vista de sua duração, agindo através de uma série de respostas, desempenha também um papel importante no funcionamento, na estrutura e sobrevivência das espécies, assim como na síntese de substâncias derivadas do metabolismo secundário. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivos principais, o estabelecimento de determinadas metodologias que otimizassem a propagação do confrei por via assexuada e a verificação da influência do fotoperíodo na produção de alantoína e no crescimento inicial dessa espécie.

Comitê Orientador: Amauri Alves de Alvarenga - UFLA (Orientador), Maria Cláudia Marx Young - Instituto de Botânica/SP (Co-orientadora).

ABSTRACT


CASTRO, Ana Hortência Fonsêca. **Physiological and phytochemical aspects of comfrey (*Symphytum officinale* L.) plants.** Lavras: UFLA, 1999. 125 p.

The name comfrey is used to identify several plant species of the *Symphytum* genus, Boraginaceae family. This genus contains around 25 species, originated from Africa and Europe. Besides *Symphytum officinale* L, it is found in Brazil, *S. asperum* Lepech., *S. tuberosum* L., *S. uplandicum* Nym. e *S. peregrinum* L., all introduced as forages. Regarding its medicinal aspect, the entire plant mainly to roots and rhizomes, some therapeutic properties are attributed such hemostatic and antiinflammatory activities, due to the presence of tanins and mucilages and a potent healing action and tissue regeneration attributed to allantoin, a nitrogenous compound derived off the purine metabolism. The presence however, of a group of substances known as pyrrolizidine alkaloids found in high amount in leaf tissues limits its oral use, being forbidden by the Health Ministry. The comfrey propagates asexually, through rhizome segments with auxin action also being an important factor in stimulating root formation which favors its growth and development. Environmental factors as light, mainly its duration, acting through a series of responses plays an important role on the function, structure and species survival as well as on the synthesis of substances derived from the secondary metabolism. Thus, the main objectives of the present work was to establish methodologies to optimize asexual comfrey propagation and verify the influence of photoperiod on the production of allantoin as well as on the species initial growth.

Guidance Committee: Amauri Alves Alvarenga - UFLA (Adviser), Maria Cláudia Marx Young – Instituto de Botânica/SP (Co-adviser)

CAPÍTULO 1: ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DE PLANTAS DE CONFREI (*Symphytum officinale* L.)

1 INTRODUÇÃO GERAL

 As plantas, além de suas funções de equilíbrio no ambiente podem também desempenhar papéis ornamentais e terapêuticos. Ao longo dos tempos, gerações transmitem ensinamentos sobre a flora e suas propriedades curativas; contudo, o crescimento da indústria farmacêutica, a pressão dos meios de comunicação e o mito do progresso, como símbolo do “moderno” provocaram o declínio das práticas populares de medicina. Com a dificuldade econômica da população diante dos altos preços dos medicamentos industrializados e a retomada da consciência ecológica que valoriza a natureza, a fitoterapia vem progressivamente despertando o interesse na área da pesquisa e da saúde pública. A introdução e difusão de produtos oriundos da flora medicinal, na indústria farmacêutica, para a retomada do uso de plantas medicinais como medicamentos favorece a população brasileira, além de atender às recomendações da OMS, para países em desenvolvimento.

A carência de informações científicas sobre plantas medicinais ou com potencial medicinal, tem levado cientistas a direcionarem suas pesquisas não somente ao nível farmacológico e químico, mas também aos níveis fitotécnicos do crescimento, desenvolvimento e produção. O conhecimento sobre o comportamento dessas espécies sob determinadas condições ambientais é de fundamental importância para maximizar a produção de seus princípios ativos. O teor dessas substâncias acumuladas em diferentes partes dos vegetais está sob o controle genético, podendo ser alterada pela ontogenia, por condições edafoclimáticas, pela exposição à luz, herbívoros ou mesmo poluentes

atmosféricos (Clemente Filha, 1996). Vários autores têm correlacionado a produção de compostos secundários à variações sazonais, estágio de desenvolvimento, reguladores de crescimento, estado nutricional e condições de estresse, que podem determinar maior ou menor acúmulo destes metabólitos (Chatteerjee e Raychaudhuri, 1992; Ghosh et al., 1993; Morales et al., 1993; Zobel et al., 1994; Cedeira et al., 1995).

Entre a diversidade de espécies de plantas medicinais selecionou-se para esse estudo o confrei (*Symphytum officinale* L.), espécie que possui algumas particularidades de interesse, como produção contínua durante todo o ano, alto poder de regeneração após o corte e alta adaptabilidade a diferentes tipos climáticos, sendo de grande importância nas regiões temperadas, por suas características de resistência à geadas podendo continuar seu crescimento, mesmo durante os meses de frio mais intenso. As folhas e, principalmente, as raízes e rizomas podem ser utilizados com finalidade medicinal, sendo muito empregados devido à suas propriedades cicatrizante e regeneradora de tecidos, anti-hemorragica e antiinflamatória, além de outras.

Por ser o confrei uma espécie pouco estudada com relação ao seu comportamento diante de diferentes condições ambientais, crescimento e biossíntese de metabólitos secundários de interesse terapêutico, procurou-se com este trabalho o estabelecimento de determinadas metodologias, visando a otimização da propagação do confrei por via assexuada e o estudo da influência do fotoperíodo na produção de alantoína e crescimento inicial dessa espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO GERAL

2.1 Caracterização e importância de *Symphytum officinale* L.

O confrei (*Symphytum officinale* L.) pertence à família Boraginaceae, sendo uma planta de clima temperado. Originária da Ásia e Europa foi introduzida em diversos países, inclusive em diversas regiões de clima tropical, onde se adaptou facilmente. No Brasil, ocorre em determinados estados, como Paraná, Amazonas e, principalmente, São Paulo (Alzugaray e Alzugaray, 1988), onde é encontrada apenas na forma cultivada (Matos, 1994). Além de *Symphytum officinale* L. encontra-se comumente *S. asperum* Lepech., *S. tuberosum* L., *S. uplandicum* Nym. e *S. peregrinum* L., todas introduzidas como forrageiras (Sousa et al., 1991). É conhecida também como consólida maior, erva do cardeal (Pio Corrêa, 1926), consólida, consólida do cáucaso, orelhas de asno, língua de vaca e leite vegetal da Rússia (Matos, 1994).

O gênero *Symphytum* designava na antiguidade, as várias plantas utilizadas no tratamento de fraturas ósseas. O termo deriva do grego symphein = soldar; já o nome popular consólida maior é derivado do latim e significa consolidar, robustecer. Desde a Idade Média, esta planta vem sendo utilizada em toda a Europa e mais recentemente em outros países, para consolidar ossos quebrados, curar feridas e úlceras e detêr hemorragias internas (Furlenmeier, 1984).

O confrei é uma planta de porte herbáceo, rizoma grosso, raízes fusiformes e fasciculadas. Os caules são eretos, ramosos, vigorosos, ásperos, angulosos, alados e ocos, atingindo de 30 a 90 cm de altura. Apresenta inflorescências em cimeiras geminadas curtas e escorpióides, com flores tubulosas de coloração branca, amarela ou violácea (Pio Corrêa, 1926). Possui folhas basais, ovado-agudas ou oblongo-lanceoladas, acuminadas e mais ou menos alongadas (Alzugaray e Alzugaray, 1988), longas (25 cm), sendo as inferiores maiores que as superiores, com nervuras bem visíveis (Matos, 1994). A floração ocorre de maio a julho (Furlenmeier, 1984).

As raízes contêm entre 5 a 10% de pirogalol, resina, goma, fécula, abundante quantidade de mucilagem, pequenas quantidades de essências, colina, asparagina e alantoína. Nas folhas é encontrado um alcalóide (sinfitocinoglosina), na proporção de 2 mg/100g de matéria fresca e o glicosídeo consolidina (em quantidades um pouco inferiores), ambos paralisantes do sistema nervoso central (Font Quer, 1962). Além desses compostos, Vieira et al. (1992) citam ainda a presença de taninos, vitaminas, minerais e ácido fólico, além de alcalóides pirrolizidínicos.

Em regiões propícias, o confrei nasce espontaneamente em terrenos frescos, ricos em matéria orgânica e úmidos (Alzugaray e Alzugaray, 1988). Propaga-se por divisão de touceiras e segmentos de rizomas, que devem ser enraizados em leitos de areia. O plantio deve ser feito de agosto a novembro, com espaçamento de 1,0 x 0,8 m (Martins et al., 1994) ou 0,5 x 0,5 m (Matos, 1994), ou o ano todo, quando houver condições de calor e umidade suficientes. É uma planta bem tolerante à seca e de alta produção de biomassa. As folhas são colhidas de 2 em 2 meses, a partir do 4º mês (Martins et al., 1994).

O confrei é uma espécie de grande importância, pois é utilizada tanto na culinária em geral, quanto como forrageira, sendo um destaque especial dado às suas propriedades medicinais, empregada com fins terapêuticos.

Na culinária, as folhas, um pouco amargas, quando tenras podem ser picadas e acrescentadas em saladas ou fervidas como espinafre. As flores, juntamente com as folhas podem ser adicionadas à hortaliças fervidas, no momento de servir (Vieira et al., 1992). Os rizomas branqueados substituem o aspargo (Alzugaray e Alzugaray, 1988), sendo adocicados, mucilaginosos, emolientes e um pouco adstringentes (Pio Corrêa, 1926).

Como forrageira é bastante utilizada devido a seu alto teor de proteína (em torno de 30%) e grande produção de massa verde (Martins et al., 1994).



FIGURA 1: Aspecto geral de plantas de confrei (*Symphytum officinale* L.), em franco desenvolvimento vegetativo. UFLA. Lavras, MG, 1998.

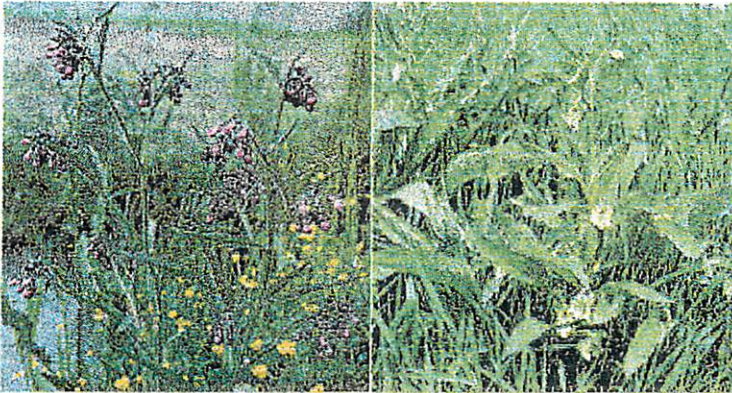


FIGURA 2: Aspecto geral das flores de confrei (*Symphytum officinale* L.). UFLA. Lavras, MG, 1998.

Segundo Stipp (1987), além dessas características, outras a consagram como uma planta de excelente qualidade forrageira, dada a sua riqueza em vitaminas (em especial a B₁₂), minerais, hidratos de carbono e aminoácidos essenciais. Apesar dessas vantagens, esta espécie possui um baixo teor de fibras (cerca de 12% de matéria seca), enquanto que a alfafa, sua maior “concorrente”, possui teores mais elevados.

2.1.1 Propriedades terapêuticas

Várias são as propriedades terapêuticas atribuídas ao confrei. Segundo Font Quer (1962), os primeiros relatos de suas aplicações foram descritos por Dioscórides no livro “Matéria Médica”, no qual assegura que as raízes do confrei “maceradas e bebidas são úteis aos que arrancam sangue do peito; aplicadas na forma de emplastos, soldam feridas frescas”.

De acordo com Duarte (1984), à planta toda, mas principalmente às raízes e rizomas são atribuídas diversas propriedades terapêuticas, tais como atividades hemostática e antiinflamatória, devidas à taninos e mucilagens e alta atividade cicatrizante, atribuída à substância alantoína, que atua como regeneradora, estimulando o crescimento de tecidos novos e saudáveis. Outras propriedades terapêuticas, recentemente descritas para esta espécie são anticoagulante (Chiryat’ev e Rusakova, 1994) e bactericida, antifúngica e anti-hipertensiva (Sener e Atta-Ur, 1994).

Portanto, o confrei é uma planta que tem propriedades cicatrizantes, analgésicas, antiinflamatórias, tônicas e galactogênicas, sendo muito indicada como poderoso cicatrizante em todos os processos regenerativos celulares, nas incisões pós-operatórias, úlceras varicosas, queimaduras, urticárias, dermatites atípicas e feridas de qualquer natureza, herpes, inflamações e irritações. Age

também no tratamento da bronquite, asma, males do pâncreas, anemias, na lactação aumentando o leite e seu poder nutritivo, nas fraturas como agente consolidador, na osteomalácia, osteomielite, pressão sanguínea, reumatismo, sinusite, tuberculose, colite, conjuntivite, celulite prematura e outras (Vieira, 1992).

Toda a planta, mas principalmente as raízes e rizomas, contém o princípio ativo terapêutico (alantoína) e outros princípios com atividade ainda controversa conhecidos como alcalóides pirrolizidínicos: sinfitina, equimidina e outros (Matos, 1994), além de taninos, mucilagens, colina, vitaminas, minerais e ácido fólico (Martins et al., 1994).

2.1.1.1 Alantoína

De acordo com Duarte (1984), a alantoína, quimicamente considerada como produto de oxidação do ácido úrico é largamente encontrada em plantas do gênero *Symphytum*, em estado livre e estável. Certos animais, com exceção do homem possuem a enzima uricase que promove esta oxidação. É considerada um produto final do metabolismo das purinas (Reinbothe e Mothes, 1962). Encontra-se nas folhas e, principalmente, nas raízes e rizomas, como componente químico comprovadamente estimulador do processo de cicatrização, devido a sua capacidade de promover a formação de novas células (Alzugaray e Alzugaray, 1988).

De acordo com Font Quer (1962), as raízes do confrei devem ser coletadas durante o outono ou primavera, antes de ocorrerem novos botões, porque nestas condições ocorre maior quantidade de alantoína.

Os teores de alantoína no confrei podem variar de acordo com a parte da planta analisada e época do ano. Kaczmarek e Walicka (1958) verificaram em

raízes, através de processo colorimétrico, um teor de alantoína de 0,7% na primavera, 0,6% no verão e 1,3% no outono. Font Quer (1962) relata que, em raízes, os teores de alantoína podem variar de 0,88 a 1,45%, enquanto que Santos, Torres e Leonart (1988) descrevem que, em raízes e em rizomas, a alantoína pode ser encontrada na proporção de 0,6 a 1%. Furlenmeier (1984) cita que, a quantidade de alantoína nas raízes alcança um máximo de janeiro a março e logo diminui nesse local, mas aumenta nas gemas, flores e botões jovens.

Vários são os métodos utilizados atualmente na determinação e quantificação de alantoína. Entre eles destaca-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), descrita por autores como Eiteman, Gordillo e Cabrera (1993), Terzuoli et al. (1994) e Terzuoli, Pandolfi e Arezini (1995). Além desse método, outros como cromatografia de camada delgada e métodos espectrométricos são também utilizados (Saito e Oliveira, 1986).

2.1.1.2 Alcalóides pirrolizidínicos

Com o avanço das pesquisas químicas foram isolados determinados componentes no confrei, caracterizados como alcalóides do grupo pirrolizidínico. Segundo Duarte (1984), eles são encontrados também em outras famílias botânicas como Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Apocinaceae, Sapotaceae, Santalaceae, Papilionaceae, além das Boraginaceae.

Os alcalóides pirrolizidínicos são considerados ésteres de amino-álcoois, de núcleo pirrolizidínico e de ácidos mono e di-carboxilílicos, possuindo como precursor o aminoácido ornitina (Duarte, 1984). Sua ação é bastante controversa. Vários trabalhos relatam seu efeito tóxico no fígado e pulmão e a possibilidade de comportamento carcinogênico dos mesmos, enquanto outros, citam que diversos alcalóides desse grupo apresentam atividade contra

determinados tipos de cânceres induzidos ou espontâneos em animais experimentais, além de outros efeitos terapêuticos. Embora seus teores sejam extremamente baixos (0,001 - 0,3%), Duarte (1984), cita que essa toxicidade é reconhecida pelo efeito cumulativo, decorrente do uso prolongado, em alguns órgãos do corpo como pulmões, baço e, principalmente, no fígado.

Farnsworth (1978) detectou a toxicidade do confrei sob a forma de chás, devido a presença de alcalóides pirrolizidínicos hepatotóxicos, como a lasiocarpina, a qual provocou câncer em fígado de rato, na dose de 50 mg/l. Estudos têm revelado que 0,5% das folhas de confrei utilizadas na dieta alimentar são suficientes para induzir câncer no baço e fígado. Mattocks (1980) detectou a presença de 8 alcalóides pirrolizidínicos com propriedades tóxicas no confrei e verificou que a sinfidina isolada comportou-se como indutora de câncer em ratos. Segundo esse autor, tanto as folhas como as raízes mostraram-se carcinogênicas. Neste aspecto, Couet, Crews e Hanley (1996) em estudos realizados sobre os níveis de alcalóides pirrolizidínicos em folhas e raízes de confrei verificaram que a parte da planta ingerida é extremamente importante quanto ao teor de alcalóides, sendo este maior em raízes, que em folhas e que o efeito dos alcalóides pirrolizidínicos isolados e de seus N-óxidos correspondentes é diferente dos alcalóides encontrados no extrato total das plantas.

Devido à toxicidade do confrei, que ocorre pela presença desses alcalóides pirrolizidínicos, vários autores recomendam apenas seu uso externo, sendo que a absorção dérmica das substâncias tóxicas parece não ser significativa (Martins et al., 1994). O uso via oral do confrei e suas preparações é proibido pelo Ministério da Saúde do Brasil e de outros países, sendo perigoso beber suco ou chá de confrei, ou comer suas folhas e raízes como verdura, devido ao grave risco de intoxicação hepática (Matos, 1994).

2.2 Influência das auxinas na propagação vegetativa de plantas

As auxinas compreendem um grupo de fitorreguladores que apresentam vários efeitos fisiológicos, sendo um dos principais, a formação de raízes laterais e adventícias, o que favorece a propagação vegetativa das espécies.

2.2.1 Aspectos anatômicos e fisiológicos do enraizamento

Segundo Hartmann, Kester e Davies Jr. (1990), há vantagens consideráveis na integração de aspectos bioquímicos, fisiológicos e anatômicos em estudos de enraizamento. A formação de raízes adventícias é um processo de desenvolvimento, que envolve uma sequência de eventos histológicos, em que cada estágio requer diferentes substâncias de crescimento (auxinas, citocininas, ácido giberélico, etc.), podendo ser estabelecidos 4 estádios: desdiferenciação, formação dos primórdios radiculares, diferenciação dos primórdios radiculares e alongação dos primórdios. A existência de células parenquimatosas, capazes de se regenerarem, de modo a formar um tecido meristemático é um requisito fundamental para formação de raízes adventícias.

As raízes adventícias são encontradas em todas as plantas vasculares, sendo formadas em um ou em diversos pontos, podendo ocorrer em nós, em associação com gemas de ramos axilares, mas também podem se originar, independentemente de gemas axilares. A origem dessas raízes é endógena e estas formam-se junto aos tecidos vasculares, a partir da expansão longitudinal de células do floema secundário jovem, podendo ainda originarem-se do câmbio, raios vasculares e medula (Westwood, 1982). Frequentemente, as primeiras raízes aparecem através do “calo”, tecido cicatricial, cuja formação representa o início

da regeneração. Na maioria das espécies, o enraizamento e formação de calo são processos independentes (Spethmann e Hamzah, 1988).

De modo geral, o crescimento de raízes é interpretado como um processo que envolve principalmente a expansão das células em sentido longitudinal. Contudo, um crescimento transversal também tem sido observado. Pulgarin et al. (1996) observaram que aplicação de ácido α -naftaleno acético (10^{-5} e 10^{-4} M) em raízes de alho mudou a polaridade de crescimento das células corticais e do periciclo, de longitudinal para transversal, sendo essa expansão bastante acentuada. O tratamento com auxina afetou a direção da expansão celular e a orientação dos microtúbulos corticais, induzindo assim uma reorientação mediada por esses microtúbulos.

Segundo Westwood (1982), a propagação assexuada se baseia no fato de que muitas células, mesmo de tecidos maduros, têm a capacidade de voltar ao seu estado meristemático, resultando na produção de novas raízes e/ou brotações. O equilíbrio entre nutrientes, auxinas e cofatores do enraizamento é a base fisiológica para a formação de raízes, sendo obtido através do controle de fatores ambientais, genéticos e químicos.

De acordo com Wareing e Phillips (1978), as auxinas constituem o grupo de reguladores de crescimento com maior efetividade na promoção do enraizamento. Segundo Bartel (1997), o AIA é a auxina endógena mais comumente encontrada nas plantas superiores, sendo o principal regulador de crescimento formador de raízes laterais e adventícias, ainda que, além dele, outras substâncias estejam envolvidas, como as giberelinas, que inibem a formação de raízes adventícias (Graebe, 1986) e citocininas, etileno e ABA, substâncias essas de menor importância nesse processo (Arteca, Bachman, Mandava, 1988).

2.2.2 Auxinas

O principal efeito da auxina sobre o enraizamento está ligado a sua ação sobre a iniciação de primórdios radiculares. Quando a auxina é aplicada num caule cortado, o transporte polar causa um rápido acúmulo da substância na porção basal. Depois de um tempo, a auxina acumulada neste local causará a produção de uma dilatação ou calo, contendo muitas células parenquimáticas, resultantes de novos centros meristemáticos ou da ativação dos meristemas existentes (Hartmann, Kester e Davies Jr., 1990). De acordo com Davies (1987), diferentes classes de substâncias promotoras do crescimento de plantas, incluindo auxinas, citocininas, giberelinas e etileno, bem como substâncias inibidoras como o ácido abscísico, retardantes de crescimento e compostos fenólicos influenciam na iniciação de raízes. No entanto, tem sido mostrado que as auxinas possuem um maior efeito sobre o enraizamento e atualmente são usadas comercialmente para essa finalidade. Alvarenga e Carvalho (1983) verificaram que a aplicação de auxinas em regiões excisadas promovem crescimento dentro de um certo limite, sendo que concentrações elevadas podem tornar-se inibitórias.

Weaver (1976) sugere que a função da auxina no enraizamento está relacionada à divisão e alongamento celular, estimulando a síntese ou desinibindo a ação de enzimas que atuam sobre as microfibrilas da parede celular, resultando num aumento da plasticidade da membrana. Segundo Takahashi, Ishida e Nagata (1995), geneticamente, a ação da auxina se dá possivelmente, através da ativação de genes responsáveis pela síntese de enzimas envolvidas no processo de alongamento e divisão celular. O alongamento promovido pela auxina pode ser explicado pela “hipótese ácida de crescimento”, na qual a expressão de genes responsáveis pela codificação de enzimas (ATPases), atuam modificando a estrutura da parede celular devido à extrusão de íons H^+ , promovendo assim o

afrouxamento e alongação celular (Edelmann e Schoffer, 1989; Rayle e Cleland, 1992). Neste aspecto, a calmodulina exerce um importante papel, pois é através da formação do complexo Ca^{+2} /calmodulina que ocorre a ativação de uma ATPase, responsável pela extrusão de íons H^+ para a porção externa da parede celular. Além da hipótese ácida, George (1996) afirma que as auxinas promovem o crescimento dos tecidos da planta, através de um efeito sobre o metabolismo do RNA (e portanto, síntese protéica), possivelmente induzindo a transcrição de moléculas de RNA mensageiro (mRNA) específico. Os mRNAs são capazes de codificar proteínas que são requisitos para o crescimento sustentado.

A ação das auxinas sobre a divisão celular é expressa através da modificação da atividade mitótica, sendo indispensável para a divisão celular em plantas superiores. No entanto, seu efeito no ciclo celular é menor que o da citocinina (MacMillan, 1980). Para Blakesley e Chaldecott (1993), a auxina induz a meristemização, ou seja, o câmbio retrocede ao estado embrionário que logo inclui indícios radiculares.

Além dos efeitos fisiológicos da auxina ao nível de enraizamento, sabe-se que esses fitorreguladores possuem uma ampla variedade de efeitos sobre o crescimento e morfogênese. Essa variedade de efeitos depende de um número de fatores, incluindo estágio de desenvolvimento do tecido ou órgão, concentração de auxina, tipo de auxina (natural ou sintética), envolvimento com outros fitorreguladores e uso de tecidos excisados intactos para experimentos (Dietz, Kutzchera e Ray, 1990).

A ação da auxina sobre o enraizamento depende da concentração em que a mesma é utilizada. Geralmente, concentrações de 10^{-10} a 10^{-9} M promovem o crescimento de mudas intactas, porém, concentrações de 10^{-6} M podem inibir o enraizamento, possivelmente por estimular a síntese de etileno (Eliasson, Bertell e Bolander, 1989).

Segundo Hoffmann (1994), o uso de reguladores de crescimento exógenos visa estabelecer um equilíbrio hormonal favorável ao enraizamento, elevando o teor das auxinas endógenas. Seu efeito fisiológico é mais pronunciado que o AIA, provavelmente por serem mais estáveis na planta (Silva, 1984), como o ácido 3-indol butírico (AIB) e o ácido naftaleno acético (ANA) e são, em geral, mais eficazes (Hoffmann, 1994). Esses compostos químicos não só aceleram a cicatrização do corte e a emissão de raízes, como também favorecem o número, comprimento e matéria seca de raízes (Silva, 1984; Hoffmann, 1994).

O AIA, uma auxina de ocorrência natural encontrada em uma variedade de espécies incluindo o milho, ervilha e *Arabidopsis thaliana* (Epstein e Ludwig-Muller, 1993) é o regulador de crescimento mais comumente empregado na indução do enraizamento adventício, sendo citada por vários autores como promotora do enraizamento (Sun e Bassuk, 1993; Baraldi e Bertazza, 1995; Karhu, 1997). O AIB é provavelmente a substância mais eficiente para ser usada com essa finalidade, pois é pouco fitotóxico em concentrações elevadas, relativamente estável (sendo menos fotooxidado), translocado facilmente e é insensível aos sistemas enzimáticos de degradação das auxinas; no entanto, apresenta ação auxínica fraca, sendo mais efetivo em concentrações maiores (Ludwig-Muller e Hilgenberger, 1995).

O ANA, apesar de apresentar atividade auxínica superior ao AIB, tem o inconveniente de apresentar a concentração ideal para indução do enraizamento, muito próxima daquela que lhe é tóxica (Pivetta, 1994).



2.3 Efeito da luz no crescimento e síntese de metabólitos secundários

O crescimento das plantas é controlado por fatores ambientais e genéticos, os quais operam conjuntamente através de processos fisiológicos.

Mudanças ambientais podem alterar o crescimento, através de sua influência sobre padrões e balanços em alguns processos como fotossíntese, respiração, síntese de hormônios, absorção de água e minerais e translocação de substâncias necessárias ao crescimento.

A luz, agindo através de uma variedade de respostas, desempenha papéis importantes no funcionamento, estrutura e sobrevivência de qualquer ecossistema, influenciando o padrão de muitos processos fisiológicos, garantindo a energia necessária ao processo fotossintético e transpiração e produzindo efeitos morfogênicos, os quais podem ser observados nas variações do tamanho de folha, crescimento de caule e vigor, razão caule-raiz e no controle fotoperiódico do florescimento, entre outros (Whatley e Whatley, 1982).

Os efeitos da radiação são acentuados ecologicamente por variações sistemáticas na qualidade e quantidade de radiação, relacionada com latitude, estação do ano e o comprimento do dia (Kozłowski, Kramer e Pallardy, 1991).

O desenvolvimento de uma planta pode ser regulado pela intensidade, qualidade e duração da luz. As respostas de uma planta à luz são em geral, denominadas de fotomorfogênese (Kendrick e Frankland, 1976), sendo o estímulo luminoso percebido por um pigmento fotorreceptor, o fitocromo. As respostas celulares à luz são provavelmente indiretas. Elas devem resultar de mudanças localizadas no equilíbrio dos hormônios e metabólitos, que por sua vez podem ser devidas a mudanças na permeabilidade da membrana mediada pelo fitocromo e mudanças enzimáticas resultantes da atividade de genes-chave (Tanaka et al., 1989). Assim, a qualidade da luz é de significância considerável na ação do fitocromo, sendo importante para o fototropismo, controle da germinação e do florescimento. A intensidade luminosa é importante não só para sua conversão em energia química, como também para alguns efeitos morfogênicos nas plantas, sendo a intensidade necessária para causar uma resposta mediada pelo fitocromo,

normalmente baixa. A duração da luz ganha importância para os efeitos fotoperiódicos, que controlam os padrões de desenvolvimento das plantas, incluindo aqueles que as tornam capazes de utilizar condições climáticas favoráveis e evitar as adversas, sendo detectada em muitas plantas por meio do sistema fitocromo. Contudo, a própria luz sofre mudanças significativas quanto a sua quantidade, duração e qualidade, levando à alterações na estrutura das comunidades vegetais (Attridge, 1990).

2.3.1 Fotoperíodo

Alguns autores como Kramer e Kozlowski (1979) e Thomas e Vince-Prue (1997) citam que os efeitos mais significantes da luz sobre o crescimento das plantas estão ligados à quantidade ou duração da luz. O comprimento do dia é o fator ambiental que proporciona a indicação mais exata da época do ano em que as plantas podem responder à mudanças na duração do dia, com uma substancial mudança no seu padrão de desenvolvimento. Esse fenômeno é denominado fotoperiodismo (Kendrick e Frankland, 1976) e foi introduzido inicialmente por Garner e Allard (1920), em trabalhos realizados com fumo e soja, com o objetivo de estudar a influência do comprimento do dia no florescimento dessas espécies.

O fotoperiodismo é um dos mais significantes e complexos aspectos da interação entre as plantas e seu ambiente e é o maior fator controlador de seu crescimento e desenvolvimento. Esse termo é derivado do grego “photós”- luz e “períodos”- duração do tempo e pode ser definido como respostas ao comprimento do dia, as quais habilitam os organismos vivos a se adaptarem a mudanças sazonais em seu ambiente, bem como a variações latitudinais. Talvez a definição mais usualmente empregada seja a de Hillman (1969), que define

fotoperíodo como a resposta dos organismos à duração relativa do dia e da noite. Para haver o efeito fotoperiódico, a quantidade de energia luminosa total necessária é insignificante, pois, na realidade, a duração do período do escuro é que atua como agente controlador de diversos processos fisiológicos de plantas (Thomas e Vince-Prue, 1997).

O fotoperiodismo atua diretamente em vários processos biológicos, como os fotossintéticos, morfológicos e fisiológicos das plantas (Bolonha, 1991). As respostas controladas pelo comprimento do dia são numerosas e normalmente são classificadas como respostas à floração, embora outros processos fisiológicos possam ser catalogados como respostas fotoperiódicas, tais como, formação de pigmentos vegetais, tuberização de raízes, dormência de gemas, germinação de sementes, formação de órgãos de armazenamento, crescimento vegetativo e síntese de alguns grupos de metabólitos secundários. Desses, a floração é o fenômeno mais estudado, sendo o período escuro o mais importante para a indução do florescimento (Câmara, 1991). Há evidências de que todas as respostas fotoperiódicas possuem um mecanismo inicial comum, com subsequente via bioquímica específica, regulando diferentes respostas.

A eficiência do crescimento pode ser relacionada à habilidade de adaptação das plantas às condições de luz do ambiente. Portanto, frequentemente as análises de crescimento são utilizadas como um importante instrumento na avaliação do grau de tolerância de diversas espécies a diferentes regimes de luz. A quantidade total de matéria seca acumulada pela planta é um reflexo direto da fotossíntese líquida, somada a quantidade de nutrientes absorvidos, o que corresponde a uma pequena parcela dela (Benincasa, 1988). De acordo com Logan e Krotkov (1968), a produção de matéria seca é o melhor índice de crescimento e pode ser útil para avaliar as condições relativas de luz requeridas pelas espécies.

A influência do fotoperíodo sobre o crescimento de várias plantas tem sido verificada por diversos autores como Carvalho (1975), Camargo (1984), Alvarenga (1987), Wolf, Marani e Rudich (1990), Amaral (1991), Bolonhezi (1991), Câmara (1991), Ballantyne (1995), Engels et al. (1995), Figueiredo (1995), Lorenzen e Ewing (1995), Clemente Filha (1996), Fahlén, Welander e Wennersten (1997), Juntilla et al. (1997) e Al Juboory (1998).

Tão importante quanto o peso de matéria seca total é o seu particionamento entre sistema radicular e parte aérea, sendo que tanto as raízes, como as folhas são importantes para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Dessa forma, as plantas contam com mecanismos que garantem uma condição de equilíbrio entre essas duas regiões, de modo que uma não limite o crescimento da outra (Scalon, 1992).

Outros parâmetros importantes são a área foliar e o teor de clorofilas. A avaliação da área foliar é um parâmetro muito utilizado para análise do comportamento das espécies sob diferentes condições relativas de luz, pois ela se correlaciona diretamente com a área da superfície fotossinteticamente útil (Benincasa, 1988). Segundo Jones e Macleod (1990), o aumento da área foliar é considerado uma maneira da planta aumentar rapidamente a superfície fotossintetizante, assegurando um melhor aproveitamento da luminosidade disponível, compensando assim as baixas taxas fotossintéticas por unidade de área foliar. O estudo da concentração de clorofilas assume importância considerável como um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e conseqüentemente ao crescimento e adaptabilidade a diversos ambientes (Engel e Poggiani, 1991). Entretanto, as respostas do teor de clorofila por unidade de área de diferentes espécies não são uniformes (Shirley, 1929; Bjorkman e Holmgren, 1963; Tinoco & Vasques-Yanes, 1985). Tanto a concentração de clorofila total, como a proporção entre clorofilas a e b tendem a mudar dependendo das

condições de luz a que as espécies são submetidas (Carvalho, 1975; Boardman, 1977; Lee, 1988). Segundo Kramer e Kozlowski (1979), a clorofila é constantemente sintetizada na presença de luz; no entanto, intensidades luminosas altas aceleram sua degradação .

2.3.2 Influência do fotoperíodo na síntese e acúmulo de metabólitos secundários

A biossíntese de metabólitos secundários é controlada geneticamente por fatores ambientais, que exercem consideráveis efeitos sobre sua acumulação (Chatterjee e Raychadhuri, 1992). ~~Dentre os fatores ambientais que interferem no acúmulo de compostos do metabolismo secundário, com atividade terapêutica encontra-se o fotoperíodo.~~

A exposição à luz em um intervalo de tempo maior possibilita o aumento na taxa de produtos do metabolismo, via fotossíntese (Clemente Filha, 1996). No entanto, segundo Whatley e Whatley (1982), o excesso de luz pode prejudicar o aparelho fotossintético; as folhas podem estiolar-se e a taxa fotossintética pode diminuir. Do mesmo modo, se as plantas ficarem sujeitas a um período prolongado de luz, elas não podem continuar fotossintetizando, por causa da impossibilidade temporária dos cloroplastos estocarem todo o amido adicional. Não há portanto, uma relação absoluta entre a duração do dia e o rendimento fotossintético.

Sobre o efeito do fotoperíodo nos níveis dos compostos secundários, sabe-se que vários constituintes bioquímicos variam em plantas crescendo em diferentes fotoperíodos. Pigmentos, como antocianinas podem ser influenciados pelo comprimento do dia. Em *Kalanchoe*, o controle da produção de antocianina parece estar ligado ao controle do comprimento do dia sobre o florescimento

(Neyland e Thimann, 1963). Em dias curtos, as folhas tornam-se vermelhas, mas em dias longos ou com quebra da noite, as folhas são verdes e pouco avermelhadas nas margens. Em contraste ao *Kalanchoe*, o conteúdo de antocianina em folhas de *Perilla* é reduzido, quando essa espécie é transferida para dias curtos, mas independentemente da indução. O conteúdo de antocianina foi sempre maior em dias longos que em dias curtos, sem restrição quanto a idade das mudas (Schumacker, 1966). Um outro tipo de interação entre fotoperíodo e formação de antocianina foi proposto por Camm et al. (1993), ao verificarem que a cor púrpura, característica de muitas espécies de pinheiros, no outono, podia ser decorrente do fotoperíodo recebido previamente em meses anteriores.

O comprimento do dia pode ser relatado, por afetar vários outros compostos secundários. Em *Lycopersicum hirsutum*, os níveis de um glicoalcalóide esteroidal (tomatina) foi mais elevado em dias longos que em dias curtos, com a mesma irradiância (Sinden, Schalk e Stoner, 1978). Altos níveis de alcalóides, bem como de compostos fenólicos foram também encontrados em plantas de tabaco crescidas em dias longos, quando comparadas com aquelas crescidas em dias curtos (Tso, Kasperbauer e Sorokin, 1970). Demeyer et al. (1992), trabalhando com cinco variedades de *Datura stramonium*, in vitro, avaliaram a produção de alcalóides em plantas crescendo no escuro e em fotoperíodo de 16 h. Através desses estudos verificou-se que o conteúdo de alcalóides (hiosciamina e escopolamina) foi elevado em culturas cultivadas no escuro e que altos conteúdos de alcalóides foram produzidos por calos de folhas crescidos em meio com baixa concentração de reguladores de crescimento.

A luz tem um profundo efeito nos níveis e composição de óleos essenciais. Os efeitos dos fatores ambientais sobre o metabolismo de terpenos são complexos, devendo-se ter cuidado na interpretação dos dados. Burbott e Loomis (1967) estudaram o crescimento e a produção de óleo essencial em hortelã-

pimenta (*Mentha piperita*) e verificaram que sua produção é grandemente afetada pelo comprimento do dia, havendo claramente, o efeito do fotoperíodo sobre o florescimento e crescimento vegetativo dessa espécie. Ambos são promovidos por períodos longos de luz ou por interrupção no período de escuro. Verificou-se que o aumento nas quantidades de óleos essenciais formados em condições inferiores de dias longos, parece ser um reflexo do aumento do crescimento. Entretanto, não está claro se esse efeito é fotoperiódico ou fotossintético. Na espécie *Origanum syriacum*, seu estágio de desenvolvimento é influenciado pelo fotoperíodo, pois em dias curtos as plantas se mantêm na fase vegetativa, enquanto que em dias longos ocorre florescimento. Entretanto, quando se verificou o efeito do fotoperíodo no conteúdo de óleos essenciais, observou-se que o maior acúmulo ocorria quando as plantas no estágio de desenvolvimento vegetativo eram expostas a fotoperíodos de 12 horas de luz. A variação no conteúdo de óleos essenciais foi causada principalmente pelos fatores ambientais e aqueles relacionados com o desenvolvimento da planta. Entretanto, não ficou claro se os efeitos ambientais (fotoperíodo) foram diretos ou indiretos, pelas mudanças no desenvolvimento das plantas (Dudai et al., 1992). Fahlén, Welander e Wennersten (1997) observaram em estudos realizados com diferentes espécies de *Mentha* sp. e com *Chamomilla recutita* L., que plantas expostas a um fotoperíodo de 21 horas produziam maiores concentrações de mentol e α -bisabolol, respectivamente, que em tratamentos com fotoperíodos mais curtos.

Suchorska, Jedrasszko e Olszewska-Kaczynsta (1992) estudaram a influência do comprimento do dia no conteúdo e composição de óleo essencial em artemisia (*Artemisia dracunculus* f. *dracunculus*) e verificaram que o rendimento de óleo essencial foi significativamente alto em dias de 16 h.. Dias longos promoveram um aumento no conteúdo de elencin, no óleo essencial e reduziram os níveis de metilcavicol, ocimeno e β -pineno + sabineno. Zeevaart e Gage (1993)

verificaram o efeito do fotoperíodo sobre a biossíntese de ent-kaureno, em plantas de espinafre (*Spinacea oleracea* L.) e em *Agrostemma githago* L., cultivadas sob condições de dias longos e verificaram que o padrão de acúmulo de ent-kaureno foi três vezes mais alto que em plantas crescidas em dias curtos. Em *Agrostemma githago* L., o acúmulo de ent-kaureno foi 2,5 vezes maior em plantas crescidas em dias longos, que em dias curtos. Ferreira et al. (1995) desenvolveram estudos com relação ao florescimento e produção de artemisina (*Artemisia annua*), uma lactona sesquiterpênica, em seis fotoperíodos diferentes, em casa de vegetação. Através destes estudos verificaram que em fotoperíodos curtos, as plantas floresciam após 2 semanas e em fotoperíodos longos levavam 10 semanas para florescer. Além disso, verificou-se também que a concentração de artemisina foi sempre elevada na antese e 4 a 11 vezes maior em inflorescências que em folhas.

Estudos com relação a níveis de irradiância e fotoperíodo podem ser realizados também para verificar-se qualitativamente os compostos secundários produzidos. Isto pode ser verificado através de estudos desenvolvidos por Voirin, Saunois e Bayet (1994) com *Mentha piperita*, no qual demonstraram os efeitos do fotoperíodo sobre o padrão de flavonóides resultantes. Através desses estudos observou-se que, sob condições de dias longos, o principal flavonóide acumulado foi a pebreлина e em condições de dias curtos, a gardenina B.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL JUBOORY, K.H.; WILLIAMS, D.J.; SKIRVIN, R.M.; BULLOCK, D.G. Influence of photoperiod, photosynthetic photon flux, and temperature on growth of Canary Island Ivy. *HortScience*, Virginia, v. 33, n. 2, p. 237-239, Apr./May 1998.

- ALVARENGA, A.A. **Estudo de alguns aspectos do desenvolvimento do feijão jacatupé (*Pachyrrhizus tuberosus* Lam. Spreng).** Campinas: UNICAMP, 1987. 174 p. (Tese - Doutorado em Biologia Vegetal)
- ALVARENGA, L.R. de; CARVALHO, V.D. **Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas.** *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, mar. 1983.
- ALZUGARAY, D.; ALZUGARAY, K. (eds.) **Enciclopédia de plantas brasileiras.** São Paulo: Três, 1988. 300 p.
- AMARAL, J.A.T. **do Crescimento vegetativo estacional do cafeeiro e suas inter-relações com fontes de N, fotoperíodo, fotossíntese e assimilação de nitrogênio.** Viçosa: UFV, 1991. 139 p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia)
- ARTECA, R.N.; BACHMAN, J.M.; MANDAVA, N.B. **Effects of indole-3-acetic acid and brassinosteroid on ethylene biosynthesis in etiolated mung bean hypocotyl segments.** *Journal of Plant Physiology*, Kyoto, v. 133, p. 430-435, 1988.
- ATTRIDGE, T.H. **Light and plant responses.** London: E. Arnold, 1990. 147 p.
- BALLANTYNE, D.J. **Cultivar, photoperiod and gibberellin influence shoot elongation and photosynthetic capacity of hardy azaleas.** *HortScience*, Virginia, v. 30, n. 2, p. 257-259, Mar. 1995.
- BARALDI, R. et al. **Auxins and polyamines in relation to differential in vitro root induction on microcuttings of two pear cultivars.** *Journal of Plant Growth Regulation*, Bolonha, v. 14, n. 1, p. 49-59, Jan. 1995.
- BARTEL, B. **Auxin biosynthesis.** *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Califórnia, v. 48, p. 51-66, Jan./Dec. 1997.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas.** Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1988. 41 p.
- BJORKMAN, O. ; HOLMGREN, P. **Adaptability of the photosynthetic apparatus to light intensity in ecotypes from exposed e shaded habitats.** *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 16, n. 4, p. 889-913, 1963.

- BLAKESLEY, D.; CHALDECOTT, M.A. The role of endogenous auxin in root initiation. II. Sensivity and evidence from studies on transgenic plant tissues. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, vol. 13, n. 1, p. 77-84, Jan. 1993.
- BOARDMAN, N.K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, California, v. 28, p. 355-377, Jan./Dec. 1977.
- BOLONHEZI, A.C. **Influência do fotoperíodo sobre o desenvolvimento da planta e a produção de raízes tuberosas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Piracicaba: UNESP, 1991. 228 p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia)
- BURBOTT, A.J. ; LOOMIS, W.D. Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. **Plant Physiology**, Maryland, v. 42, n. 1, p. 20-28, 1967.
- CÂMARA, G.M. de S. **Efeito do fotoperíodo e da temperatura no crescimento, florescimento e maturação de cultivares de soja (*Glycine max.* L. Merrill)**. Viçosa: UFV, 1991. 266 p. (Tese-Doutorado em Fitotecnia)
- CAMARGO, M. B. P. **Exigências bioclimáticas e estimativa da produtividade para quatro cultivares de soja no estado de São Paulo**. Piracicaba: ESALQ, 1984. 96 p. (Dissertação - Mestrado em Agrometereologia)
- CAMM, E. L.; MACCALLAM, J.; LEAF, E.; KOUHA-ABYAZANI, M.R. Cold-induced purpling of *Pinus contorta* seedlings depends on previous day-length treatment. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 16, n. 6, p. 761-764, 1993.
- CARVALHO, C.G. **Efeito de diferentes fotoperíodos na bulbificação e crescimento de dois cultivares de alho (*Allium sativum* L.)**. Viçosa: UFV, 1975. 43 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)
- CEDEIRA, R.M.N.; KRANS, J.V; FRANCA, S.C.; PEREIRA, A.M.S. Evaluation of emetine production in ipecac callus. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 47, n. 1/2, p. 76-78, jan./abr. 1995.

- CHATTERJEE, S. K.; RAYCHADHURI, S. P. Cultivation and quality improvement of medicinal plants in West Bengal. **Recent advances in medicinal, aromatic and spice crops.** (volume 2). In: INTERNATIONAL CONFERENCE HELD, 1989, New Delhi, India. CD-ROM. CAB Abstracts/1995.
- CHIRYAT'-EV, E.A. ; RUSAKOVA, O.A. . Species of the Siberian flora as sources of direct action anticoagulants. **Rastitel'nye Resursy, Moscou**, v. 30, n. 4, p. 21-28, 1994.
- CLEMENTE FILHA, A.C. **Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de *Bauhinia forticata* Link e *Plantago major* L.** Lavras: UFLA, 1996. 67 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal)
- COUET, C.E.; CREWS, C.; HANLEY, A.B. Analysis, separation and bioassay of pyrrolizidine alkaloids from comfrey (*Symphytum officinale*). **Natural Toxins**, New York, v. 4, n. 4, p. 163-167, 1996.
- DAVIES, P.J. **Plant hormones and their role in plant growth and development.** Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987. 681 p.
- DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E. **Biology of adventitious root formation.** New York: Plenum Press, 1994. 514 p.
- DEMEYER, K.; VANHASTE, F.; VELDE, A. VAN; DEJAEGUE, R.; VAN de VELDE, H. de **Introductory study for the optimization of growth and alkaloid production by cell cultures of *Datura stramonium* L.** **Acta Horticulturae**, Leuven, BE, n. 306, p. 210-218, 1992.
- DIETZ, A.; KUTZCHERA, U.; RAY, P.M. Auxin enhancement of mRNAs in epidermis and internal tissues of the pea stem and its significance for control of elongation. **Plant Physiology**, Maryland, v. 93, n. 3, p. 432-438, 1990.
- DUARTE, F. R. **Influência de dois tipos de solos sobre o teor total de alcalóides do comfrey.** Piracicaba: UNESP, 1984. 84 p. (Dissertação - Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas)

- DUDAL, N.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; PALEVITCH, D.; HALEVY, A.H. Monoterpene content in *Origanum syriacum* as affect by environmental conditions and flowering. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 84, n. 4, p. 453-459, Apr. 1992.
- EDELMANN, H.; SCHOPFER, P. Role of protein and RNA synthesis in the initiation of auxin-mediated growth in coleoptiles of *Zea mays* L. **Planta**, Berlin, v. 179, n.1, p. 475-485, Aug. 1989.
- EITEMAN, M. A.; GORDILLO, R. M.; CABRERA, M.L. Analysis of oxonic acid, uric acid, creatine, allantoin, xanthine and hypoxanthine in poultry litter by reverse phase CLAE. **Fresenius' Journal Analytical Chemistry**, Berlin, v. 348, p. 680-683, 1994.
- ELIASSON, L.; BERTELL, G.; BOLANDER, E. Inhibitory action of auxin on root elongation not mediated by ethylene. **Plant Physiology**, Maryland, v. 91, n.1, p. 310-314, Jan./Feb. 1989.
- ENGEL, V.L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento de mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 3, n. 1, p. 39-45, jan. 1991.
- ENGELS, C.; SCHWENKEL, J.; ELBEDEWYIR, R.; SATTELMACHER, R.B. Effect of the developmental stage of potato seedlings on recovery after transplanting to the field and on tuber yield. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 124, n. 2, p. 213-218, Feb. 1995.
- EPSTEIN, E.; LUDWIG-MULLER, J. Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 88, n. 4, p. 383-389, Aug. 1993.
- FAHLÉN, A.; WELANDER, M.; WENNERSTEN, R. Effects of light-temperature regimes on plant growth and essential oil yield of selected aromatic plants. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 73, n. 1, p. 111-119, Jan. 1997.
- FARNSWORTH, N. R. The present and future of phamacognosy. **News Letter of the American Society of Pharmacognosy**, v. 16, n. 1, p. 4-12. Jan. 1978.

- FERREIRA, J. F. S. Developmental studies of *Artemisia annua*: flowering and artemisinin production under greenhouse and field conditions. *Planta Médica*, Stuttgart, v. 61, n. 2, p. 167-170, 1995.
- FIGUEIREDO, S.A. Influência de reguladores de crescimento e fotoperíodo no crescimento secundário de raízes de *Ipomeoea batatas* (L.) Lam. Cv. *Brazilândia Branca* em condições "in vitro". Lavras: UFLA, 1995. 78 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)
- FONT QUER, P. *Plantas medicinales: el Dioscórides renovado*. Barcelona: Editorial Labor, 1962. 1033 p.
- FURLENMEIER, M. *Plantas curativas*. Suíça : Schwitterzug, 1984. 200 p.
- GARNER, W.W.; ALLARD, H. A. Effect of relative length of day and night and others factors of the environment on growth and reproduction in plants. *Journal of Agricultural Reserch*, Washington, v. 18, n. 11, p. 553-606, Mar. 1920.
- GHOSH, M.L.; CHATTERJEE, S.K.; PALEVITCH, D. (ed.), SIMON, J. E. (ed.); MATHE, A. Physiological and biochemical indexing of synthesis of essential oil in *Mentha* spp. Grow in India. *Acta Horticulturae*, Leuven, BE, n. 331, 351-356, 1993.
- GRAEBE, J.E. Gibberellin byosynthesis from gibberellin A₁₂- aldehyde. In: BOPP, M. (ed.) *Plant growth substances*. New York: Spring Verlag, 1986. p. 74-82.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JUNIOR., F.T. *Plant propagation: principles and practices*. 5 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1990. 647 p.
- HILLMAN, W.S. Photoperiodism, chelating agents and flowering of *Lemna perpusilla* and *L. gibba* in aseptic culture. In: MCELROY, W. D.; GLASS, B. *Light and life*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1969. p. 673-686
- HOFFMANN, A. *Propagação de mirtilo (Vaccinium ashei Reade) através de estacas*. Pelotas: UFPel, 1994. 85 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)

- JONES, R.H.; MCLEOD, K.W. Growth and photosynthetic responses to a range of light environments in chinese tallowtree and carolina ash seedlings. **Forest Science**, Washington, v. 36, n. 4, p. 851- 863, 1990.
- JUNTILLA, O.; HEIDE, O.M.; LINDGARD, B.; ERNTEN, A. Gibberellins and the photoperiodic control of leaf growth in *Poa pratensis*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 101, n. 1, p. 599-605, Sept. 1997.
- KACZMAREK, F.; WALICKA, A. Biological Instrument Roslin Lecznicych. 5: 89-96, 1959. In: **Chemical Abstracts** 54: 3606e.
- KARHU, S.T. Rooting of blue honeysuckle microshoots. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 48, n. 3, p. 153-159, 1997.
- KENDRICK, R.E. ; FRANKLAND, B. **Phytochrome and plant growth**. London: Edward Arnold, 1976. 100 p.
- KOZLOWSKI, T.T.; KRAMER, P.J.; PALLARDY, S.G. **The physiological ecology of woody plants**. California: Academic Press, 1991. 657 p.
- KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T.T. **Physiology of wood plants**. New York: Academic Press, 1979. 811 p.
- LEE, D.W. Simulating forest shade to study the development to ecology of tropical plants: Juvenile growth in three vines in India. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 4, p. 281-292, 1988.
- LOGAN, K. T.; KROTKOV, G. Adaptations of the photosynthetic mechanism of sugar maple (*Acer saccharum*) seedlings grown in various light intensities. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 22, n. 1, p. 104-116, Jan. 1968.
- LORENZEN, J. H.; EWING, E. E. Changes in tuberization and assimilate partitioning in potato (*Solanum tuberosum*) during the first 18 days of photoperiod treatment. **Annals of Botany**, New York, v. 66, n.4, p. 457-464, Oct. 1990.
- LUDWIG-MULLER, J.; HILGENBERG, W. Characterization and partial purification of indole-3-butyric acid synthetase from maize (*Zea mays*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 94, n. 1, p. 651-660, May 1995.

- MACMILLAN, J. **Hormonal regulation of development I: Molecular aspects of plant hormones.** Berlin: Springer-Verlag, 1980. 681 p.
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M. de; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais.** Viçosa: UFV, 1994. 220 p.
- MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** 2.ed. Fortaleza: UFC, 1994. 180 p.
- MATTOCKS, A.R. Toxic pyrrolidine alkaloids in Comfrey. **The Lancet**, London, v. 22, p.1136-1137, 1980.
- MORALES, M. R.; CHARLES, D.J.; SIMON, J.E.; PALEVIT, D. (ed.), PUTIEVSK, E. Seasonal acumulation of artemisinin in *Artemisia annua* L. **Acta Horticulturae**, Leuven, BE, n. 344, p. 416-420, 1993.
- NEYLAND, M.N.; THIMANN, K.V. Formation of antocianin in leaves of *Kalanchoe blossfeldiana* - a photoperiodic response. **Plant Physiology**, Maryland, v. 38, n. 4, p. 447-451, Oct./Dec. 1963.
- PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926, v. 2, 707 p.
- PIVETTA, K.F.L. **Estudos sobre o enraizamento de estacas enfolhadas de roseira (*Rosa sp.*) "Red Success".** Jaboticabal: UNESP, 1994. 151 p. (Tese - Doutorado em Produção Vegetal)
- PULGARIN, A.; CASERO, P.J.; CASIMIRO, I.; LLORET, P.G. Polar transverse expansion of pericycle cells in auxin treated adventitious roots of onion (*Allium cepa*). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.74, n. 4, p. 544-552, Apr. 1996.
- RAYLE, D.L.; CLELAND, R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. **Plant Physiology**, Maryland, v. 99, n. 4, p. 1271-1274, Aug. 1992.
- REINBHOTE, H.; MOTHE, K. Urea, ureides and guanidines in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Califórnia, v. 13, p.129-150, Jan./ Dec. 1962.

- SAITO, M.L.; OLIVEIRA, F. de Physical and chemical characteristics of fluid extract of *Cordia ecalyculata* Vell. (Boraginaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 3-11, jan./jun. 1986.
- SANTOS, C.A. DE M.; TORRES, K.R.; LEONART, R. **Plantas medicinais: herbarium, flora et scientia**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1988. 160 p.
- SCALON, S. de P.Q. **Estudo da germinação de sementes e produção de mudas de pau-pereira (*Platycyamus regnelli* Benth.)**. Lavras: ESAL, 1992. 63 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal)
- SCHUMACKER, R. **Lé métabolisme des anthocyane en relation avec la lumière et la floraison chez *Perilla nankinensis* (Lour)**. Decne. **Photochimie und Photobiologie**, Sta. Augusta, GA, v. 5, p. 413-422, 1966.
- SENER, B.; ATTA-UR, R. Recent results in the search of bioactive compounds from Turkish medicinal plants. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n. 10-11, p. 2295-2288, 1994.
- SHIRLEY, H.L. The influence of light intensity and light quality upon the growth of plants. **American Journal of Botany**, New York, v. 16, n. 3: 354-389, June 1929.
- SILVA, A.L. da **Influência do ácido indolbutírico (AIB) na obtenção de mudas enxertadas de videira (*Vitis* spp.) em um ciclo vegetativo**. Pelotas: UFPel, 1984. 51 p. (Dissertação - Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado)
- SINDEN, S.L.; SCHALK, J.M.; STONER, A.K. Effects of day-length and maturity of tomato plants on tomatine content and resistance to the Colorado Potato Beetle. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Virginia, v. 103, n. 6, p. 596-600, Nov/Dec. 1978.
- SOUSA, M.P. et al. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: UFC, 1991. 416 p.
- SPETHMANN, W.; HAMZAH, A. Growth hormone induced root system types in cuttings of some broad lived tree species. **Acta Horticulturae**, Leuven, BE, n. 226, p. 601-603, 1988.

- STIPP, S.R.C. Acumulação de nutrientes pelo confrei (*Symphytum L.*) em condições de casa de vegetação. Piracicaba: ESALQ, 1987. 83 p. (Dissertação - Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas)
- SUCHORSKA, K.; JEDRASZKO, B.; OLSZEWSKA KAEZYNSKA, I. Influence of daylength on the content and composition of the essential oil from taragon (*Artemisia dracunculus f. dracunculus*). *Annals of Warsaw Agricultural University, Warsaw*, n. 16, p. 79-82, 1992.
- SUN, W. Q.; BASSUK, N.L. Auxin-induced ethylene synthesis during rooting and inhibition of budbreak of "Royalty" rose cuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science, Virginia*, v.118, n.5, p.638-643, Sept./ Oct. 1993.
- TAKAHASHI, Y.; ISHIDA, S.; NAGATA, T. Auxin-regulated genes. *Plant and Cell Physiology, Kyoto*, v. 36, n. 3, p. 383-390, Apr./ May 1995.
- TANAKA, S.; YAMAURA, T.; SHIGEMOTO, R.; TABATA, M. Phytochrome-mediated production of monoterpenes in thyme seedlings. *Phytochemistry, Oxford*, v. 28, n.11, p. 2955-2957, 1989.
- TERZUOLI, L.; AREZZINI, L.; PANDOLFI, Separation and determination of liver uric acid and allantoin. *Journal of Chromatography B, Amsterdam*, v. 663, p. 143-147, 1995.
- TERZUOLI, L.; PIZZICHINI, M.; AREZZINI, L.; PANDOLFI, M.L.; MARINELLO, E.; PAGANI, R. Separation and determination of allantoin, uric acid, hydantoin and urea. *Journal of Chromatography A, Amsterdam*, v. 684, p. 350-353, 1994.
- THOMAS, B.; VINCE-PRUE, D. *Photoperiodism in plants*. 2.ed. Califórnia: Academic Press, 1997. 428 p.
- TINOCO, C.O.; VASQUEZ-YANES, C. Diferencias en poblaciones de *Piper hispidum* bajo condiciones de luz contrastante en una selva alta perenifolia In: GOMES-POMPA, A .; AMO, R.S. (eds.) *Investigaciones sobre la regeneration de Selvas Altas em Vera Cruz*. México: Alhambra Mexicana, 1985. Tomo II. p. 267-281.

- TSO, T.C.; KASPERBAUER, M.J.; SOROKIN, T.P.** Effect of photoperiod and end-of-day light quality on alkaloids and phenolic compounds of tobacco. **Plant Physiology, Maryland**, v. 45, n. 3, p. 330-333, Mar. 1970.
- VIEIRA, L.S.** *Fitoterapia da amazônia: manual de plantas medicinais (a Farmácia de Deus)*. 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1992. 347 p.
- VOIRIN, B.; SAUNOIS, A.; BAYET, C.** Free flavonoid aglycones from *Mentha piperita*: developmental, chemotaxonomical and physiological aspects. **Biochemical Systematics and Ecology, Oxford**, v. 22, n. 1, p. 95-99, 1994.
- WAREING, P.F.; PHILLIPS, I.D.J.** *The control of growth & differentiation in plants*. 2.ed. Oxford: Pergamon, 1978. 303 p.
- WEAVER, R.J.** *Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura*. México: Trillas, 1976. 622 p.
- WESTWOOD, M.N.** *Fruticultura de zonas templadas*. Madrid: Mundi-prensa, 1982. 461 p.
- WHATLEY, J.M.; WHATLEY, F.R.** *Light and plant life*. London: Edward Arnold, 1982. 101 p.
- WOLF, S.; MARANI, A.; RUDICH, J.** Effects of temperature and photoperiod on assimilate partitioning in potato plants. **Annals of Botany, New York**, v. 66, p. 513-520, 1990.
- ZEEVAART, J.A.D.; GAGE, D.A.** ent-Kaurene biosynthesis is enhanced by long photoperiods in the long-day plants *Spinach oleracea* L. and *Agrostemma githago* L. **Plant Physiology, Maryland**, v. 101, n. 1, p. 25-29, Jan. 1993.
- ZOBEL, A.M.; CHEN, Y.; BROWN, S.A.; GEIBEL, M. (ed.), TREUTTER, D. (ed.), FEUTCHT, W.** Concentrations of furanocoumarins under stress conditions and their histological localization. **Acta Horticulturae, Leuven, Be**, n. 381, 510-516, 1994.



CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DO ÁCIDO INDOL 3-BUTÍRICO NO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE CONFREI (*Symphytum officinale* L.)

1 RESUMO

Com a finalidade de avaliar a influência do ácido indol 3-butírico no crescimento inicial de plantas de confrei (*Symphytum officinale* L.), uma espécie amplamente utilizada devido às suas propriedades medicinais foi conduzido um experimento em casa de vegetação, no setor de Fisiologia Vegetal/DBI/UFLA, município de Lavras, MG, nos meses de março e abril de 1998. Segmentos de rizomas, obtidos a partir de plantas com 90 dias de idade foram submetidos a cinco concentrações (0, 50, 100, 150, 200 ppm) e três tempos de exposição (6, 12, 18 h.), ao ácido indol 3-butírico (AIB). O delineamento experimental empregado foi o delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 5x3x3, num total de 45 parcelas. Após 42 dias avaliou-se o peso de matéria seca total e particionada entre lâminas foliares, pecíolos, raízes e rizomas de confrei. Os resultados obtidos permitiram verificar que os tratamentos com AIB não afetaram o peso de matéria seca total, de lâminas foliares e pecíolos; contudo, um aumento nas concentrações de AIB promoveram um incremento de biomassa em raízes e rizomas, sendo o maior acúmulo de matéria seca nestes órgãos observado numa concentração de 200 ppm de AIB, por 6 horas. Do ponto de vista farmacológico, os resultados obtidos nos levam a acreditar num aumento da capacidade das plantas de confrei em acumularem maiores quantidades de alantoina, visto que a maior concentração desse princípio ativo encontra-se, sobretudo, nesses órgãos.

2 ABSTRACT

Influence of 3-Indolebutyric acid on the initial growth of comfrey (*Symphytum officinale* L.)

With the objective to evaluate the influence of 3-Indolebutyric acid on the initial growth of comfrey (*Symphytum officinale* L.) plants, a species used due to its medicinal properties, an experiment was conducted in a greenhouse, at the Plant Physiology unit-DBI/UFLA, Lavras city, Minas Gerais state, during the

months of march and april, 1998. Rhizome segments obtained from plants with 90 days of age were submitted to five IBA concentrations (0, 50, 100, 150 and 200ppm) and three incubation periods (6, 12 and 18h). The used experimental design was a randomized block, in a 5x3x3 factorial squeme. After 42 days, dry matter of total and fractionated leaves, petioles, roots and rhizomes of comfrey was evaluated. The results showed there was no IBA effect on dry matter of total and fractionated leaves and petioles; however, the increase in IBA concentration promoted a gain of root and rhizome biomass being higher when 200ppm IBA treatment is used during 6h incubation. Regarding the pharmacological property, the obtained results indicate an increase of comfrey plant capacity in accumulating higher amounts of allantoin.

3 INTRODUÇÃO

O confrei (*Symphytum officinale* L.) é uma planta usada tradicionalmente na medicina popular devido, principalmente, às suas propriedades cicatrizantes e regeneradoras de tecidos relacionadas à “alantoína”, princípio ativo encontrado em maiores concentrações em rizomas e raízes (Matos, 1994). Além dessas propriedades, a espécie apresenta ainda, atividade antiinflamatória e anti-hemorrágica devidas a taninos e mucilagens encontrados também em raízes e rizomas. Nas folhas encontram-se outros compostos com atividade terapêutica ainda controvertida, denominados alcalóides pirrolizidínicos. Pode ser produzida continuamente durante todo o ano, tem alto poder de regeneração após o corte, propagando-se vegetativamente através de segmentos de rizomas (Martins et al., 1994).

A capacidade que várias plantas possuem de formarem raízes a partir de porções excisadas é importante para propagação de várias espécies, desde que combinadas com condições químicas, mecânicas ou ambientais ótimas (Davis e Hassing, 1994). As auxinas são fitoreguladores clássicos, que controlam diversos aspectos da fisiologia e bioquímica do desenvolvimento vegetal,

constituindo o grupo de reguladores de crescimento mais efetivo na promoção do enraizamento, atuando tanto na formação de raízes adventícias, como de raízes laterais, ainda que outros fatores estejam envolvidos, como giberelinas, citocininas, etileno e ABA (Bartel, 1997). De acordo com Weaver (1976), a ação da auxina no enraizamento está relacionada à divisão e alongamento celular, estimulando a síntese ou desinibindo a ação de enzimas que atuam sobre as microfibrilas de celulose da parede celular, resultando num aumento da sua plasticidade. Do ponto de vista genético, sua ação se dá possivelmente através da desrepressão de genes responsáveis pela síntese de enzimas envolvidas no processo de alongamento e divisão celular (Takahashi, Ishida e Nagata, 1995).

O ácido indol 3-butírico (AIB) é uma substância com considerável atividade auxínica, embora de natureza sintética. Vários trabalhos relatam a superioridade do AIB no estímulo ao enraizamento (Sun e Bassuk, 1993; Baraldi et al., 1995; Karhu, 1997), o que se deve à menor mobilidade e maior estabilidade química do AIB no corpo da planta, já que é degradado mais lentamente pelo sistema AIA-oxidase.

Tendo em vista a falta de informações sobre a influência da auxina no processo de propagação do confrei, o presente trabalho teve por objetivo estudar a influência do AIB na rizogênese dessa espécie, visando estabelecer metodologias que permitissem a otimização de sua propagação por via assexuada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização geral

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Biologia, setor de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal de Lavras,

município de Lavras/ MG. A espécie botânica utilizada foi o confrei (*Symphytum officinale* L.), proveniente de áreas antrópicas do mesmo município.

4.2 Instalação e condução do experimento

Foram utilizados 45 vasos de polietileno com capacidade para 8 kg de substrato cada, furados na base para facilitar a drenagem do excesso de água. O substrato utilizado para enchimento dos vasos foi constituído de uma mistura de terra de subsolo:areia:esterco, na proporção de 2:1:1. O solo utilizado para enchimento dos vasos foi classificado como Latossolo Vermelho Escuro, Horizonte B, segundo o Departamento de Ciência do Solo/UFLA, para onde foi encaminhada também uma amostra para análise no Laboratório John Weelock, (anexo A, tabela 1A). O esterco utilizado foi o de gado, bem curtido, peneirado e incorporado de forma homogênea ao substrato.

As mudas foram obtidas através de plantas de confrei, com 90 dias de idade, retiradas de um mesmo canteiro e selecionadas dentro de um mesmo padrão de tamanho e vigor. As folhas foram cortadas e os segmentos de rizomas separados, de modo que cada muda foi constituída de cinco pecíolos por segmento de rizoma. As mudas foram então separadas em três grupos, conforme o tamanho dos rizomas, quantidade e vigor de raízes e imersas em solução de AIB, nas concentrações 0, 50, 100, 150 e 200 ppm, nos tempos de 6, 12, 18 h. Foi utilizado AIB ($C_{12}H_{13}NO_2$) produzido pela MERCK, com 99% de pureza, o qual foi inicialmente dissolvido com quatro gotas de NaOH 0,5 N e, posteriormente, dissolvido em quantidade de água suficiente para preparo das soluções nas concentrações desejadas. Imediatamente após a imersão em AIB, as mudas foram transferidas para o substrato, a uma profundidade de 2/3 de seu comprimento.

Durante o período de condução do experimento, as mudas foram regadas diariamente, com água de torneira, utilizando-se um recipiente de volume conhecido, sendo o solo mantido próximo de sua capacidade de campo. Não foi empregado nenhum tipo de adubação complementar nesse período.

O experimento foi conduzido por um período de 42 dias, nos meses de março e abril/98, em casa de vegetação coberta com telas de polioleifinas, de cor preta, cujas malhas permitiam um nível de radiação de 50% (em média $699 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$), determinado através de porômetro modelo Steady State Porometer LI-COR 1600 M. A descrição das condições climáticas existentes durante o período de condução do experimento podem ser encontradas no anexo A, tabela 2A.

4.3 Características avaliadas

Após 42 dias do início do experimento, avaliou-se o peso de matéria seca total e particionada entre lâminas foliares, pecíolos, raízes e rizomas.

As lâminas foliares e os pecíolos foram cortados e colocados em sacos de papel para secagem. As raízes e rizomas foram lavados em água corrente, para retirar o substrato aderido, separados, colocados também em sacos de papel e levados para secar em estufa 70°C , até peso constante. A pesagem foi feita em balança analítica digital, com precisão de 4 dígitos.

4.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o em blocos ao acaso, com 3 repetições e uma muda por repetição, em um esquema fatorial composto por 2 fatores, que foram: concentração da solução de AIB (0, 50, 100, 150, 200 ppm) e

período de imersão na solução de AIB (6, 12, 18 h), constituindo-se um total de 45 parcelas. Cada repetição foi constituída de um segmento de rizoma de padrão igual ao descrito anteriormente.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância para o peso de matéria seca total, lâminas foliares e pecíolos e ao estudo de regressão para o peso de matéria seca de raízes e rizomas, seguindo modelos matemáticos próprios para o delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial, proposto por Gomes (1990). Para comparação dos contrastes entre as médias dos tratamentos, utilizou-se Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos foram analisados através do programa estatístico SANEST (Sistema de Análise Estatística), de autoria de Elio P. Zonta e Amauri A. Machado. Os dados não sofreram qualquer tipo de transformação.

5.1 Peso de matéria seca total

A análise dos dados obtidos demonstrou que a aplicação do AIB, nas diferentes concentrações e tempos de imersão testados, não promoveu qualquer efeito sobre o acúmulo de matéria seca total das plantas (FIGURA 1).

Para Takahashi, Ishida e Nagata (1995), os efeitos da auxina sobre o crescimento se dão pela ativação da expressão de vários genes, em diferentes células e em diferentes estágios. Dessa forma, as células que compõem os vários órgãos da planta apresentam uma sensibilidade diferencial ao efeito desse fitorregulador. Várias respostas celulares para as auxinas têm sido explicadas em parte, como resultado dessa sensibilidade diferencial das células de vários órgãos

da planta a esses fitorreguladores. Além disso, alguns autores como Kustschera e Schopfer (1985), sustentam a idéia de que o crescimento pode ser limitado também, mecanicamente, devido a presença da cutícula, que recobre as células epidérmicas dos vegetais. Essa camada cerosa, dificultaria a entrada da auxina exógena, protegendo as células e neste caso apenas uma fração de células responderia ao efeito da auxina exógena.

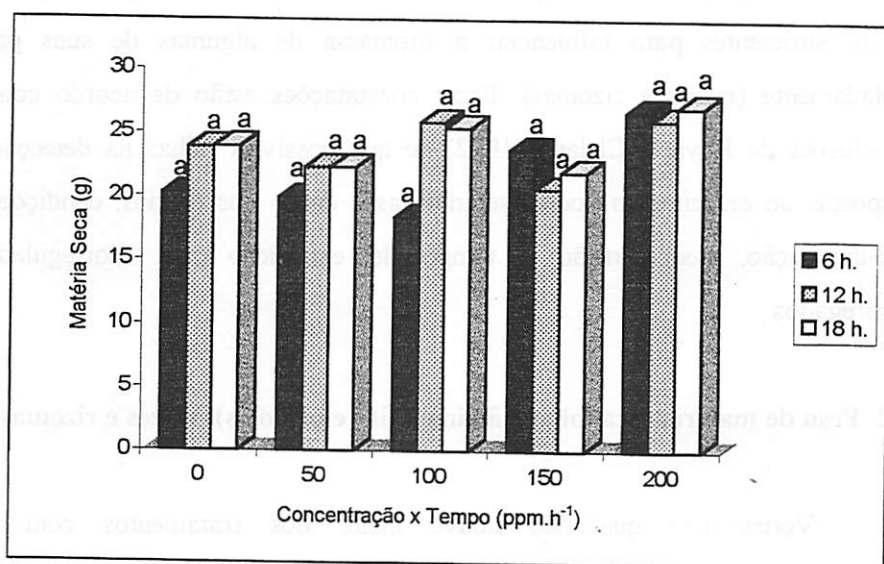


FIGURA 1. Peso de matéria seca total média, em relação às concentrações e tempos de exposição ao AIB, de plantas de confrei. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. UFLA. Lavras, MG, 1998.

Um outro fator bastante importante a ser considerado é o fato de que nas plantas existe uma determinada quantidade de auxina endógena, localizada em regiões de crescimento. Esta quantidade, no entanto é extremamente pequena. Para que a auxina aplicada exogenamente possa exercer algum tipo de efeito é

necessário que a quantidade absorvida pela planta, seja suficiente para elevar os níveis endógenos, a fim de que seus efeitos no crescimento da planta sejam traduzidos num aumento de seu peso de matéria seca. No caso específico deste experimento, acredita-se que a quantidade de auxina exógena absorvida pela planta, não tenha sido suficiente para elevar os teores endógenos de auxinas a uma concentração suficiente, capaz de promover uma influência significativa nos padrões de fitomassa total das plantas submetidas a esses tratamentos. Contudo, foram suficientes para influenciar a fitomassa de algumas de suas partes isoladamente (raízes e rizomas). Estas constatações estão de acordo com as conclusões de Rayle e Cleland (1992) de que possíveis falhas na detecção de respostas ao crescimento podem ser devidas a danos nos tecidos, condições de pré-incubação, concentração e tempo de exposição aos fitorreguladores empregados.

5.2 Peso de matéria seca foliar (lâmina foliar e pecíolos), raízes e rizomas

Verificou-se que não houve efeito dos tratamentos com AIB (concentração e tempo) sobre o peso de matéria seca das lâminas foliares e pecíolos; no entanto, as concentrações de AIB empregadas foram suficientes para afetar o acúmulo de matéria seca de raízes e rizomas.

A FIGURA 2 mostra uma visão geral das plantas, após terem sido submetidas a diferentes concentrações e tempos de exposição ao AIB.

5.2.1 Lâminas foliares e pecíolos

A FIGURA 3 mostra o acúmulo de fitomassa em lâminas foliares e pecíolos, após o tratamento com AIB. Verifica-se que apesar da fitomassa variar



FIGURA 2. Plantas de confrei, com 42 dias de idade, submetidas à diversas concentrações e tempos de exposição ao AIB. A) 0 ppm/6 h; B) 50 ppm/6h; C) 100 ppm/6h; D) 150 ppm/6h; E) 200 ppm/6h; F) 0 ppm/12 h; G) 50 ppm/12h; H) 100 ppm/12h; I) 150 ppm/12h; J) 200 ppm/12h; K) 0 ppm/18 h; L) 50 ppm/18h; M) 100 ppm/18h; N) 150 ppm/18h; O) 200 ppm/18h. UFLA. Lavras, MG, 1998.

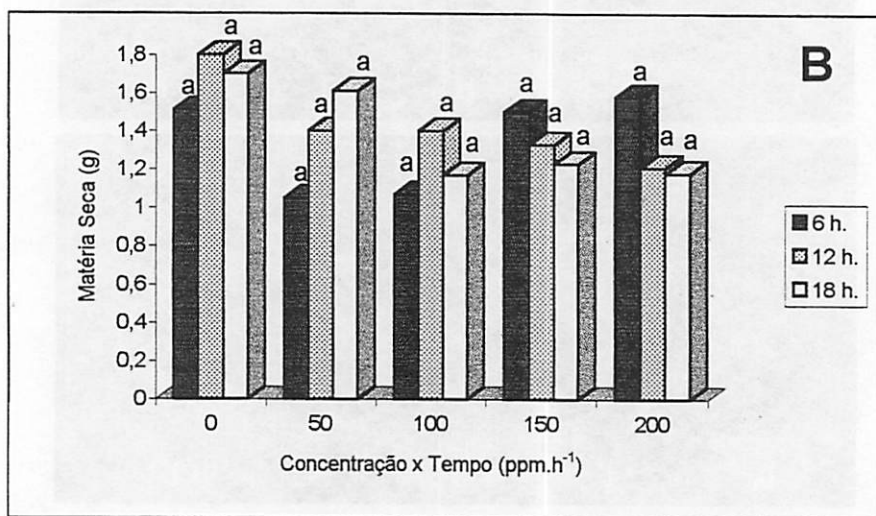
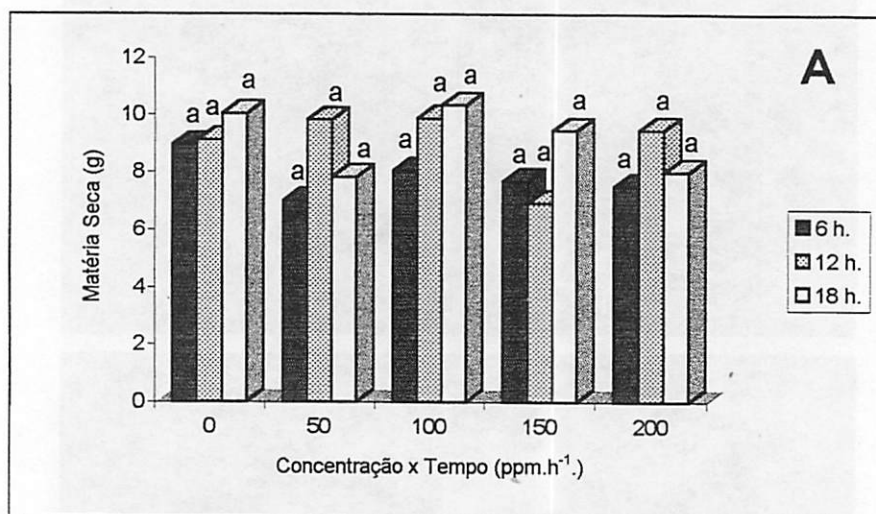


FIGURA 3. Peso médio de matéria seca, em relação às concentrações e tempos de exposição ao AIB, de segmentos de rizomas de confrei: A) Lâminas foliares; B) Pecíolos. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. UFLA. Lavras, MG, 1998.

com os tratamentos, esta variação não é significativa. Dessa forma percebe-se que o ganho de matéria seca das folhas foi o mesmo em todos os tratamentos testados.

As folhas são fontes contínuas da produção de fotoassimilados, como carboidratos, produtos nitrogenados e sinérgicos da auxina, os quais ao serem translocados e em cooperação com as auxinas promovem um maior crescimento dos outros órgãos, o que se traduz num aumento de sua peso de matéria seca (Wang e Andersen, 1989).

Van Overbeek, Gordon e Gregory (1946), verificaram que a principal função das folhas no processo de formação de raízes seria a mobilização de carboidratos e substâncias nitrogenadas presentes nas plantas. Para Souza et al. (1992), a emissão foliar é um forte indicativo da capacidade de enraizamento da planta e contribui para o aumento do número de raízes adventícias. Vários trabalhos citam que a influência da área foliar na rizogênese é considerável e que a matéria seca utilizada para o crescimento da raiz, principalmente quando é mobilizada das folhas, promove uma redução na peso de matéria seca das mesmas durante as amostragens, sugerindo maior eficiência de exportação (Petrechen, 1988; Pivetta, 1990; Deschamps, 1993; Pivetta, 1994; Martins, 1998).

Considerando-se que o confrei se propaga via segmentos de rizomas, verifica-se que no crescimento inicial dos rizomas não há contribuição das folhas, já que as mesmas são seccionadas para obtenção das mudas. O crescimento inicial se dá pela presença de gemas caulinares apicais e também pela absorção de água e sais minerais por raízes remanescentes. As reservas e taxas fotossintéticas de segmentos de brotações sem folhas são insuficientes para o processo da rizogênese (Deschamps, 1993). O que é então inicialmente absorvido pela planta é direcionado por ela para a formação de folhas; quando as primeiras folhas

começam a surgir, observa-se um início no crescimento e desenvolvimento de raízes ou rizomas.

Pelos resultados obtidos verifica-se que apesar do ganho de matéria seca pelas folhas ter sido o mesmo, independente dos tratamentos aplicados, estes foram suficientes para que a quantidade de fotoassimilados produzidos fossem utilizados pela planta para a formação e crescimento de raízes e rizomas estimulados pela auxina.

5.2.2 Raízes e rizomas

Os resultados obtidos mostraram o efeito das concentrações de AIB empregadas, sobre o peso de matéria seca de raízes e rizomas; contudo, nenhum efeito foi verificado com relação ao tempo de exposição dos propágulos ao fitorregulador. O estudo da regressão polinomial do peso de matéria seca desses órgãos, em relação às concentrações de AIB empregadas, revelaram uma resposta linear dessas variáveis, em função das concentrações de AIB utilizadas, sendo observado um incremento na produção de fitomassa em raízes e rizomas, da ordem de 65,6% e 67,4%, respectivamente, quando as plantas foram tratadas com 200 ppm de AIB (FIGURA 4). Resultados semelhantes quanto ao enraizamento, na presença de diferentes concentrações de AIB foram obtidos também por outros autores, como Martins (1985), Pivetta (1990, 1994), Hoffmann (1994), Pasqualetto (1995), respectivamente em lichia, noqueira-macadâmia, roseira, mirtilo e soja.

Um aumento no acúmulo de matéria seca nas raízes e nos rizomas das plantas é possivelmente, um reflexo da aplicação exógena de auxinas, associado a fatores ambientais adequados, como boa disponibilidade de água, nutrientes e temperatura, os quais, agindo em conjunto, proporcionaram uma maior

porcentagem de enraizamento nas plantas, favorecendo o desenvolvimento de raízes e rizomas, sendo este expresso na forma de um maior acúmulo de matéria seca nestes órgãos.

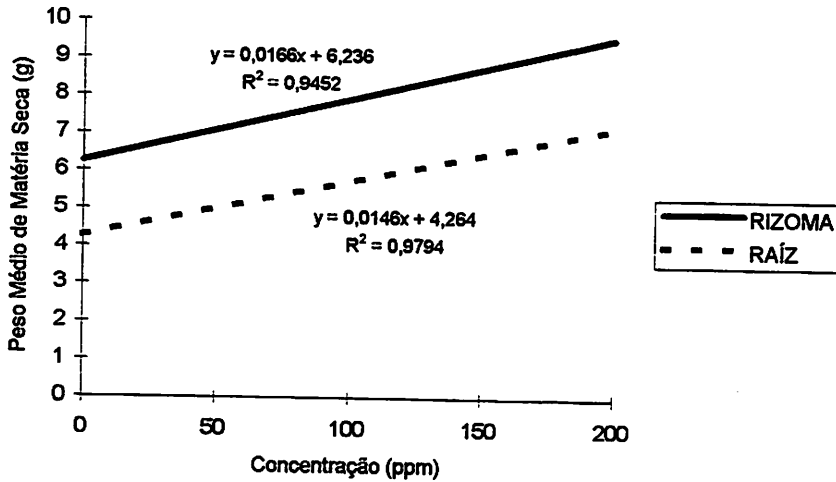


FIGURA 4. Efeito do AIB no peso de matéria seca de raízes e rizomas de confrei. UFLA, Lavras, MG, 1998.

Segundo Anand e Heberleing (1975), a aplicação de auxinas contribui para incrementar o peso de matéria seca de raízes, em função de um possível aumento na atividade cambial, enzimática e síntese de proteínas. Este fato é bastante interessante, visto que, no caso do confrei, seu princípio ativo, a alantoína, concentra-se principalmente em raízes e rizomas. Então, possivelmente, o tratamento dos segmentos de rizomas de confrei, com auxinas poderá promover indiretamente um aumento no conteúdo de alantoína, por aumentar o peso de matéria seca de raízes e rizomas. O efeito de diferentes doses de auxinas, sobre o

aumento no teor de metabólitos secundários é relatado por Cedeira et al. (1995) e Hagendoorn et al. (1997), respectivamente em *Cephaelis ipecacuanha* L. e *Morinda citrifolia* L.

Um outro fator importante a ser considerado é a eficiência de mobilização de reservas pela planta. A FIGURA 5 mostra o particionamento da matéria seca na planta, em relação às concentrações de AIB empregadas. Observa-se que, a medida em que há um aumento nas concentrações de AIB, há um maior direcionamento de fitomassa pela planta, para formação de raízes e rizomas, o que é traduzido num aumento no peso de matéria seca dos mesmos, seguido de uma diminuição no peso de matéria seca de folhas e pecíolo, indicando uma menor alocação de fitomassa para esses órgãos.

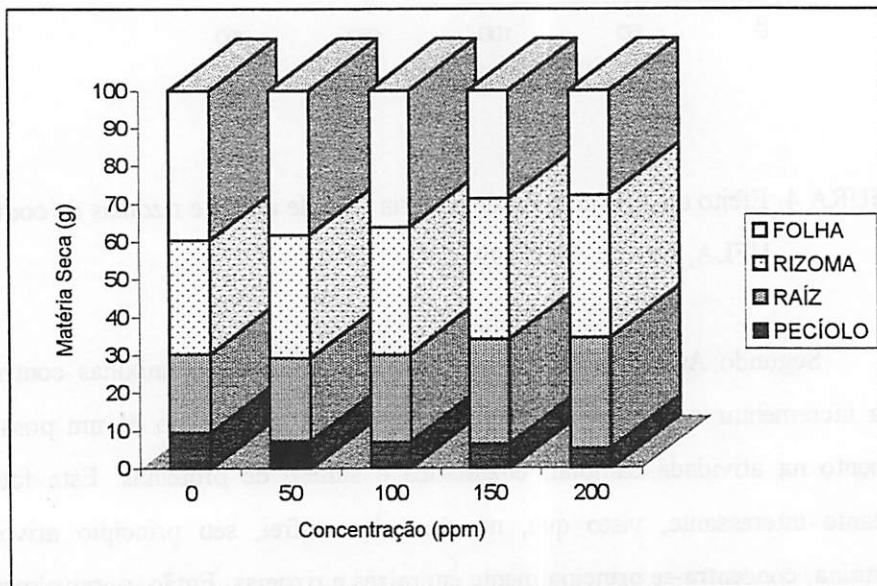


FIGURA 5: Particionamento da matéria seca em plantas de confrei submetidas a diferentes tratamentos com AIB. Valores médios. UFLA. Lavras, MG, 1998.

Segundo Pivetta (1990), a relação entre a matéria seca de raízes e a matéria seca total (MSR/MST) pode ser um indicativo do processo de mobilização do material, armazenado na planta ou produzido pelas folhas para as raízes. Esta relação indica a fração da matéria seca mobilizada para o crescimento da raiz. Para Petrechen (1988), um maior valor desta relação indica maior eficiência de mobilização. Hoffman (1994) observou um aumento no peso de matéria seca de raízes adventícias em estacas de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) devido a um aumento na concentração de AIB. Esse resultado foi atribuído a uma maior disponibilidade de fotoassimilados nas raízes mobilizados pelo fitorregulador, para regular a emissão de raízes adventícias, resultando num aumento do peso de matéria seca. Apesar do AIB não ter influenciado no peso de matéria seca das folhas, este fato não interferiu no enraizamento dos segmentos de rizomas.

Não foi observado qualquer efeito fitotóxico da auxina, durante a condução do experimento, nas concentrações de AIB utilizadas.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que o experimento foi conduzido, pôde-se concluir que:

1. O tratamento com ácido indol 3-butírico não afetou o peso de matéria seca total, de lâminas foliares e pecíolos de plantas de confrei.
2. Houve efeito do AIB sobre o peso de matéria seca de raízes e rizomas, sendo o melhor resultado foi obtido na concentração de 200 ppm.
3. Não houve efeito do tempo de exposição dos segmentos ao AIB, sobre quaisquer variáveis avaliadas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANAND, V. K.; HEBERLEING, G. T. Seasonal changes in effects of auxin in rooting in stem cuttings of *Ficus infectoria*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 34, n. 2, p. 330-334, May 1975.
- BARALDI, R. et al. Auxins and polyamines in relation to differential in vitro root induction on microcuttings of two pear cultivars. **Journal of Plant Growth Regulation**, Bolonha, v. 14, n. 1, p. 49-59, Jan. 1995.
- BARTEL, B. Auxin biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, California, v. 48, p. 51-66, Jan./Dec. 1997.
- CEDEIRA, R.M.M.; KRANS, J.V.; FRANCA, S.C.; PEREIRA, A.M.S. Evaluation of emetine production in ipecac callus. **Ciência e Cultura São Paulo**, São Paulo, v. 47, n. 1/2, p. 76-78, jan./abr. 1995.
- DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E. **Biology of adventitious root formation**. New York: Plenum Press, 1994. 514 p.
- DESCHAMPS, C. **Propagação vegetativa “in vivo” e “in vitro” de Sarandi (*Sebastiania schottiana* Muell Arg.), espécie florestal de mata ciliar**. Lavras: ESAL, 1993. 128 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468 p.
- HAGENDOORN, M.J.M.; JAMAR, D.C.L.; MEYKAMP, B.; VAN DER PLAS, L.H.W. Cell division versus secondary metabolite production in *Morinda citrifolia* cell suspensions. **Journal of Plant Physiology**, Kyoto, v. 150, n. 3, p. 325-330, Mar. 1997
- HOFFMAM, A. **Propagação de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) através de estacas**. Pelotas: UFPEL, 1994. 85 p. (Dissertação - Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado)
- KARHU, S.T. Rooting of blue honeysuckle microshoots. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 48, n. 3, p. 153-159, 1997.

- KUTSCHERA, U.; SCHOPFER P. Evidence against the acid growth theory of auxin action. *Planta*, New York, v. 163, n. 4, p. 483-493, Apr. 1985.
- MARTINS, A.B.G. Enraizamento de estacas enfolhadas de três variedades de lichia (*Litchi chinensis* Sonn.). Jaboticabal: UNESP, 1998. 100 p. (Tese - Doutorado em Produção Vegetal)
- MARTINS, A.B.G. Uso de reguladores de crescimento no enraizamento de estacas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Viçosa: UFV, 1985. 23 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M. de; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. Plantas medicinais. Viçosa: UFV, 1994. 220 p.
- MATOS, F.J.A . Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 2 ed. Fortaleza: UFC, 1994. 180 p.
- PASQUALETTO, A . Influência de reguladores de crescimento e sacarose no enraizamento de estacas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Viçosa: UFV, 1995. 93 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)
- PETRECHEN, E. de H. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de goiabeira (*Psidium guajava* L) das cultivares “Rica” e “Paluma” em câmara de nebulização intermitente. Jaboticabal: UNESP, 1988. 50 p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal)
- PIVETTA, K.F.L. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de noqueira-macadâmia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche) e desenvolvimento inicial de mudas. Jaboticabal: UNESP, 1990. 91 p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal)
- PIVETTA, K.F.L. Estudos sobre o enraizamento de estacas enfolhadas de roseira (*Rosa sp.*) “Red Success”. Jaboticabal: UNESP, 1994. 151 p. (Tese - Doutorado em Produção Vegetal)
- RAYLE, D.L.; CLELAND, R. E . The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiology*, Maryland, v. 99, n. 4, p. 1271-1274, Aug. 1992.

- SOUZA, F.X.; ALMEIDA, F.C.G.; CORREA, M.P.F.; ALMEIDA, F.A.G.** Enraizamento de estacas de caule juvenil de cajueiro "anão precoce" (*Anacardium occidentale* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura, Bahia**, v. 14, n. 3, p. 59-65, 1992.
- SUN, W.Q.; BASSUK, N.L.** Auxin-induced ethylene synthesis during rooting and inhibition of budbreak of "Royalty" rose cuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science, Virginia**, v. 118, n. 5. p. 638-643, Sept./Oct. 1993.
- TAKAHASHI, Y.; ISHIDA, S.; NAGATA, T.** Auxin-regulated genes. **Plant and Cell Physiology. Kyoto**, v. 36, n. 3, p. 383-390, Apr./May 1995.
- VAN OVERBEEK, J.; GORDON, S.A.; GREGORY, L.E.** An analysis of the function of the leaf in the process of root formation in cuttings. **American Journal of Botany, Columbus**, v. 33, p. 100-107, 1946.
- WANG, Q.; ANDERSEN, A. S.** Propagation of *Hibiscus rosa-sinensis*: relations between stock plant cultivar, age, environment and growth regulator treatments. **Acta Horticulturae, Leuven, BE**, n. 251, p. 289-309, 1989.
- WEAVER, R.J.** **Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura.** México: Trillas, 1976. 622 p.

CAPÍTULO 3: INFLUÊNCIA DO FOTOPERÍODO NO CRESCIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE CONFREI (*Symphytum officinale* L.).

1 RESUMO

Alterações nos padrões de crescimento, expressas a partir de mudanças na produção de biomassa, área foliar e teor de clorofilas, durante o desenvolvimento inicial de plantas de confrei (*Symphytum officinale* L.), uma importante espécie medicinal foram estudadas sob quatro condições fotoperiódicas: 8, 12, 16 e 20 horas. Após 60 dias de tratamento, determinou-se o peso de matéria seca total e particionada (entre lâminas foliares, pecíolos, raízes e rizomas), área foliar, razão de área foliar, razão de peso foliar, área foliar específica e teores de clorofilas. Os resultados obtidos revelaram que, o incremento do fotoperíodo proporcionou um aumento linear no acúmulo de matéria seca total e particionada, da área foliar até o fotoperíodo de 16 horas, seguida de uma queda, quando o fotoperíodo foi aumentado de 16 para 20 horas e ainda decréscimos na razão de área foliar, área foliar específica e teores de clorofilas a, b e total. Não foram observadas contudo, alterações na razão de peso foliar e relação clorofila a:b. Estes resultados mostraram-se altamente significativos do ponto de vista fisiológico e fitoquímico, visto que, a alantoína, importante metabólito secundário encontrado nesta espécie e responsável por sua ação cicatrizante e regeneradora de tecidos é encontrada principalmente em raízes e rizomas, os quais tiveram seu crescimento favorecido pelo aumento do fotoperíodo.

2 ABSTRACT

Influence of photoperiod on the initial growth of comfrey (*Symphytum officinale* L.) plants

In this work, growth pattern alterations based on changes in biomass production, leaf area and chlorophyll content were studied during the initial growth of comfrey (*Symphytum officinale* L.) plant, an important medicinal species, under four photoperiodic conditions: 8, 12, 16 and 20 h. After 60 days treatment, total and fractionated (leaves, petioles, roots or rhizomes) dry matter, leaf area, leaf area ratio, leaf weight ratio, specific leaf area and chlorophyll contents were determined. The results showed that the increment in photoperiod provided a linear increase in the accumulation of total and fractionated leaf dry matter up to 16 h photoperiod, followed by a decrease when the photoperiod was

increased from 16 to 20 h and decreases in leaf area ratio, specific leaf area and content of chlorophyll a, b and total. No alterations were observed for weight leaf ratio and chlorophyll a:b ratio. These results showed to be highly significant as a physiological and phytochemical basis since that allantoin, an important secondary metabolite which shows a powerful healing and generative tissue action is found in this species mainly in roots and rhizomes, tissues whose growth was favored by the increase in photoperiod.

3 INTRODUÇÃO

Symphytum officinale L. (Boraginaceae) é tida, desde a antiguidade, como uma importante espécie medicinal, sendo suas propriedades terapêuticas já relatadas por Dioscórides, no livro *Matéria Médica*. É utilizada popularmente por suas propriedades cicatrizante e regeneradora de tecidos, o que deve-se principalmente a presença da alantoina, metabólito secundário, presente em raízes e rizomas (Matos, 1994). O confrei é uma espécie que se propaga facilmente através de segmentos de rizomas, reproduzindo-se continuamente durante todo o ano, com alto poder de regeneração após o corte (Martins et al., 1994).

Segundo Koslowsky, Kramer e Pallardy (1991), o crescimento e desenvolvimento das plantas, assim como a produção de compostos do metabolismo secundário são controlados por uma série de fatores ambientais e genéticos, que operam conjuntamente por meio de processos fisiológicos. Entre esses fatores, a luz, especialmente considerando-se a duração do período luminoso ou fotoperíodo, corresponde a um dos principais aspectos da interação das plantas com seu ambiente (Garner e Allard, 1920; Kendrick e Frankland, 1976, Thomas e Vince-Prue, 1997). Além de controlar o crescimento e o desenvolvimento, por influenciar em processos como a floração (Garner e Allard, 1920; Zeevaart, 1969; Heide, 1988; Câmara, 1991; Pípolo, 1996), germinação de sementes (Attridge, 1990; Clemente Filha, 1996), crescimento de caules e folhas

(Zack e Loy, 1980; Juntilla, Svenning e Solheim, 1990), formação de órgãos de reservas (Alvarenga e Válio, 1989; Bolonhezi, 1991; Kahane, 1992; Faria, 1998) e partição de assimilados (Böller e Nosberger, 1983; Markarov et al. 1993; Machacková, 1998), atua ainda de forma significativa e complexa no processo metabólico, influenciando tanto na qualidade, como na quantidade dos compostos produzidos.

Desde os primeiros estudos desenvolvidos por Garner e Allard (1920), verificou-se que, a relação entre fotoperíodo e taxa de crescimento apresentava uma correspondência inequívoca, diretamente proporcional à duração diária de exposição à luz. Boller e Nösberger (1983), em trabalhos desenvolvidos com trevo branco (*Trifolium repens* L.) observaram uma redução na taxa de crescimento relativo e na taxa assimilatória líquida dessas plantas, quando o fotoperíodo foi diminuído de 16 para 12 horas. Resultados de análise de crescimento parcialmente concordantes com os de Garner e Allard (1920) foram obtidos por Alvarenga (1987), em estudos realizados com *Pachyrrhizus tuberosus* submetidos a regimes fotoperiódicos de 8, 9, 10 horas. Em plantas de batata, Wolf et al. (1990) verificaram que, dias longos promoveram o crescimento das plantas em termos de tamanho e número de folhas, produção de matéria seca total, afetando também o particionamento de matéria seca entre os diversos órgãos das plantas; entretanto, extensão do fotoperíodo de 12 para 16 horas, não afetou significativamente o peso de matéria seca total e o número de internódios em plantas de batata, mas um efeito marcante pôde ser observado no particionamento de biomassa e relação parte aérea:raiz (Engels et al., 1995). Kitaya et al. (1998), observaram que a um mesmo fluxo fotossintético de fótons, o peso de matéria seca total em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.), cultivar Summer-green foi aumentado de 25% a 100%, com a extensão do fotoperíodo de 12 para 16 horas; o peso de matéria seca e o número de folhas aumentaram

linearmente, com o aumento do fotoperíodo, enquanto que o peso de matéria seca de raízes, área foliar específica e o comprimento do hipocótilo diminuíram, quando o fotoperíodo foi aumentado.

Em vista da carência de informações a respeito do efeito do fotoperíodo sobre o crescimento do confrei, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes condições fotoperiódicas, sobre algumas características do crescimento dessa espécie durante a sua fase inicial de desenvolvimento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização geral

O experimento foi instalado em sala de crescimento, no Departamento de Biologia, setor de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal de Lavras, município de Lavras, MG. A espécie utilizada foi o confrei (*Symphytum officinale* L.), proveniente de áreas antrópicas do mesmo município.

4.2 Instalação e condução do experimento

Foram utilizados 36 vasos de polietileno, com capacidade para 8 kg de substrato cada, perfurados na base para facilitar a drenagem do excesso de água. O substrato utilizado para enchimento dos vasos foi constituído de uma mistura de terra de subsolo, areia e esterco, na proporção de 2:1:1. O solo utilizado para enchimento dos vasos foi classificado como Latossolo Vermelho Escuro, Horizonte B, segundo o Departamento de Ciência do Solo/UFLA, cujas características físico-químicas são apresentadas no anexo A, tabela 1A.

As mudas foram obtidas através de plantas de confrei com 90 dias de idade, retiradas de um mesmo canteiro e selecionadas dentro de um mesmo padrão de tamanho e vigor. As lâminas foliares foram cortadas e os segmentos de rizomas separados, de modo que cada muda era constituída de 5 pecíolos por propágulo. As mudas foram então separadas em 4 grupos (de nove propágulos cada) homogêneos entre si, conforme o tamanho dos rizomas, quantidade de raízes e vigor das mesmas. Imediatamente após o preparo, foram transferidas para o substrato a uma profundidade de 2/3 de seu comprimento e em cada vaso foram então adicionados 200 ml de solução nutritiva de Johansen (1940) modificada, meia força (anexo A, tabela 3A).

Imediatamente após o preparo, os vasos com as mudas foram transferidos para sala de crescimento do Setor de Fisiologia Vegetal/UFLA e submetidos aos seguintes tratamentos fotoperiódicos: 8, 12, 16, 20 horas. Essas condições foram obtidas pelo uso de “carrinhos”, construídos a partir de armações de ferro, com 2,50 m de altura e 1,30 m de largura, com mesa ajustável e iluminação artificial fornecida por 75% de lâmpadas fluorescentes (marca G.E, 40 W) e 25% de lâmpadas do tipo GRO-LUX (marca Sylvania), combinação que produziu radiação igual a $220 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ no centro do carrinho e $180 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ na lateral. A radiação foi determinada pelo uso de porômetro mod. Steady State Porometer LI-COR 1600 M. Aos carrinhos foram adaptadas cortinas confeccionadas com tecido tipo “black out”, sendo cada carrinho dotado de um sistema temporizador, com acionamento e desligamento automático. Essas condições permitiram que se trabalhasse com 4 fotoperíodos diferentes dentro de uma mesma sala de crescimento.

O experimento foi conduzido durante 60 dias, nos meses de julho e agosto/98, em sala de crescimento do setor de Fisiologia Vegetal/DBI/UFLA. A temperatura ambiente foi controlada através de aparelho de ar condicionado,

ligado durante todo o período de condução do experimento. Foi registrada uma temperatura média de 25°C e umidade relativa do ar de 15%, monitoradas através de psicrômetro.

Durante o período de condução do experimento o solo foi mantido próximo a sua capacidade de campo.

Após 30 dias do início do tratamento, as plantas receberam novamente 200 ml de solução nutritiva de Johansen (1940) modificada, dois terços de força.

4.3 Características avaliadas

Decorridos 60 dias do início do experimento, foram avaliados o peso de matéria seca total e particionada (entre lâminas foliares, pecíolos, raízes e rizomas), área foliar (A), razão de área foliar (RAF), razão de peso foliar (RPF), área foliar específica (AFE) e teores de clorofilas a, b, total e relação clorofila a:b.

a) Peso de matéria seca total e particionada

Imediatamente após a coleta das plantas, as lâminas foliares e os pecíolos foram cortados, separados e colocados em sacos de papel para secagem em estufa a 70°C. As raízes e rizomas foram lavados em água corrente para retirar o substrato aderido, seccionados, separados e colocados para secar à temperatura ambiente, por 2 dias. Após essa secagem prévia foram transferidos para estufa a 40°C, em sacos de papel, até peso constante. A pesagem foi feita em balança analítica digital, com precisão de 4 dígitos.

b) Área foliar

A área foliar foi estimada a partir do uso de um fator de correção ($f_c = 0,76$) determinado previamente, de acordo com Benincasa (1988). Através do método do fator de correção estimou-se a área foliar das plantas de confeitei, a partir de medidas lineares do maior comprimento (C) e maior largura (L) de cada lâmina foliar. A área foliar final foi determinada pelo produto de $C \times L \times F_c$.

c) Razão de área foliar (RAF), razão de peso foliar (RPF) e área foliar específica (AFE)

A RAF, RPF e AFE foram determinadas a partir dos valores instantâneos de área foliar (A) expressos em dm^2 , peso de matéria seca da planta (P) e peso de matéria seca das folhas (Pf), ambos expressos em g, empregando-se as seguintes equações, de acordo com Benincasa (1988):

$$\text{RAF} = A/P$$

$$\text{RPF} = Pf/P$$

$$\text{AFE} = A/Pf$$

d) Análise da concentração de clorofilas nos tecidos foliares

A determinação dos teores de clorofilas foi realizado em 4 plantas por tratamento, tomadas ao acaso. De cada planta selecionaram-se 3 folhas, completamente expandidas, localizadas entre o ápice, meio e a base da planta. De cada planta foram retirados 3 discos de $0,5 \text{ cm}^2$ de diâmetro (ápice, meio e base), que foram imediatamente acondicionados em papel alumínio e caixa de isopor com gelo.

A quantificação das clorofilas a, b e total foi realizada segundo a metodologia proposta por Arnon (1949).

Os cálculos de mg de clorofila por grama de matéria fresca do tecido foliar foram realizados utilizando-se as equações descritas a seguir:

$$\text{Clorofila a} = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times V / 1000 W$$

$$\text{Clorofila b} = (22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times V / 1000 W$$

$$\text{Clorofila total} = (20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}) \times V / 1000 W$$

sendo:

A = absorvância dos extratos no λ indicado;

V = volume final do extrato clorofila-acetona;

W = matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado;

4.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com tratamentos representados por 4 fotoperíodos (8, 12, 16 e 20 h.), com 9 repetições e uma muda por repetição, num total de 36 parcelas. Cada repetição era constituída de um segmento de rizoma de padrão igual ao descrito no item 2.1.3.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância para razão de peso foliar e razão clorofila a/clorofila b e ao estudo de regressão para o peso de matéria seca total e particionada, área foliar, razão de área foliar, área foliar específica, clorofila a, b e total, seguindo modelos matemáticos próprios para o delineamento inteiramente casualizado, proposto por Gomes (1990). Para comparação dos contrastes entre as média dos tratamentos, utilizou-se Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos foram analisados através de programa estatístico SANEST (Sistema de Análise Estatística), de autoria de Elio P. Zonta e Amauri A . Machado. Os dados não sofreram nenhum tipo de transformação.

5.1 Peso de matéria seca total e particionada

A análise dos dados obtidos demonstrou que os fotoperíodos empregados influenciaram tanto no acúmulo de matéria seca total, quanto particionada entre lâminas foliares, pecíolos, raízes e rizomas.

As equações de regressão revelaram uma resposta linear das plantas, em relação ao acúmulo de matéria seca total e particionada, em função da exposição das mesmas a um aumento do fotoperíodo, sendo os maiores conteúdos de matéria seca correspondentes aos fotoperíodos mais longos (FIGURA 1). Os resultados sugerem que, um maior crescimento dessas plantas esteja relacionado possivelmente, a um incremento na taxa fotossintética das mesmas, a medida em que são submetidas a fotoperíodos mais longos. De acordo com Clemente Filha (1996), a duração do período luminoso desempenha um papel importante na adaptação ecológica das plantas, possibilitando uma maior atividade fotossintética e conseqüentemente um aumento na síntese dos produtos do metabolismo, favorecendo assim um maior crescimento das plantas.

Um aumento na produção de biomassa foi observado em todos os fotoperíodos estudados. Através da FIGURA 2 verifica-se que o peso de matéria seca de lâmina foliar, pecíolo, raiz, rizoma e total sofreram um incremento de 60,30%, 86,28%, 49,54%, 88,85% e 62,66% , respectivamente, quando o fotoperíodo foi elevado de 8 para 20 horas. Comparando-se a variação

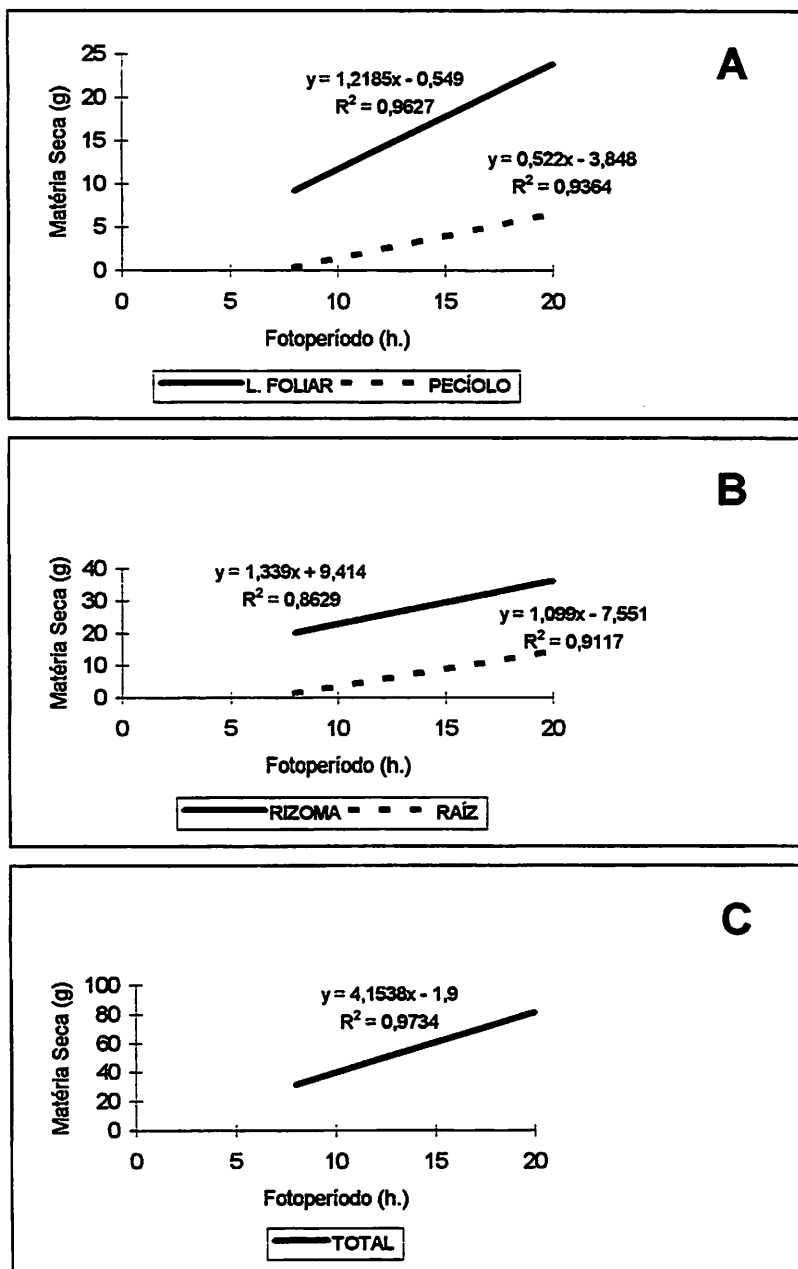


FIGURA 1. Efeito de diferentes fotoperíodos em plantas de confei sobre: (A) Peso de matéria seca de lâminas foliares e pecíolos; (B) Rizomas e raízes; (C) Peso de matéria seca total. UFLA, Lavras, MG, 1998.

de matéria seca entre os fotoperíodos, verificou-se que maiores acúmulos de biomassa em lâminas foliares, pecíolos e raízes foram observados em fotoperíodos de 16 horas, responsáveis por um aumento respectivo de 35,65%, 70,40% e 67,23% no peso de matéria seca desses órgãos, enquanto que em rizomas, um maior acúmulo de matéria seca ocorreu em fotoperíodo de 12 horas, sendo este da ordem de 39,97%.

Menores variações nos acúmulos de fitomassa ocorreram entre os fotoperíodos de 16 e 20 horas, em lâminas foliares, pecíolos e raízes, enquanto que em rizomas, menores variações puderam ser observadas entre os fotoperíodos de 12 e 16 horas, sendo esses acúmulos da ordem de 9,23%, 30,2%, 7,04% e 6,10%, respectivamente.

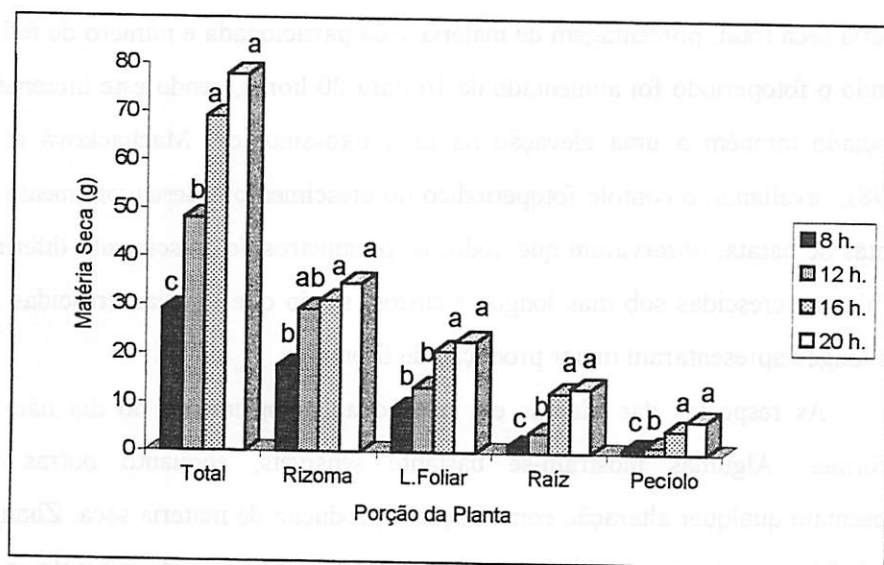


FIGURA 2: Peso de matéria seca total e particionada (g), em plantas de confrei submetidas a diferentes fotoperíodos. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Valores médios. UFLA, Lavras, 1998.

Segundo Alvarenga (1987), o aumento na produção de matéria seca é frequentemente encontrado em plantas crescidas sob dias longos, mesmo quando o tratamento com luz suplementar fornece pouca energia fotossinteticamente ativa, o que ocorre devido a um aumento na área foliar e na produção fotossintética. Resultados semelhantes com relação ao acúmulo de matéria seca têm sido encontrados em trabalhos desenvolvidos em outras espécies de interesse econômico. Hay (1990), em estudos realizados com gramíneas temperadas verificou que estas espécies eram grandemente responsivas a mudanças no comprimento do dia e que dias longos promoviam um aumento em seu comprimento e área foliar, bem como na produção de matéria seca total. Trabalhos realizados por Kitaya et al. (1998), com *Lactuca sativa* L. submetida a fotoperíodos de 16 e 20 horas demonstraram um aumento linear do peso de matéria seca total, porcentagem de matéria seca particionada e número de folhas, quando o fotoperíodo foi aumentado de 16 para 20 horas, sendo este incremento associado também a uma elevação na taxa fotossintética. Machacková et al. (1998), avaliando o controle fotoperiódico do crescimento e desenvolvimento em plantas de batata, observaram que todos os parâmetros de crescimento diferiram em plantas crescidas sob dias longos e curtos, sendo que aquelas crescidas sob dias longos apresentaram maior produção de fitomassa.

As respostas das plantas em relação ao comprimento do dia não são uniformes. Algumas mostram-se bastante sensíveis, enquanto outras não apresentam qualquer alteração com relação a produção de matéria seca. Zhang et al. (1995), estudando o efeito de diferentes fotoperíodos e de giberelinas em plantas de azaléia, não encontraram diferença no acúmulo de matéria seca dessas plantas, com o aumento do fotoperíodo. Extensão do fotoperíodo de 12 para 16 horas com luz incandescente, não afetou significativamente o acúmulo de matéria

seca total e o número de internódios em plântulas de batata (*Solanum tuberosum* L.), 60 dias após a semeadura (Engels et al., 1995).

A influência das diferentes condições fotoperiódicas sobre o crescimento das plantas de confei foi bastante característica e extremamente marcante, podendo ser observada pelo aspecto das plantas submetidas a esses tratamentos (FIGURA 3).

Quando alterações no comprimento do dia trazem grandes mudanças no desenvolvimento, há certamente modificações na distribuição de assimilados na planta. Uma rápida mudança no direcionamento de matéria seca entre diferentes órgãos ou, entre diferentes componentes estruturais ou de armazenamento poderia indicar um feito direto do fotoperíodo sobre o processo de particionamento de fitomassa. A translocação e particionamento de matéria seca são fenômenos fisiológicos dependentes da atividade fotossintética das folhas e da demanda dos órgãos em desenvolvimento (Evans, 1973), os quais são sensivelmente controlados por condições ambientais. Estudos relacionados ao particionamento de matéria seca são importantes, pois indicam a fração do material seco utilizado para o crescimento de cada órgão. Valores de biomassa particionada entre vários órgãos, numa determinada espécie podem ser obtido pelo quociente entre a matéria seca de cada órgão e a matéria seca total. Segundo Petrechen (1988), maior valor desta relação indica maior eficiência de mobilização.

Diferenças no direcionamento de matéria seca em plantas de confei, para o crescimento de cada um de seus órgãos individualmente podem ser observadas na FIGURA 4. Nota-se que fotoperíodos mais longos possibilitaram uma maior alocação de matéria seca pela planta para o crescimento de pecíolos e raízes, sendo estas da ordem de 5,81% e 12,17%, respectivamente; o crescimento de folhas e rizomas foram menos favorecidos, devido a uma diminuição de cerca

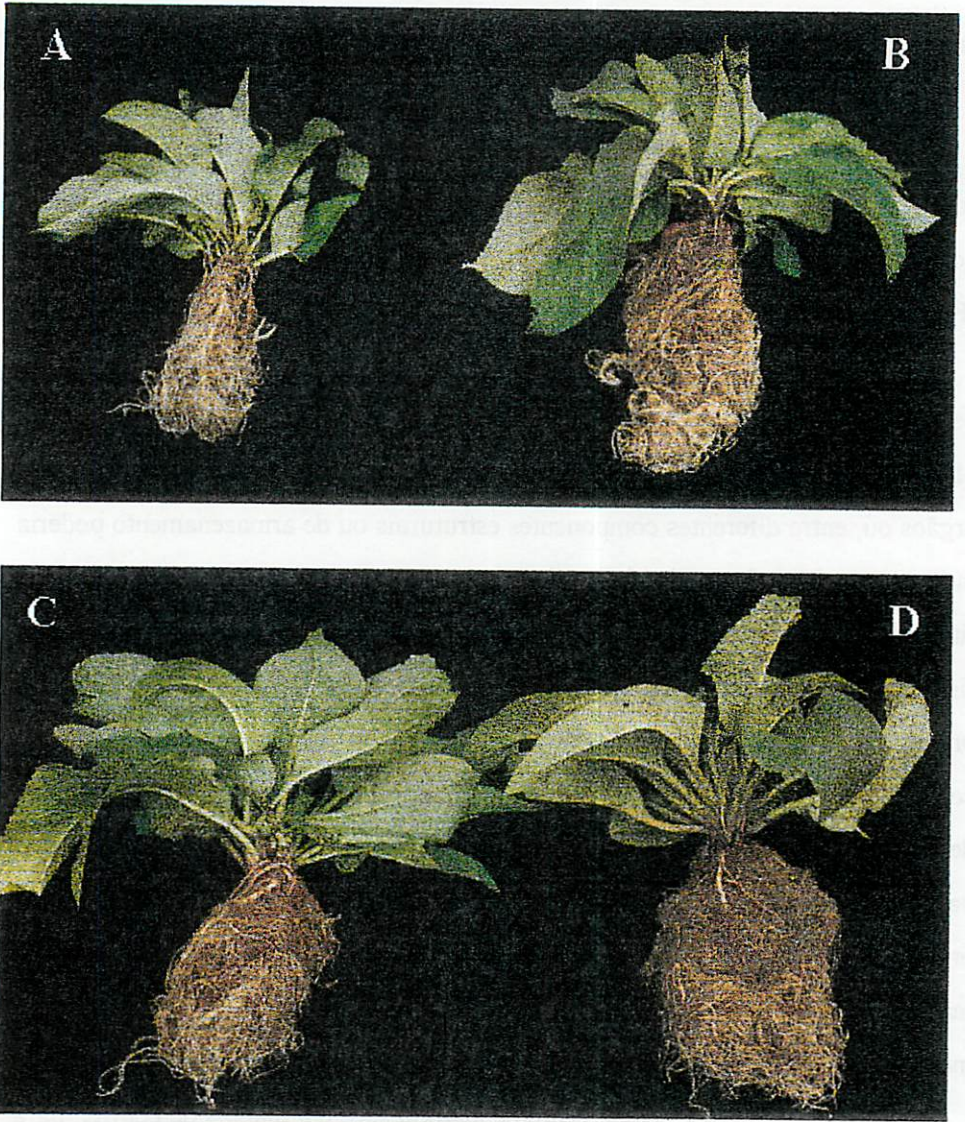


FIGURA 3. Aspecto geral de plantas de confrei submetidas à diferentes condições fotoperiódicas. A) Fotoperíodo de 8 h.; B) Fotoperíodo de 12 h.; C) Fotoperíodo de 16 h.; D) Fotoperíodo de 20 h. . UFLA. Lavras, MG, 1998.

de 3,48% e 16,11%, no direcionamento de matéria seca para esses órgãos, respectivamente. No entanto, maior quantidade de matéria seca alocada para formação de folhas pôde ser observada em fotoperíodo de 8 horas. Esta observação é importante e mostra que em dias curtos, como a duração do período luminoso é menor, a planta necessitando fotossintetizar, investiu mais em matéria seca para produção de folha, em comparação aos demais fotoperíodos. Com o aumento no fotoperíodo e com sua progressiva independência com relação à produção de massa verde, houve diminuição no direcionamento de matéria seca para as folhas e o favorecimento de outros órgãos em crescimento, como pecíolos e raízes.

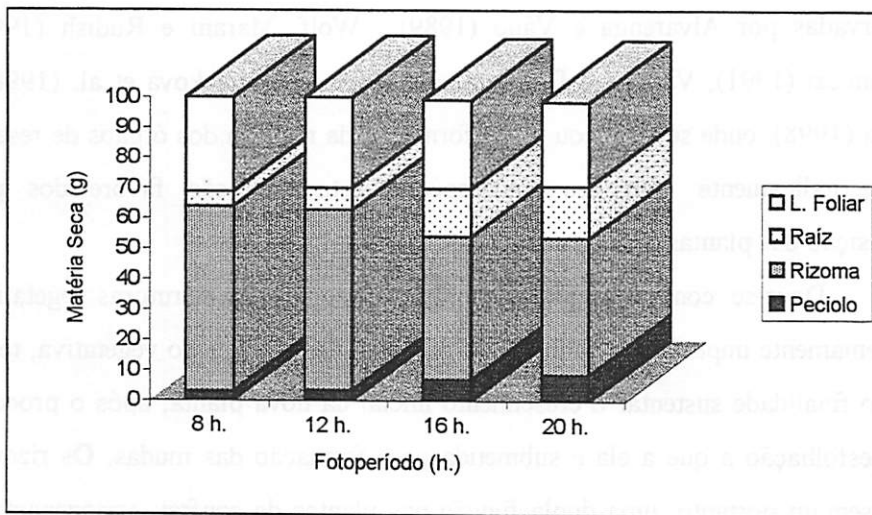
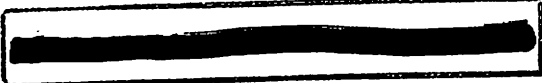


FIGURA 4: Porcentagem de matéria seca alocada pela planta para formação e crescimento de lâmina foliar, pecíolo, raiz e rizoma, submetidos a diferentes tratamentos. Valores médios. UFLA, Lavras, MG, 1998.

Um aumento no particionamento de matéria seca entre órgãos vegetativos (folhas e caules) também foi observado por Wolf, Marani e Rudish (1990), em



pesquisas realizadas com plantas de batata submetidas a fotoperíodo de 16 horas. Todavia, a matéria seca particionada entre raízes e estolões não foi influenciada pelo fotoperíodo. O tubérculo no entanto, mostrou-se o órgão mais sensível ao fotoperíodo, sendo que uma inibição completa na produção desses órgãos foi observada em fotoperíodo de 16 horas, na variedade Desireé. Engels et al. (1995) verificaram que, a extensão do fotoperíodo de 12 para 16 horas, exerceu um efeito marcante sobre o particionamento de biomassa nessa espécie.

Em todos os fotoperíodos estudados houve uma maior alocação de matéria seca pela planta para formação de rizomas, em comparação a outros órgãos. Contudo, esse direcionamento de matéria seca para o rizoma foi diminuindo, com o aumento do fotoperíodo. Respostas semelhantes foram observadas por Alvarenga e Válio (1989), Wolf, Marani e Rudish (1990), Bolonhezi (1991), Vaillant e Desfontaines (1995), Machacková et al. (1998) e Faria (1998), onde se verificou que a formação da maioria dos órgãos de reserva fotoperiodicamente induzidos das espécies estudadas são favorecidos pela exposição das plantas a dias curtos.

Deve-se considerar que no confrei, os rizomas são estruturas vegetativas extremamente importantes no início do processo de propagação vegetativa, tendo como finalidade sustentar o crescimento inicial da nova planta, após o processo de desfolhação a que a ela é submetida para formação das mudas. Os rizomas apresentam portanto, uma dupla função nas plantas de confrei: armazenamento de materiais estocados e propagação. A importância dos rizomas para sobrevivência, propagação e como sítio primário de crescimento de brotos de *Lotus uliginosus* L. foi relatada por Blumenthal e Harris (1998), em estudos realizados para avaliar o efeito do fotoperíodo e temperatura sobre a produção de brotos, rizomas e raízes nesta espécie. Dias curtos (10 horas) elevaram o número de rizomas primários e secundários, comprimento e peso de rizomas totais;

contudo, não afetaram o número, comprimento e peso dos brotos e promoveram também um aumento no peso de matéria seca de raiz e na proporção da matéria seca radicular e total.

Tão importante quanto o particionamento de matéria seca entre os diversos órgãos de uma planta é também a relação entre a parte aérea e parte subterrânea. A FIGURA 5 mostra que, em todos os fotoperíodos estudados houve uma maior alocação de matéria seca para a parte subterrânea (MSS) representada pelas raízes e rizomas, em relação à parte aérea (MSA), representada pelas lâminas foliares e pecíolos. Com o aumento do fotoperíodo, houve uma diminuição na relação MSA/MSS, indicando um favorecimento no crescimento de raízes e rizomas, devido a um maior direcionamento de matéria seca pela planta para esses órgãos (FIGURA 6). O decréscimo na relação MSA:MSS se deu, em grande parte, pelo maior acúmulo de matéria seca principalmente na região dos rizomas. Devido a sua função de armazenamento, esses órgãos são indicados como depósito de assimilados translocados de outros órgãos da planta.

Alguns autores como Blumenthal e Harris (1998) consideram que o aumento de assimilados em tecidos de reserva pode agir como um sinal para estimular o desenvolvimento desses órgãos. Isejima e Figueiredo-Ribeiro (1991), em estudos realizados sobre o particionamento de matéria seca durante o desenvolvimento de *Viguiera discolor* observaram que o peso de matéria seca da parte aérea foi superior a da parte subterrânea, observados no início do desenvolvimento e na fase de floração. Até 108 dias houve diminuição na relação MSA:MSS, indicando que a matéria seca da planta estava sendo direcionada para parte subterrânea.

Machacková et al. (1998) encontraram em *Solanum tuberosum* uma relação entre o MSA:MSS de 7,8%, em plantas submetidas a fotoperíodos contínuos com queda do período luminoso de uma hora de luz. Essa relação caiu

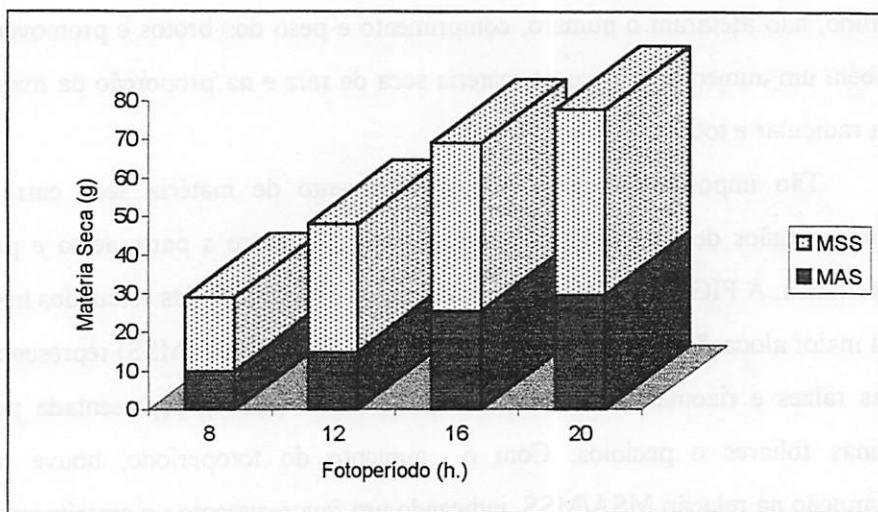


FIGURA 5. Matéria seca da parte aérea (MSA) e da parte subterrânea (MSS) em plantas de confrei submetidas a diferentes fotoperíodos. UFLA, Lavras, MG, 1998.

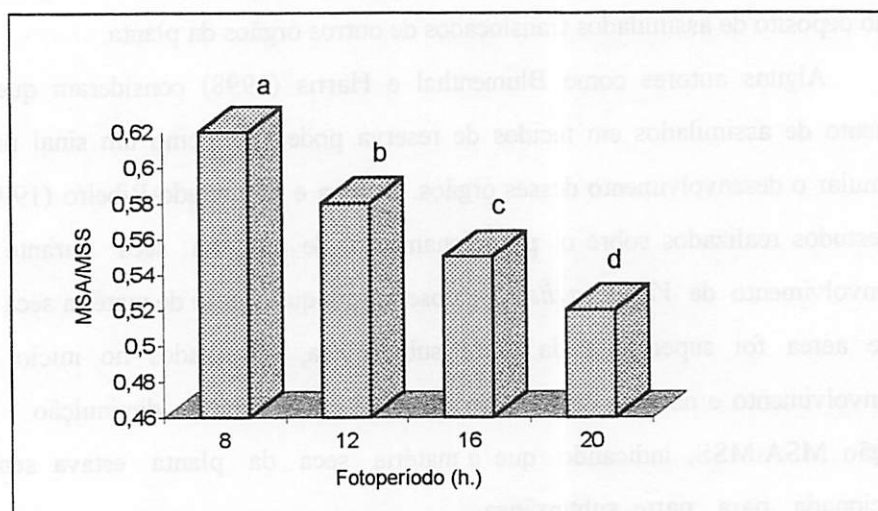


FIGURA 6. Razão entre a matéria seca da parte aérea (MSA) e parte subterrânea (MSS) em plantas de confrei submetidas a diferentes fotoperíodos. UFLA, Lavras, MG, 1998.

para 2,8 % e 1,5%, quando as plantas foram submetidas a dias longos e dias curtos respectivamente, indicando que nessas condições, uma maior quantidade de matéria seca foi alocada para órgãos subterrâneos, enquanto que os órgãos aéreos foram favorecidos por fotoperíodos contínuos com interrupção da noite.

5.2 Área foliar

Verificou-se que os diferentes fotoperíodos empregados influenciaram significativamente a área foliar das plantas estudadas (FIGURA 7).

O desdobramento dos graus de liberdade para o estudo da regressão polinomial da área foliar, em função dos tratamentos fotoperiódicos empregados mostrou uma resposta linear até o fotoperíodo de 16 horas, com elevação de 31,15% e 12,26% na área foliar, quando o fotoperíodo foi estendido de 8 para 12 horas e de 12 para 16 horas, respectivamente. A partir desse ponto observou-se um decréscimo na área foliar, da ordem de 23,24%, quando o fotoperíodo foi aumentado de 16 para 20 horas (FIGURA 8).

Independente da classe fotoperiódica para o florescimento, a área foliar em geral tende a ser maior em dias longos, que em dias curtos (Alvarenga, 1987). Um aumento na expansão da folha, sob fotoperíodos longos tem sido observado em diferentes espécies e é claramente vantajoso para o crescimento das plantas. O incremento da superfície foliar conduz a melhores interceptações de luz e conseqüentemente a uma maior taxa de crescimento. Desse modo há um favorecimento do potencial fotossintético total, com a produção de maior quantidade de fotoassimilados, facilitando o particionamento de matéria seca para outros órgãos da planta (Globig et al., 1997).

O estímulo da expansão foliar e produção de matéria seca em plantas individuais cultivadas sob condições de dia longos foi observado em pelo menos 4



FIGURA 7: Aspecto geral de plantas de confei submetidas a diferentes tratamentos fotoperiódicos. A) 8 horas; B) 12 horas; C) 16 horas; D) 20 horas. UFLA, Lavras, MG, 1998.

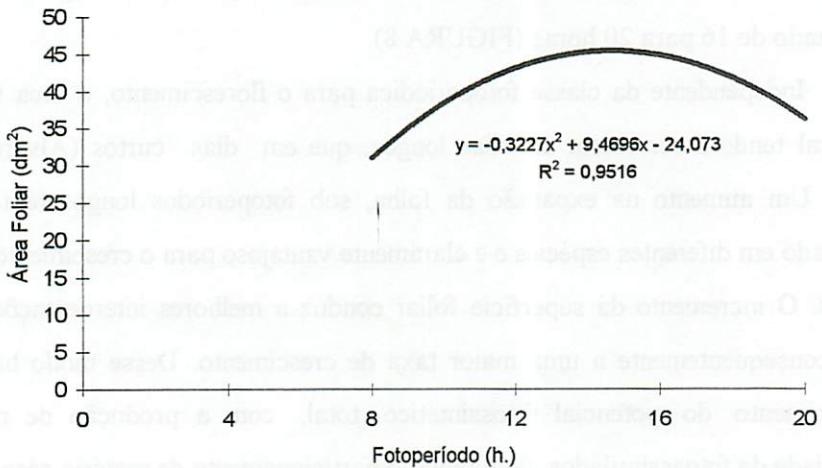


FIGURA 8: Áreas foliares de plantas de confei submetidas a diferentes condições fotoperiódicas. UFLA, Lavras, MG, 1998.

espécies de forrageiras (*Poa*, *Phleum*, *Dactylis* e *Bromus*), por Heide et al. (1985). Em trevo branco, Junntila et al. (1990) observaram que essa espécie respondeu a um aumento no comprimento do dia, com um aumento da área foliar. Uma indução na elongação foliar de plantas de *Poa pratensis* foi observada por Junntila et al. (1997), em plantas transferidas para dias longos (20 h.), a uma temperatura de 21°C. Extensão do fotoperíodo de 16 para 20 horas promoveu um aumento na área foliar, no peso de matéria seca total e comprimento de hipocótilos de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.), submetidas a um fluxo de fótons constante (Kitaya et al., 1998).

Segundo Benincasa (1988), a área foliar total de uma planta é resultante da ação mútua de dois componentes foliares, representados pelo tamanho e número de folhas, os quais encontram-se intimamente interligados. Através da FIGURA 9 pode-se verificar a evolução desses dois componentes da área foliar de plantas de confrei, nas diferentes condições fotoperiódicas empregadas. Observa-se que, o aumento do fotoperíodo de 8 para 16 horas promoveu um incremento tanto no tamanho, como no número de folhas das plantas. Contudo, a extensão do fotoperíodo de 16 para 20 horas promoveu um aumento no tamanho das folhas e uma diminuição no número de folhas por planta. Desse modo, pode-se dizer que possivelmente o número de folhas foi o principal componente da área foliar, responsável pela queda da mesma em fotoperíodos superiores a 16 horas, pois embora o fotoperíodo tenha estimulado um aumento no tamanho das folhas, este não foi suficiente para compensar os efeitos do menor número de folhas na determinação da área foliar.

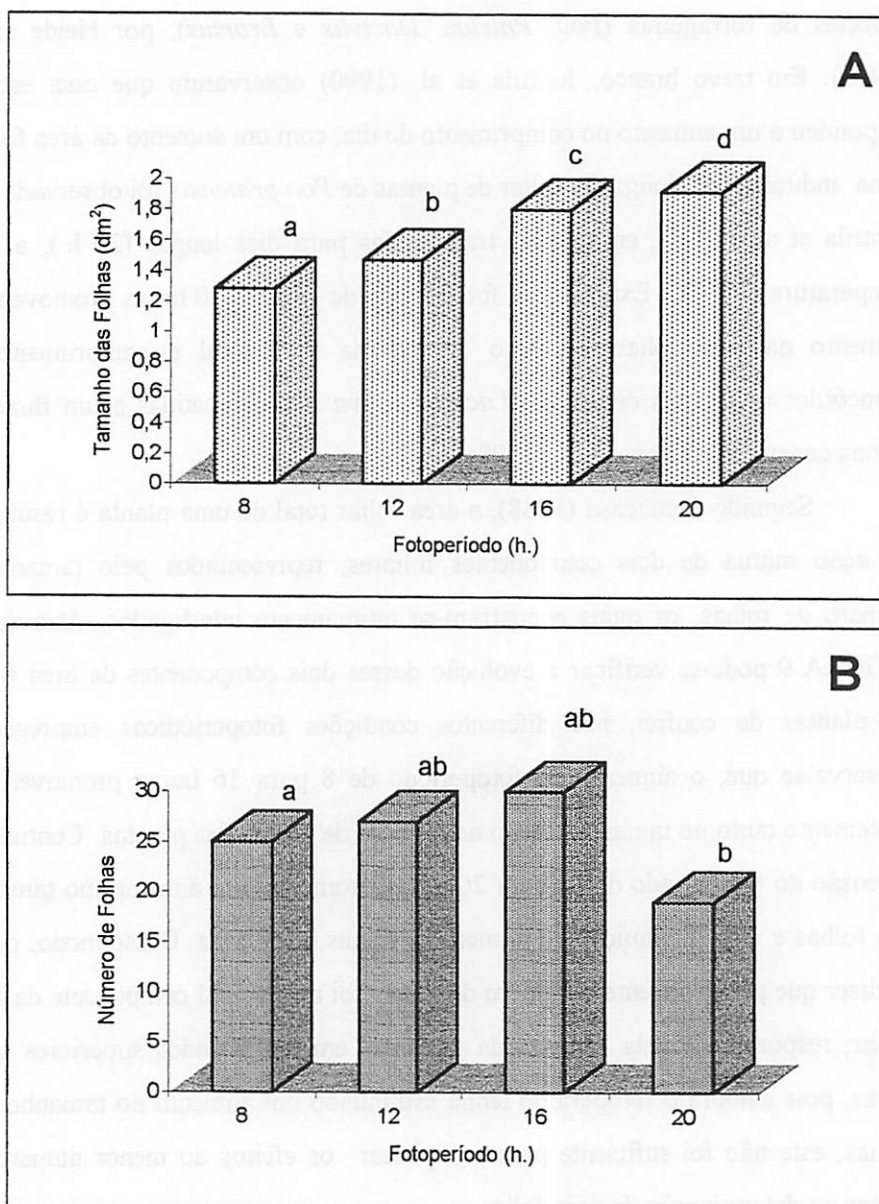


FIGURA 9. Efeito do fotoperíodo em plantas de confrei sobre: A. Tamanho das Folhas; B. Número de Folhas. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 1998.

5.3 Razão de área foliar, razão de peso foliar e área foliar específica

Verificou-se que a razão de área foliar (RAF) e área foliar específica (AFE) foram influenciadas pelos diferentes fotoperíodos testados, não sendo observado porém qualquer efeito sobre a razão de peso foliar (RPF) nas plantas de confei estudadas. O estudo das regressões polinomiais da RAF e AFE, em função dos tratamentos fotoperiódicos empregados, representado na FIGURA 10 demonstra que a medida que se aumentou o fotoperíodo, houve uma diminuição na razão de área foliar e área foliar específica das plantas.

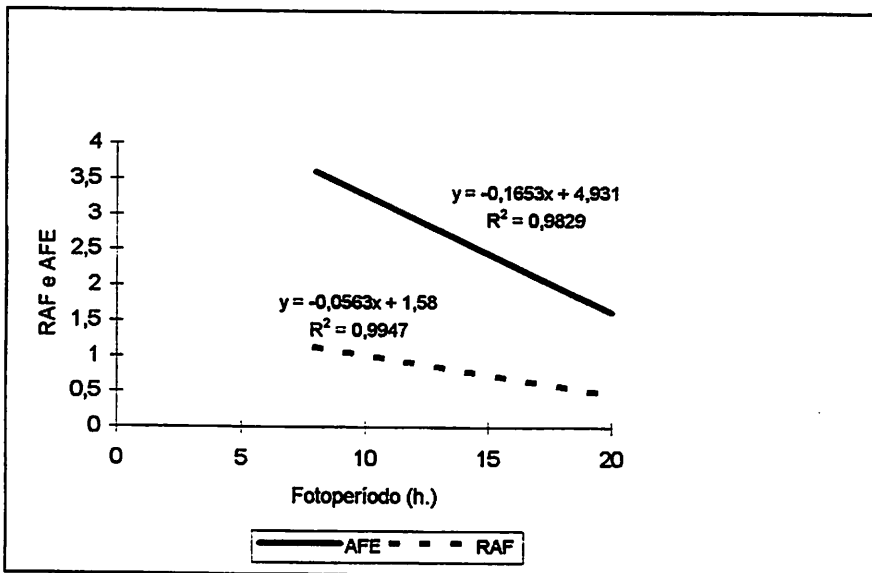


FIGURA 10. Efeito de diferentes fotoperíodos sobre a razão de área foliar (RAF) e área foliar específica (AFE), em plantas de confei. UFLA, Lavras, MG, 1998.

A RAF foi 68,84% superior em fotoperíodo de 8 horas, em relação àquela apresentada por plantas submetidas a fotoperíodo de 20 horas. Os dados

permitem verificar também que a RAF sofreu um declínio de 41,42%, 23,86% e 29,85% com a extensão do fotoperíodo de 8 para 12, 16 e 20 horas, respectivamente. Este decréscimo na RAF está estreitamente relacionado a um aumento na superfície fotossintetizante apresentada por plantas submetidas a fotoperíodos maiores (FIGURA 11).

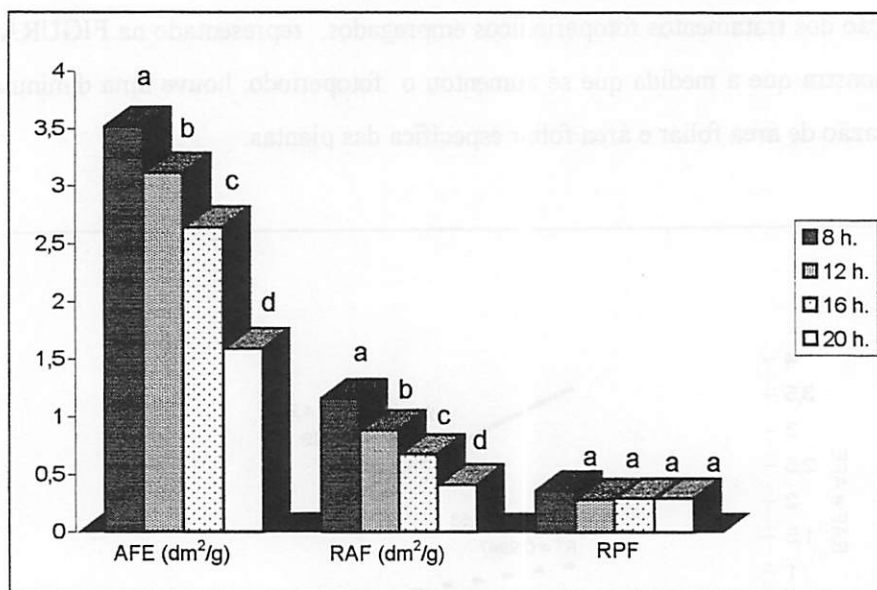


FIGURA 11: Valores da Razão de Área Foliar (RAF), Área Foliar Específica (AFE) e Razão de Peso Foliar (RPF) em plantas de confrei, submetidas a diferentes condições fotoperiódicas. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 1998.

Segundo Benincasa (1988), um decréscimo na RAF pode ser observado devido ao auto sombreamento e sombreamento entre plantas, levando a uma diminuição na área foliar fotossinteticamente útil. A determinação da RAF

permite detectar também a translocação e partição de assimilados para as folhas, em relação ao peso de matéria seca total da planta . Assim, a queda na RAF, observada na FIGURA 11, indica uma redução no direcionamento progressivo de matéria seca da planta para formação de folhas.

Os resultados obtidos estão de acordo com os encontrados por Boller e Nösberger (1983), que observaram uma diminuição de cerca de 29% na RAF, em plantas de trevo branco submetidas a fotoperíodos longos (16 h.) e temperaturas mais elevadas. Maiores padrões de RAF foram observados por Midmore e Prange (1992), em plantas de batata submetidas a fotoperíodos mais curtos.

De acordo com Benincasa (1988), dois são os componentes da RAF: AFE e RPF. Dessa forma, uma variação na RAF estará intimamente ligada a uma alteração em um ou nos seus dois componentes.

A área foliar específica representa o componente morfológico e anatômico da RAF. Através da FIGURA 11 verifica-se que a resposta das plantas, em relação à AFE foi semelhante a apresentada pela RAF. Um aumento no fotoperíodo promoveu uma redução na AFE, sendo esta da ordem de 54,7% quando o fotoperíodo foi estendido de 8 para 20 horas. Dentro da faixa fotoperiódica estudada, estes decréscimos foram maiores com o incremento do fotoperíodo, sendo de 11,39%, 27,33% e 29,65%, quando o fotoperíodo passou de 8 para 12, 16 e 20 horas, respectivamente . Para Thomas e Vince-Prue (1997), o efeito mais comum de dias longos é a promoção de um aumento na superfície de expansão da lâmina foliar, o que leva ao desenvolvimento de uma folha mais fina e menos suculenta, devido a um aumento na área foliar específica. O tamanho e a espessura de uma folha podem ser influenciados pela duração e pelo comprimento de onda da luz, mas diferenças na intensidade de luz é que são responsáveis pelas maiores variações no tamanho da folha. Dentro de certos limites, quanto maior a

intensidade da luz, menor e mais grossa será a folha, embora a resposta mais precisa dependa da espécie. Vários autores como Boller e Nösberger (1983), Solhaug (1991), Junntila et al. (1997) e Al Juboory et al. (1998) têm relacionado um aumento na área foliar específica, a um incremento do fotoperíodo.

A redução na AFE de plantas de confrei, com o aumento do fotoperíodo indica que as folhas de plantas submetidas a fotoperíodos mais longos são mais espessas e suculentas que aquelas submetidas a fotoperíodos menores. Esse resultado foi ocasionado, possivelmente, por um incremento acentuado no peso de matéria seca das folhas, sem um correspondente aumento na área foliar. Para Brighenti et al. (1993), normalmente há um decréscimo na AFE durante a fase de crescimento vegetativo, pois as folhas não se expandem às mesmas taxas, enquanto o crescimento progride.

As respostas das folhas podem ser controladas fotoperiodicamente, dependendo da espécie. Lorenzen e Ewing (1990), trabalhando com plantas de batata observaram uma maior AFE em plantas crescidas sob dias curtos. O fato de as folhas, em dias curtos, terem menores acúmulos de matéria seca que as folhas expostas a dias longos, indicam que esta diminuição não foi proporcional a área foliar, o que refletiu em AFE maiores, em tratamentos de dias curtos, tanto em baixas, quanto em altas temperaturas. Midmore e Prange (1992), em estudos realizados com plantas de batatas, submetidas a vários tratamentos fotoperiódicos encontraram uma maior AFE em plantas submetidas a fotoperíodos mais curtos.

Maiores AFE de plantas de confrei encontradas em fotoperíodos menores estão associadas, possivelmente, a modificações no componente anatômico da AFE, representado pelo peso de matéria seca da folha, o que traduz em alterações no número ou tamanho das células do mesofilo foliar .

Com relação a RPF, a FIGURA 11 mostra que os tratamentos fotoperiódicos não apresentaram qualquer efeito sobre esta variável, indicando

que esse componente da RAF não foi modulado pelo aumento no fotoperíodo. Considerando-se que as folhas são os centros de produção de matéria seca (fotossíntese) e que o resto da planta depende da exportação de material da folha, a RPF (componente fisiológico da RAF) expressa a fração de matéria seca não exportada pelas folhas para o resto da planta. A maior ou menor exportação de matéria seca da folha pode ser uma característica genética, a qual está sob a influência de variáveis ambientais.

Dessa forma, os resultados obtidos indicam que o fotoperíodo não interferiu na eficiência de exportação de matéria seca das folhas para a planta como um todo. Além disso, o grande incremento no peso de matéria seca de rizomas e raízes (FIGURA 2), que são drenos muito fortes, não afetou o peso de matéria seca das folhas, o que também contribuiu para uma RPF estável em todos os fotoperíodos testados. Pode-se observar portanto, que a variação na RAF de plantas pode ser totalmente atribuída a variações na AFE, uma vez que a RPF não foi afetada pelos tratamentos fotoperiódicos. Os resultados obtidos com relação à RPF estão de acordo com aqueles encontrados por Solhaug (1991), em estudos realizados com algumas espécies de gramíneas, quando o autor pôde verificar um aumento na RAF e AFE sob dias longos, enquanto que a RPF permaneceu inalterada com o aumento no comprimento do dia. Contudo, diferem dos encontrados por Boller e Nösberger (1983), que constataram um aumento na RAF, RPF e AFE em plantas de trevo branco submetidas a um incremento fotoperiódico de 12 para 16 horas e por Al Juboory et al. (1998), que observaram um aumento na RAF, AFE e RPF em folhas de *Hedera canariensis* Wild. submetidas a uma extensão do fotoperíodo de 12 para 16 horas.

5.4 Conteúdo de clorofilas

A análise dos conteúdos de clorofilas revelou a influência dos diferentes fotoperíodos testados sobre os conteúdos de clorofilas a, b e total, não sendo observado qualquer efeito sobre a relação clorofila a: b nas plantas .

O estudo da regressão polinomial em função dos tratamentos fotoperiódicos empregados, demonstrou uma redução nos conteúdos de clorofilas a, b e total nas plantas estudadas. Essas reduções foram da ordem de 57,16%, 55,67% e 53,72% para as clorofilas a, b e total, respectivamente, quando o fotoperíodo foi estendido de 8 para 20 horas (FIGURA 12).

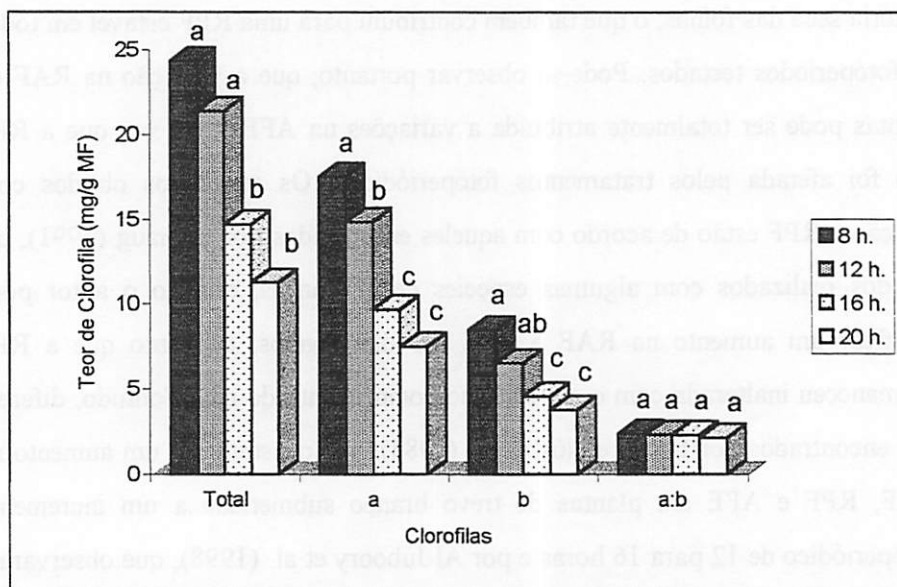


FIGURA 12: Efeito dos diferentes fotoperíodos sobre o conteúdo de clorofila total, a, b e relação clorofila a:b. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. UFLA. Lavras, MG, 1998.

Resultados semelhantes foram obtidos por Herath e Ormrod (1979), em estudos realizados com dois grupos de seleções de feijão alado, nos quais foram encontrados sob fotoperíodos mais curtos (8 e 11 horas), níveis de clorofila total superiores aos observados em fotoperíodos mais longos (14 e 16 horas). Alvarenga (1987), em pesquisas desenvolvidas com Jacatupé (*Pachyrrhizus tuberosus* Lam. Spreng.) observou que a extensão do fotoperíodo de 8 para 10 horas afetou sobremaneira os níveis de clorofila a, b e total dos folíolos laterais da 5ª folha trifoliolada dessas plantas, sem contudo alterar as relações clorofila a:b. Maiores conteúdos foliares de clorofila a, b e total foram encontrados em *Solanum tuberosum*, variedade Kufri Bahar e Kufri Badshad, por Ezekiel e Bhargava (1991), crescidas sob dias curtos, 20 dias após o plantio. Faria (1998), obteve resultados semelhantes aos observados por Alvarenga (1987) em estudos realizados com plantas de feijão Jacatupé submetidas a 4 condições fotoperiódicas diferentes (9, 12, 15 e 18 horas). Segundo a autora, esses resultados sugerem que sob fotoperíodos mais curtos, as folhas conseguem manter os seus teores de clorofila, provavelmente por haver menor influência do período de luz, sobre os processos fotoxidativos dessas moléculas fundamentais ao processo fotossintético.

Os resultados obtidos no presente estudo vêm contrariar no entanto, as evidências de Vogg et al. (1998), que relataram para *Pinus sylvestris* L., conteúdos de clorofila a, b e total relativamente mais baixos, sob dias curtos (9 horas), em relação às plantas cultivadas sob dias longos. A transferência das plantas de condições de dias curtos, para dias longos resultou em um aumento significativo do conteúdo de clorofila, enquanto este caiu, quando as plantas foram transferidas de dias longos, para dias curtos.

As reduções nos teores de clorofilas, não alteraram contudo, o ganho de matéria seca das plantas (FIGURA 2), apesar de terem apresentado aumento no tamanho das folhas e modificação no número das mesmas (FIGURAS 7 e 8).

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que o este trabalho foi conduzido pôde-se concluir que:

1. O incremento do fotoperíodo entre 8 e 20 horas influenciou consideravelmente o crescimento das plantas de confrei, traduzido por um aumento tanto na produção de biomassa total, como particionada, entre os diversos órgãos da planta.
2. A extensão do fotoperíodo de 8 para 20 horas proporcionou um aumento na área foliar das plantas, até fotoperíodo de 16 horas. A partir desse ponto, houve uma queda na área foliar ocasionada por uma redução no número de folhas produzidas por essa espécie, sob fotoperíodos maiores.
3. A RAF e AFE apresentaram-se mais elevadas em fotoperíodos mais curtos (8 horas), enquanto que a RPF não mostrou-se afetada pelos tratamentos fotoperiódicos empregados. Plantas submetidas a fotoperíodos maiores apresentaram-se mais espessas e succulentas, que as submetidas a fotoperíodos menores.
4. Plantas cultivadas sob fotoperíodos menores apresentaram-se com maiores conteúdos de clorofila a, b e total, enquanto que não foi observada nenhuma diferença na relação clorofila a:b .

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AI JUBOORY, K.H.; WILLIAMS, D.J.; SKIRVIN, R.M.; BULLOCK, D.G. Influence of photoperiod, photosynthetic photon flux, and temperature on growth of Canary Island Ivy. *HortScience*, Virginia, v. 33, n. 2, p. 237-239, Apr./May 1998.
- ALVARENGA, A.A. Estudo de alguns aspectos do desenvolvimento do feijão jacatupé (*Pachyrrhizus tuberosus* Lam. Spreng). Campinas: UNICAMP, 1987. 174 p. (Tese - Doutorado em Biologia Vegetal)
- ALVARENGA, A.A.; VÁLIO, F.M. Influence of temperature and photoperiod on flowering and tuberous root formation of *Pachyrrhizus tuberosus*. *Annals of Botany*, New York, v. 64, n. 1, p. 411-414, Oct. 1989.
- ARNON, D.I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, Maryland, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan./Mar. 1949.
- ATTRIDGE, T.H. Light and plant responses. New York: Chappman and Hall, 1990. 148 p.
- BENINCASA, M.M.P. Análise de Crescimento de Plantas. Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1988. 41 p.
- BLUMENTHAL, M.J.; HARRIS, C.A. Effects of photoperiod and temperature on shoot, root and rhizome growth in three *Lotus uliginosus* schkuhr populations. *Annals of Botany*, New York, v. 81, n. 1, p. 55-59, Jan. 1998.
- BOLLER, B.C.; NÖSBERGER, J. Effects of temperature and photoperiod on Stolon characteristics dry matter partitioning, and nonstructural carbohydrate concentration of two white clover ecotypes. *Crop Science*, Madison, v. 23, p. 1057-1062, 1983.
- BOLONHEZI, A.C. Influência do fotoperíodo sobre o desenvolvimento da planta e a produção de raízes tuberosas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.). Piracicaba: UNESP, 1991. 228 p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia)

- BRIGHENTI, A.M.; SILVA, J.F.; LOPES, N.F.; CARDOSO, A.A.; FERREIRA, L.R. Crescimento e partição de assimilados em losna. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Brasília, v. 5, n. 1, p. 41-45, jun./nov. 1993.
- CÂMARA, G.M. de S. Efeito do fotoperíodo e da temperatura no crescimento, florescimento e maturação de cultivares de soja (*Glycine max.* L. Merrill) . Viçosa: UFV, 1991. 266 p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia)
- CLEMENTE FILHA, A.C. Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de *Bauhinia forticata* Link e *Plantago major* L. Lavras: UFLA, 1996. 67 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal)
- ENGELS, C.; SCHWENKEL, J.; ELBEDEWYIR, R.; SATTELMACHER, R.B. Effect of the developmental stage of potato seedlings on recovery after transplanting to the field and on tuber yield. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, v. 124, n. 2, p. 213-218, Apr. 1995.
- EVANS, L.T. The effect of light on plant growth, development and yield. In: SLATYER, R. O. *Plant response to climatic factors*. Paris: UNESCO, 1973. p. 21-35.
- EZEKIEL, R.; BHARGAVA, S.C. Potato leaf growth as influenced by photoperiod. *Plant Physiology and Biochemistry*, New Dehli, v. 18, n. 2, p. 91-95, Feb. 1991.
- FARIA, L.L. Influência do fotoperíodo no crescimento, composição química e indução de raízes tuberosas do feijão jacatupé (*Pachyrrhizus tuberosus* Lam. Spreng). UFLA: Lavras, 1998. 46 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal)
- GARNER, W.W.; ALLARD, H. A. Effect of relative length of day and night and others factors of the environment on growth and reproduction in plants. *Journal of Agricultural Research*, Washington, v. 18, n. 11, p. 553-606, Mar. 1920.
- GLOBIG, S.; ROSEN, I.; JANES, H.W.; BLACQUIERE, T (ED.); GUDE, H. Continuous light effects on photosynthesis and carbon metabolism in tomato. *Acta Horticulturae*, n. 418, p. 141-151, 1997.

- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468 p.
- HAY, R. K. M. The influence of photoperiod on dry-matter production of grasses and cereals. **The New Phytology**, London, v. 116, p. 233-254, 1990.
- HEIDE, O.M.; KING, R.W.; EVANS, L.T. The semidian rhythm in the flowering response of *Pharbitis nil* in relation to dark period time measurement and to a circadian rhythm. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 73, n. 3, p. 286-294, July 1988.
- HERÁTH, H.M.W.; ORMROD, D.P. Effects of temperature and photoperiod on Whinged beans (*Psophocarpus tetragonolobus L.*). **Annals of Botany**, New York, v. 43, n. 6, p. 729-736, June 1979.
- ISEJIMA, E.M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Partição de matéria seca durante o desenvolvimento de *Viguiera discolor*. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 107-114, jul./nov. 1991.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. P. 126-154.
- JUNTILLA, O.; SVENNING, M.M; SOLHEIM, B. Effects of temperature and photoperiod on frost resistance of white clover (*Trifolium repens*) ecotypes. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 79, n. 3, p. 435-438, jul. 1990.
- KAHANE, R.; DELASERVE, B. T.; RANCILLAC, M. Bulbing in long-day onion (*Allium cepa L.*) cultured in vitro: comparison between sugar feeding and light induction. **Annals of Botany**, New York, v. 69, n. 6, p. 551-555, June. 1992.
- KENDRICK, R.E. ; FRANKLAND, B. **Phytochrome and plant growth**. London: Edward Arnold, 1976. 100 p.
- KITAYA, Y.; NIU, G.; KOZAI, T., OHASHI, M. Photosynthetic photon flux, photoperiod, and CO₂ concentration affect growth and morphology of lettuce plug transplants. **HortScience**, Virginia, v. 33, n. 6, p. 988-991, Oct./Nov.1998.

- KOZLOWSKI, T.T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S. G. The physiological ecology of woody plants. Califórnia: Academic Press, 1991. 657 p.**
- LORENZEN, J.H.; EWING, E.E. Changes in tuberization and assimilate partitioning in potato (*Solanum tuberosum*) during the first 18 days of photoperiod treatment. *Annals of Botany*, New York, v. 66, n. 4, p. 457-464, Oct. 1990.**
- MACHÁCKOVÁ, I.; KONSTANTINOVA, T.N.; SERGEEVA, L.; LOZHNIKOVA, V.N.; GOLYANOVSKAYA, S.A.; DUDKO, N.D.; EDER, J.; AKSENOVA, N. P. Photoperiodic control of growth, development and phytohormone balance in *Solanum tuberosum*. *Physiologia Plantarum*, v. 102, n. 2, p. 272-278, Feb. 1998.**
- MARKAROV, A.M.; GOLOVSKO, T.K.; TABALENKOVA, G.N. Photoperiodic responses in the morphological and functional characteristics of three potato species. *Soviet Plant Physiology*, Moscou, v. 40, n. 1, p. 40-45, Jan. 1993.**
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M. de; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. Plantas medicinais. Viçosa: UFV, 1994. 220 p.**
- MATOS, F.J.A . Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 2. ed. Fortaleza: UFC, 1994. 180 p.**
- MIDMORE, D J.; PRANGE, R.K. Growth responses of two *Solanum* species to contrasting temperatures and irradiance levels: relations to photosynthesis, dark respiration and chlorophyll fluorescence. *Annals of Botany*, New York, v. 69, n. 1, p. 13-30, Jan. 1992.**
- PETRECHEN, E. de H. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de goiabeira (*Psidium guajava* L) das cultivares “Rica” e “Paluma” em câmara de nebulização intermitente. Jaboticabal: UNESP, 1988. 50 p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal)**
- PÍPOLO, V.C. Herança de período juvenil longo em soja [*Glycine max.* (L) Merrill] estimado sob condições de dias curtos. Botucatu: UNESP, 1996. 153 p. (Tese - Doutorado em Agricultura)**

- SOLHAUG, K. A. Influence of photoperiod and temperature on dry matter production and chlorophyll content in temperate grasses. **Norwegian Journal of Agricultural Science**, Norway, v. 5, n. 4, p. 365-384, 1991.
- THOMAS, B.; VINCE-PRUE, D. **Photoperiodism in plants**. 2.ed. Califórnia: Academic Press, 1997. 428 p.
- VAILLANT, V.; DESFONTAINES, L. Assimilate partitioning in *Pachyrhizus erosus* under short days. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 93, n. 4, p. 558-562, Apr. 1995.
- VOGG, G.; HEIM, R.; HANSEN, J.; SCHAFFER, C.; BECK, E. Frost hardening and photosynthetic performance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles. I. Seasonal changes in the photosynthetic apparatus and its function. **Planta**, Berlin, v. 204, n. 2, p. 193-200, Feb. 1998.
- WOLF, S.; MARANI, A.; RUDICH, J. Effects of temperature and photoperiod on assimilate partitioning in potato plants. **Annals of Botany**., New York, v. 66, n. 4, p. 513-520, July 1990.
- ZACK, C.D.; LOY, J.B. The effect of light quality and photoperiod on vegetative growth of *Curcubita maxima* L. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Virginia, v. 105, n. 6, p. 939-943, Nov./Dec. 1980.
- ZEEVAART, J.A.D. *Perilla*. In: EVANS, L. T. **The Induction of Flowering**. Melbourne: Macmillan, 1969. p. 116-155.
- ZHANG, D.; ARMITAGE, A.M.; AFFOLTER, J.M.; DIR, M.A. . Environmental control of flowering and growth of *Lysimachia congestiflora* Hemsl. **HortScience**, Virginia, v. 30, n. 1, p. 62-64, Jan./Feb. 1995.

CAPÍTULO 4: INFLUÊNCIA DO FOTOPERÍODO NA PRODUÇÃO E ACÚMULO DE ALANTOÍNA EM PLANTAS DE CONFREI (*Symphytum officinale* L.)

1 RESUMO

Symphytum officinale L. (Boraginaceae), conhecida popularmente como confrei é uma espécie amplamente difundida por suas propriedades medicinais. Sua ação terapêutica é deve-se à alantoína, substância com atividade reconhecida e comprovada em processos de cicatrização e regeneração de tecidos. Com o objetivo de avaliar a influência do fotoperíodo na produção e acúmulo de alantoína em plantas de confrei, um experimento foi conduzido em sala de crescimento do Setor de Fisiologia Vegetal/DBI/UFLA, município de Lavras, MG, nos meses de julho e agosto de 1998. Mudanças obtidas a partir de plantas com 90 dias de idade foram submetidas a 4 condições fotoperiódicas diferentes: 8, 12, 16 e 20 horas, por 60 dias. As plantas foram coletadas e os teores de alantoína, em raízes e rizomas foram avaliados através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A separação foi possível utilizando-se uma coluna de fase reversa Zorbax C18. A fase móvel foi constituída de tampão fosfato de potássio (10 mM, pH= 4,0), o fluxo foi de 0,5 ml/min., à temperatura ambiente e o detector de absorvância selecionado para 218 nm. Os resultados obtidos revelaram que fotoperíodos crescentes promoveram um aumento no teor médio de alantoína em raízes, sendo este da ordem de 0,06%, 0,303%, 1,213% e 4,78%, respectivamente, enquanto que em rizomas, houve uma redução no acúmulo dessa substância, de 9,65% para 7,14%, 0,55% e 0,53%, quando o fotoperíodo foi aumentado de 8 para 12, 16 e 20 horas. Plantas cultivadas em condições de campo apresentaram um teor de 2,55% e 2,63% de alantoína, em rizomas e raízes, respectivamente. Considerando-se que no confrei, as raízes são consideradas como sítios produtores de alantoína, os resultados demonstraram que as condições fotoperiódicas testadas influenciaram tanto na síntese dessa substância nestes órgãos, como em seu acúmulo em rizomas.

2 ABSTRACT

Influence of photoperiod on the production and accumulation of allantoin in comfrey (*Symphytum officinale* L.) plants

Comfrey, *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae), is a well known species due to its medicinal properties. Its therapeutic action is due to allantoin, a substance known for its healing and regenerative tissue action. With the objective to evaluate the influence of photoperiod on the production and accumulation of allantoin in comfrey plants, an experiment was conducted in growth room at the Plant Physiology – DBI/UFLA unit, Lavras city, Minas Gerais state, during the months of July and August, 1998. Young plants obtained from plants with 90 days of age were submitted to four photoperiodic conditions: 8, 12, 16 and 20 h during 60 days. After that, the plants were collected and the content of allantoin in roots and rhizomes were evaluated through High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The separation was possible using the Zorbax C18 reverse phase column. The mobile phase consisted of potassium phosphate buffer (10 mM, pH 4.0), 0.5 ml/min flux, room temperature and absorbance selected to 218 nm. The obtained results showed that while increases in photoperiod promoted an increment in the average of allantoin root content (0.06%, 0.303%, 1.213% and 4.78%, respectively), in rhizomes there was a decrease in allantoin accumulation from 9.65% to 7.14%, 0.55% and 0.53% when the photoperiod was increased from 8 to 12, 16 and 20 h, respectively. Plants cultivated under field conditions presented a content of 2.55% and 2.63% allantoin in rhizomes and roots, respectively. Based on the fact that in comfrey the roots are considered as sites of allantoin synthesis, the results demonstrated that the tested photoperiodic conditions influenced both the synthesis of allantoin in these organs as well as its accumulation in rhizomes.

3 INTRODUÇÃO

Symphytum officinale L. (Boraginaceae), conhecida comumente como confrei é uma espécie amplamente difundida por suas propriedades medicinais (Matos, 1994). Popularmente é empregada como cicatrizante e regeneradora de tecidos, ação terapêutica esta devida a alantoina (Santos, Torres e Leonart, 1988; Vincenzi e Maialetti, 1992).

Além de sua ação curativa, a alantoína tem sido detectada em muitas espécies vegetais, como um dos principais ureídeos responsáveis pelo armazenamento e translocação de nitrogênio em plantas superiores (Thomas e Schrader, 1981). Quimicamente é conhecida como 5-ureidohidantoína (FIGURA 1), de fórmula molecular $C_4H_6N_4O_3$, podendo ser preparada sinteticamente por oxidação do ácido úrico com permanganato de potássio, em meio alcalino (The Merck Index, 1996).

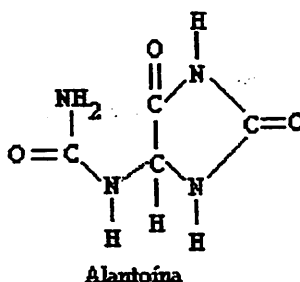


FIGURA 1: Estrutura da molécula de alantoína. UFLA. Lavras, MG, 1999.

Reinbothe e Mothes (1962) descrevem a alantoína, como um dos principais produtos finais do metabolismo das purinas (FIGURA 2).

No gênero *Symphytum*, a alantoína pode ser encontrada em toda a planta; contudo, maiores concentrações são observadas em raízes e rizomas. (Vincenzi e Maialetti, 1992; Matos, 1994). Nestes órgãos são encontrados também, os alcalóides pirrolizidínicos, em pequenas concentrações, tidos como cancerígenos, atingindo o baço e o fígado, mas de baixa absorção em uso tópico (Simões, 1995).

A alantoína tem sido utilizada em preparações farmacêuticas e cosméticas por suas propriedades cicatrizante e regeneradora de tecidos necrosados, na forma de extratos, tinturas, pomadas, sabonetes medicinais, sendo

indicada como antiinflamatório e cicatrizante de uso local. Outras espécies como *Platanus orientalis* L. (Reinbothe e Mothes, 1962), *Cordia ecalyculata* Vell. (Saito e Oliveira, 1986) e algumas espécies pertencentes a família Aristolochiaceae, como *Aristolochia triangularis* Cham. (Lopes et al., 1990) são também utilizadas externamente, em tratamentos de doenças de pele e como cicatrizante, devido a presença desse constituinte.

O possível local de síntese da alantoína no confrei, ainda não é conhecido. Alguns estudos consideram as raízes, como o principal sítio de síntese de ureídeos (Reinbothe e Mothes, 1962); contudo, outros trabalhos mostram que as folhas também sintetizam esses compostos, quando destacadas e submetidas a ausência de luz (Hartmann e Arnold, 1974). Em plantas noduladas como a soja existem grandes evidências de que a síntese de ureídeos se processe nos nódulos, já que as enzimas necessárias para a síntese desses compostos, a partir da xantina, são encontradas quase que exclusivamente nestes locais (Polayes e Schubert, 1984). Segundo Thomas e Schrader (1981), em *Symphytum*, a alantoína se acumula em órgãos de reserva, no outono, mas não se sabe ainda se ela é formada neste local ou transportada para ele.

Segundo Chatterjee e Raychadhuri (1992), a biossíntese de metabólitos secundários é regulada geneticamente por fatores ambientais, que exercem efeitos consideráveis sobre seu acúmulo. Entre eles, destaca-se o efeito da luz que, atuando de forma significativa e complexa no metabolismo, influencia tanto a qualidade, como a quantidade dos produtos formados. Pouco se conhece, no entanto, sobre o efeito do fotoperíodo na síntese e acúmulo de metabólitos secundários. Sabe-se que o estímulo luminoso é percebido pelas folhas, de onde é translocado pelo floema a baixa velocidade, para pontos de crescimento ou meristemas (Borthwick e Parker, 1938). A planta encontra-se apta a receber esses

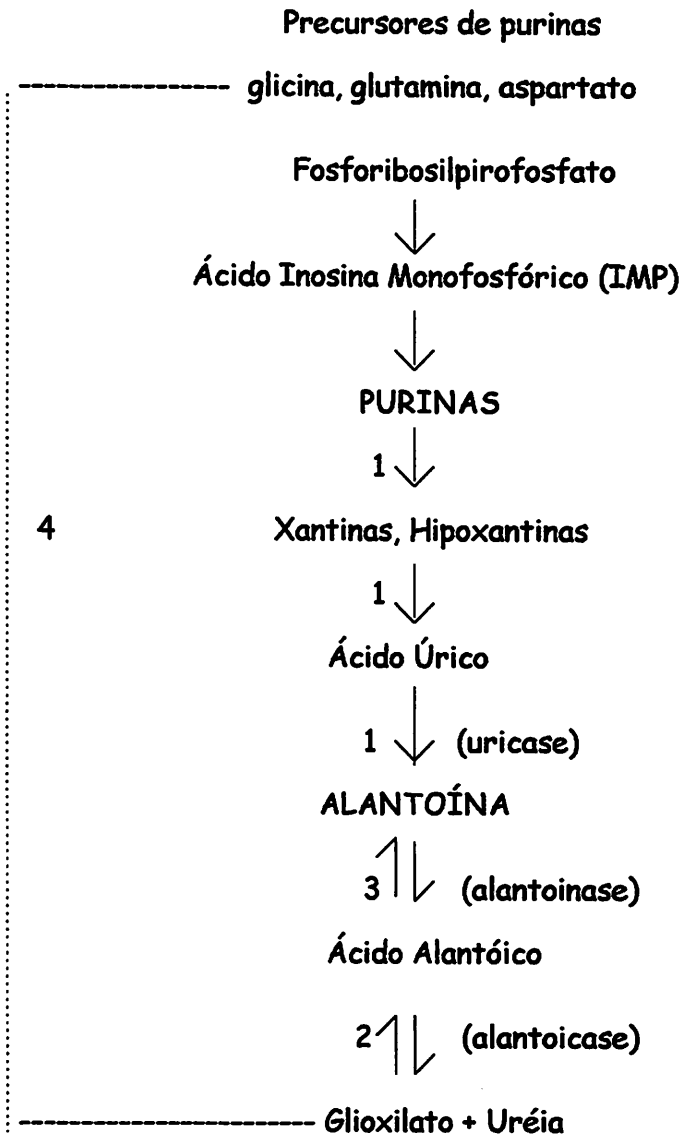


FIGURA 2: Possível rota metabólica de síntese de ureídeos. 1. Degradação aeróbica de purinas; 2. Condensação do glioxilato + uréia; 3. Reação reversa da alantoinase; 4. Reciclagem do glioxilato (Adaptado de Thomas & Schrader, 1981).

estímulos a partir do momento em que atinge um certo grau de desenvolvimento vegetativo (determinado principalmente por um aumento em sua área foliar), morfológico e bioquímico (Thomas e Vince-Prue, 1997). A resposta produzida depende inicialmente do fitocromo, pigmento fotorreceptor do estímulo fotoperiódico, presente em membranas celulares (Machacková et al., 1998). A resposta de plantas ao fotoperíodo, em relação à síntese e acúmulo de metabólitos secundários foi caracterizada em várias espécies como *Licopersicum hirsutum* (Sinden, Schauk e Stoner, 1978), *Mentha piperita* (Burbott e Loomis, 1967; Clark e Menary, 1979; Voirin, Saunois e Bayet, 1994; Fahlén, Welander e Wennersten, 1997), *Papaver somniferum* (Bernáth e Tétényi, 1979), *Origanum syriacum* (Dudai et al., 1992), *Artemisia drancunculus f. drancunculus* (Suchorska, Jedrasszko e Olszewska-Kaczynsta, 1992), *Datura stramonium* (Demeyer et al., 1992), *Spinaceae oleraceae* L. e *Agrostemma githago* L. (Zeevaart e Gage, 1993), *Artemisia annua* (Ferreira et al., 1995; Jaziri et al., 1995). O teor dessas substâncias pode variar de acordo com as condições ambientais a que estão submetidas, época do ano e genótipo.

O teor de alantoína no confrei varia conforme a época do ano, parte da planta analisada, estágio de desenvolvimento fisiológico e estado nutricional (Kaczmarek e Walicka, 1959; Butler, Ferguson e Allison, 1961; Reinbothe e Mothes, 1962; Matsumoto, Yatazawa e Yamamoto, 1977; Saito e Oliveira, 1986; Simões, 1995), sendo a ação do extrato de confrei muito superior a da alantoína isolada.

Vários métodos baseados em reações colorimétricas têm sido descritos para a determinação de alantoína em material vegetal. A análise colorimétrica tradicional baseia-se na Reação de Rimini-Schryver, descrita por Young e Conway (1942). Neste método, a alantoína é convertida em ácido glioxílico, por

hidrólise sequencial, sob condições alcalinas e ácidas e o ácido glioxílico obtido é tratado com fenilhidrazina, para formar uma hidrazona de cor castanha, que é medida colorimetricamente. Contudo, Chen, Kyle e Orskov (1993) questionam a confiabilidade desse método, devido a instabilidade da hidrazona obtida.

O problema da não especificidade dos métodos colorimétricos pode ser contornado pelo uso de técnicas mais modernas. Com o advento de técnicas analíticas cromatográficas, numerosos métodos de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) têm sido desenvolvidos para quantificar a alantoína e outras substâncias relacionadas, em diversos tipos de amostras. Entre eles, a cromatografia líquida de alta eficiência, em fase reversa (CLAE-FR) tem se mostrado uma boa alternativa na quantificação dessas substâncias, por ser um método rápido, eficiente, moderno e que permite a detecção de substâncias em quantidades extremamente pequenas na amostra, sendo amplamente empregado (Ashihara, Yabuki e Mitsui, 1990; Díez, Arín e Resines, 1992; Resines, Arín e Díez, 1992; Eiteman, Gordillo e Cabrera, 1994; Terzuoli et al., 1994; Terzuoli, Pandolfi e Arezzini, 1995).

Em vista da carência de informações relacionadas a ação de fatores ambientais, sobre a síntese de metabólitos secundários de atividade terapêutica, em plantas medicinais, propôs-se este trabalho, com o objetivo principal de avaliar a influência do fotoperíodo sobre a síntese e acúmulo de alantoína em raízes e rizomas de plantas de confrei.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido em sala de crescimento, no Departamento de Biologia, setor de Fisiologia Vegetal/UFLA, município de Lavras, MG, nos

meses de julho e agosto de 1998. A espécie utilizada foi o confrei (*Symphytum officinale* L.), proveniente de áreas antrópicas, daquele município.

As mudas foram obtidas a partir de plantas com 90 dias de idade, retiradas de um mesmo canteiro e selecionadas dentro de um mesmo padrão de tamanho e vigor. As lâminas foliares foram cortadas e os segmentos de rizomas separados, de modo que cada muda era constituída por 5 pecíolos por propágulo. Após o preparo foram imediatamente transferidas para vasos de polipropileno, com capacidade para 8 kg de substrato cada, perfurados na base para facilitar a drenagem do excesso de água. O substrato utilizado para enchimento dos vasos foi composto de uma mistura de terra de subsolo:areia:esterco, na proporção de 2:1:1. O solo utilizado foi classificado como Latossolo Vermelho Escuro, Horizonte B, pelo Departamento de Ciência do Solo/UFLA, cujas características físico-químicas encontram-se descritas no anexo A, tabela 1A. As mudas foram transferidas para o substrato a uma profundidade de dois terços do seu comprimento. A cada vaso foram adicionados 200 ml de solução nutritiva de Johansen (1940) modificada, meia força (anexo A, tabela 3A).

Imediatamente após o plantio, as mudas foram transferidas para sala de crescimento e submetidas aos seguintes tratamentos fotoperiódicos: 8, 12, 16 e 20 horas, com intensidade média de radiação de $200 \mu\text{mol.s}^{-1}\text{m}^{-2}$, determinada pelo uso de porômetro mod. Stedy State Porometer LI-COR 1600 M. As diferentes condições fotoperiódicas foram conseguidas através da utilização de um sistema temporizador, com acionamento e desligamento automático. Durante todo o período de condução do experimento, o solo foi mantido próximo a sua capacidade de campo. Após 30 dias do início dos tratamentos, as plantas receberam novamente 200 ml de solução nutritiva de Johansen (1940) modificada, dois terços de força. A temperatura ambiente foi controlada através

de aparelho de ar condicionado, registrando-se uma temperatura média de 25°C e umidade relativa do ar de 15%, monitoradas por psicrômetro.

Após 60 dias do início do experimento, as plantas foram coletadas e as lâminas foliares e pecíolos cortados e separados, enquanto que as raízes e rizomas foram lavados em água corrente, para retirar o substrato aderido, seccionados, separados e colocados para secar em temperatura ambiente, por 2 dias. Após essa secagem prévia foram transferidos para estufas a 40°C, até peso constante. Posteriormente foram triturados em micro-moinho e armazenados em frascos fechados e protegidos da luz.

4.2 Determinação do conteúdo de alantoína nas amostras

Estas análises foram realizadas na Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, no Instituto de Botânica (SP).

4.2.1 Reagentes

A alantoína utilizada como padrão foi obtida através da Sigma Chemical CO., St. Louis, MO. As demais substâncias químicas utilizadas apresentavam o maior grau de pureza disponível. A água utilizada no aparelho de CLAE e para o preparo de todas as soluções foi previamente destilada e deionizada.

4.2.2 Obtenção dos extratos

Em aproximadamente 500 mg do material seco e moído (rizomas e raízes) foram acrescentados 5 ml de etanol 80%. Posteriormente, esta mistura foi submetida a sonicação em aparelho Branson (mod. 2210), por 15 min. O extrato

assim obtido foi filtrado e a seguir 1 ml do mesmo foi concentrado em banho-maria, a 50°C, sob ventilação forçada por aproximadamente 2 horas. O concentrado foi retomado com 1 ml de MeOH:H₂O (1:1), novamente submetido a sonicação por 5 minutos, sendo o volume completado com água para 10 ml de solução.

Cerca de 1 ml de cada amostra foi filtrado através de filtro Millex-HV, tamanho de poro de 0,45 µm. Um volume de 40µl do filtrado foi injetado na coluna de CLAE.

4.2.3 Preparo da solução padrão

A solução estoque de alantoína (1 mg/ml) foi preparada pela dissolução do padrão puro em água. A solução padrão de trabalho foi preparada, na concentração de 40 µg/ml pela diluição da solução estoque com água. Esta solução foi filtrada através de filtro Millex, tamanho de poro de 0,45 µm e uma alíquota de 40 µl foi usada como controle para checar o tempo de retenção e todas as condições do cromatógrafo. A partir da solução estoque foi obtida uma curva de calibração para a alantoína, cujas concentrações variaram entre 1-200µg/ml .

A quantificação de alantoína em cada tratamento foi realizada por análise de regressão das áreas dos picos de cada amostra, em relação a concentração. Injeções em triplicata de cada amostra foram feitas.

4.2.4 Condições cromatográficas

As análises em CLAE foram realizadas em aparelho Dionex, modelo DX 500, equipado com detector de arranjos de diodos (PD 40).

Uma coluna de fase reversa Zorbax C18 (4,6 mm ID x 25 cm - 5 µm) foi utilizada, sendo a fase móvel constituída por tampão fosfato (KH₂PO₄) 10 mM, pH= 4,0. O fluxo foi de 0,5 ml/min, à temperatura ambiente e o detector de absorvância foi selecionado a 218 nm, no modo isocrático.

O pico de alantoína foi identificado nas amostras, através da comparação de seu tempo de retenção, com aquele do padrão puro e co-eluição da amostra, com padrão autêntico (1:1).

A quantificação foi obtida por comparação das áreas obtidas para os picos de alantoína nas amostras, com aquelas fornecidas pela curva padrão.

4.3 Determinação do conteúdo de amido e açúcares solúveis totais (AST) nas amostras

O amido foi extraído segundo o método hidrolítico de Lane-Enyon, descrito na AOAC (1970) e os AST, de acordo com a técnica de Arêas e Lajolo (1980). Ambos foram determinados colorimetricamente através do método da antrona, descrito por Dische (1962). O resultado foi expresso em porcentagem de glicose, em raiz ou rizoma seco.

4.4 Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto de 4 tratamentos fotoperiódicos (8, 12, 16 e 20 horas), com 3 repetições. Os extratos para determinação dos teores de alantoína, AST e amido foram obtidos através de uma amostra composta, representativa de cada fotoperíodo, preparada a partir de todas as plantas submetidas a cada tratamento.

Os resultados foram submetidos a análise de variância. Para raízes, os dados foram ajustados através de um modelo exponencial do tipo $y = a + b e^{cx}$,

enquanto que para rizomas adotou-se um modelo de regressão não linear logística do tipo $y = a / (1 + e^{(-b-cx)})$, com modificação do parâmetro “c”, sendo este negativo. A variação explicada pela regressão não foi testada pelo teste de F, uma vez que ela não contém termo constante. No entanto, os desvios de regressão foram testados para verificar se o modelo era adequado. Estes modelos matemáticos possibilitaram a obtenção de curvas de fácil interpretação biológica e com altos coeficientes de correlação, tanto para raízes, como para rizomas.

Os dados referentes ao teor de amido e AST nas amostras foram submetidos a análise de variância, segundo os modelos matemáticos próprios para delineamento inteiramente casualizado, propostos por Gomes (1990). Para comparação dos contrastes entre as médias dos tratamentos utilizou-se Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de alantoína nas amostras de raízes e rizomas foi confirmada pela co-eluição das amostras de plantas cultivadas sob condições de campo, com uma solução padrão de alantoína de 40µg/ml, através de CLAE. Um aumento nas áreas dos picos das amostras, após a adição do padrão foram indicativos da presença de alantoína no material analisado (FIGURA 3). As condições cromatográficas empregadas possibilitaram uma boa reprodutibilidade das áreas dos picos e do tempo de retenção da alantoína, que ficou ao redor de 6 minutos e 13 segundos .

Os teores de alantoína nas amostras foram calculados a partir da equação da reta, obtida através de curva de calibração. Uma relação linear entre a área do pico e a concentração de alantoína foi verificada para as diferentes soluções padrões testadas (1 - 200 µg/ml).

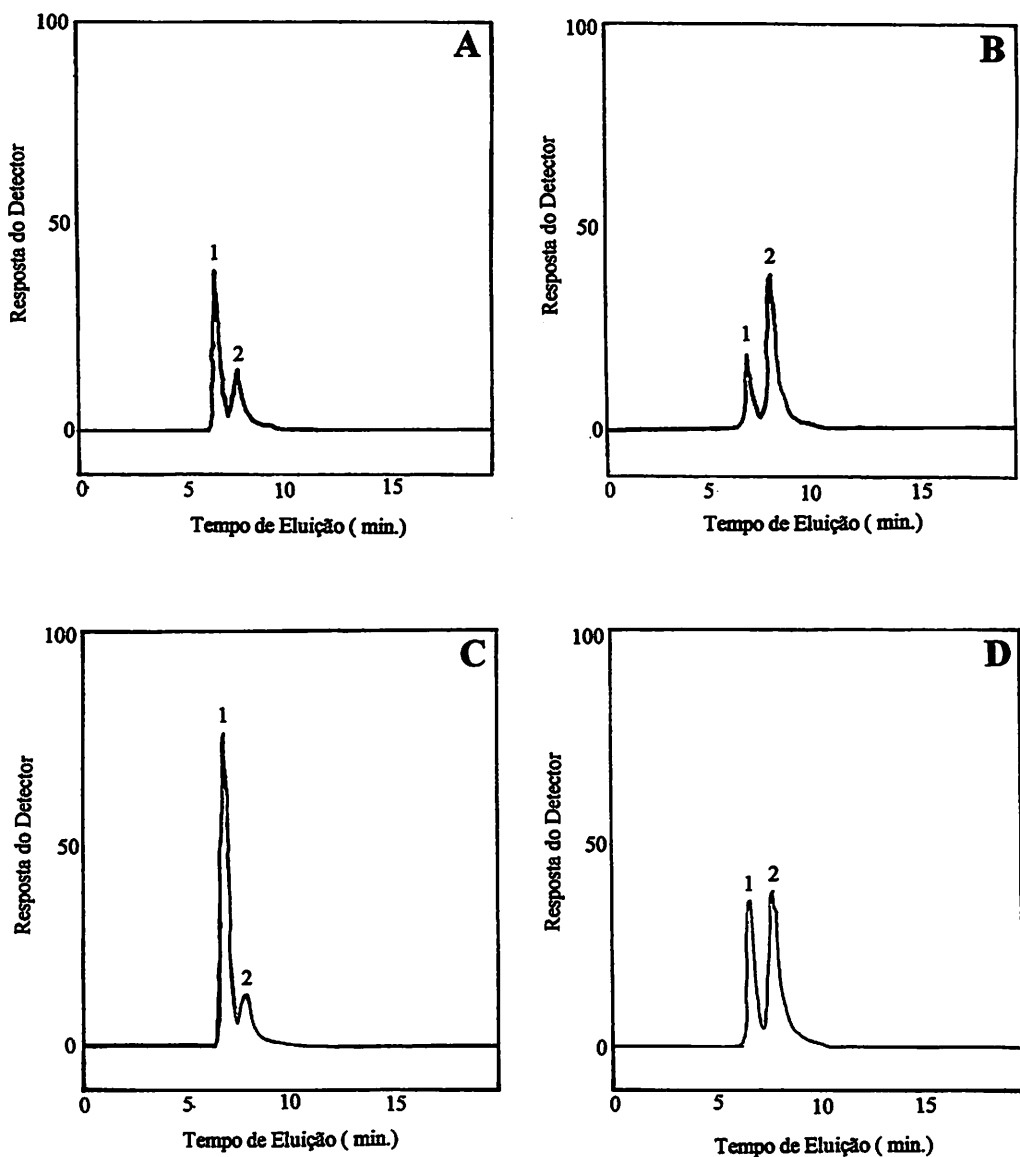
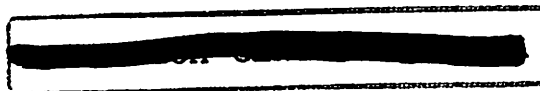


FIGURA 3: Cromatogramas representativos da eluição e co-eluição de amostras de plantas de confrei, com padrão de alantoína 40 $\mu\text{g/ml}$. A. Raiz; B. Raiz + padrão de alantoína; C. Rizoma; D. Rizoma + padrão de alantoína. Pico 1 = Substância não caracterizada; Pico 2 = alantoína. Instituto de Botânica. São Paulo, SP. 1999.



Verificou-se que o aumento do fotoperíodo promoveu um incremento progressivo e marcante nos conteúdos médios de alantoína em raízes e uma redução drástica desses teores, em rizomas (FIGURA 4). Plantas cultivadas em fotoperíodos de 20 horas, apresentaram um teor de alantoína em raízes, cerca de 80 vezes superior, àquelas submetidas a fotoperíodos de 8 horas, enquanto que em rizomas, o teor de alantoína foi aproximadamente 18 vezes menor nesse fotoperíodo, em relação àqueles apresentados por plantas cultivadas sob fotoperíodos de 8 horas. Plantas cultivadas sob condições de campo apresentaram um teor médio de alantoína de 2,55% e 2,63% para raízes e rizomas, respectivamente, valores esses semelhantes aos relatados por Simões (1995) (FIGURA 3).

Resultados semelhantes em relação ao efeito do fotoperíodo sobre a síntese e acúmulo de metabólitos secundários foram observados também, em outras espécies, como *Orygamum syriacum*, (Dudai et al., 1992), *Artemisia drancunculus f. drancunculus* (Suchorska, Jedrasszko e Olszewska-Kaczynsta, 1992), *Spinacia oleracea* L. e *AgrostHEMA githago* L. (Zeevaart e Gage, 1993), *Perilla ocymoides* (Rodionova et al., 1995) e em diversas espécies aromáticas (Fahlén, Welander e Wennersten, 1997). A resposta de diferentes espécies vegetais ao fotoperíodo pode ser tanto quantitativa, como qualitativa.

Um aumento na concentração de ureídeos pode ser resultado da síntese “de novo” de purinas, com subsequente metabolização das mesmas a ureídeos, ou da degradação de nucleotídeos pré-existentes, para formar ureídeos. Em ambos os casos, tanto a atividade da uricase, como a da alantoinase, duas enzimas envolvidas na síntese de ureídeos via degradação de purinas podem ser observadas (Polayes e Schubert, 1984). Atkins, Smith e Storer (1997), em estudos realizados com *Vigna unguiculata* L. Walp., cultivar Vita 3, mostraram que as enzimas responsáveis pela síntese “de novo” das purinas estão localizadas

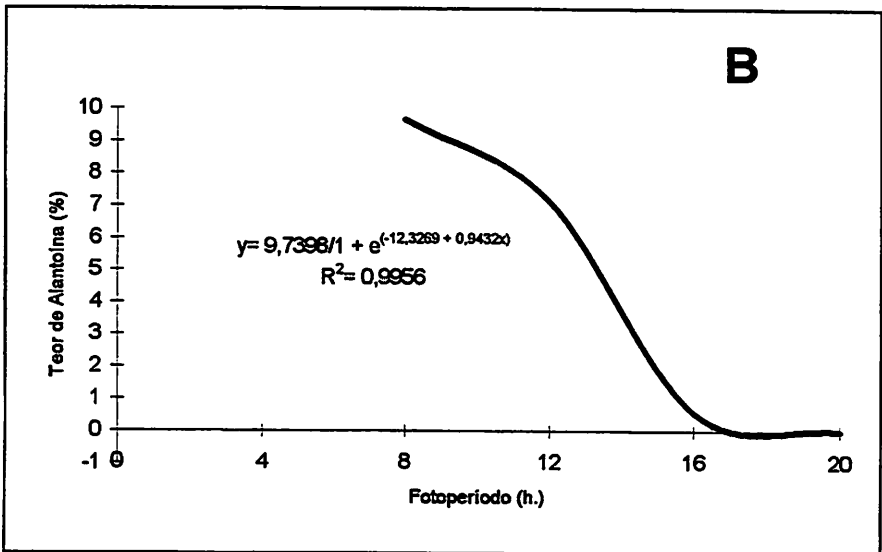
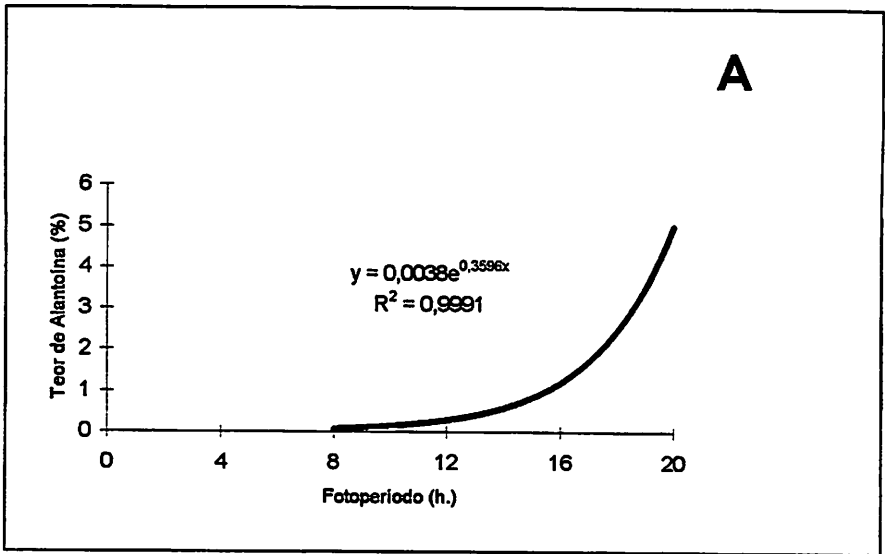


FIGURA 4: Efeito de diferentes fotoperíodos sobre o acúmulo de alantoina em plantas de confrei. A. Raízes; B. Rizomas. Instituto de Botânica. São Paulo, SP. 1999.

nos plastídeos e mitocôndrias. Dessa forma, o sítio de síntese dos ureídeos pode ser determinado examinando-se a atividade dessas enzimas nos diversos órgãos da planta.

Muito pouco é conhecido sobre a regulação das enzimas que atuam na rota biossintética dos ureídeos alantoína e ácido alantóico. Há, no entanto, alguma indicação de que a luz esteja envolvida direta e indiretamente na síntese dessas substâncias. Em *Phaseolus vulgaris*, os ureídeos se acumulam não apenas em tecidos verdes, mas também em raízes de plantas cultivadas na ausência de luz (Engelbrecht, 1955). Hartmann e Geissler (1973), sugerem que a degradação de purinas a alantoína envolve dois processos: um dependente de luz e o outro não. No escuro, a atividade da alantoicase é inibida (Hartmann e Arnold, 1974). Dessa forma o alantoato produzido pela degradação da alantoína, não é convertido em glioxilato e uréia, acumulando-se. Segundo Nguyen (1980), a atividade da xantina desidrogenase é diminuída em *Pharbitis nil*, quando submetida a um aumento nas condições de luz, presença de DCMU ou quando o CO₂ é removido do meio. O exato papel do aparato fotossintético no metabolismo de ureídeos é ainda obscuro e requer mais investigações.

Partindo-se do princípio de que as purinas são sintetizadas a partir de fotoassimilados (que fornecem esqueleto de carbono) e de produtos provenientes da fixação de nitrogênio, o efeito do fotoperíodo sobre a produção de alantoína pode ser relacionado aos conteúdos de AST e amido presentes nas plantas submetidas a esses tratamentos. Na FIGURA 5 verifica-se que em raízes, um conteúdo máximo de amido é observado em plantas submetidas a fotoperíodos de 8 horas, seguido de um acentuado decréscimo, a medida em que o fotoperíodo é aumentado até 20 horas. Uma relação inversa, no entanto, pode ser observada com relação aos conteúdos de AST, que aumentam em fotoperíodos crescentes.

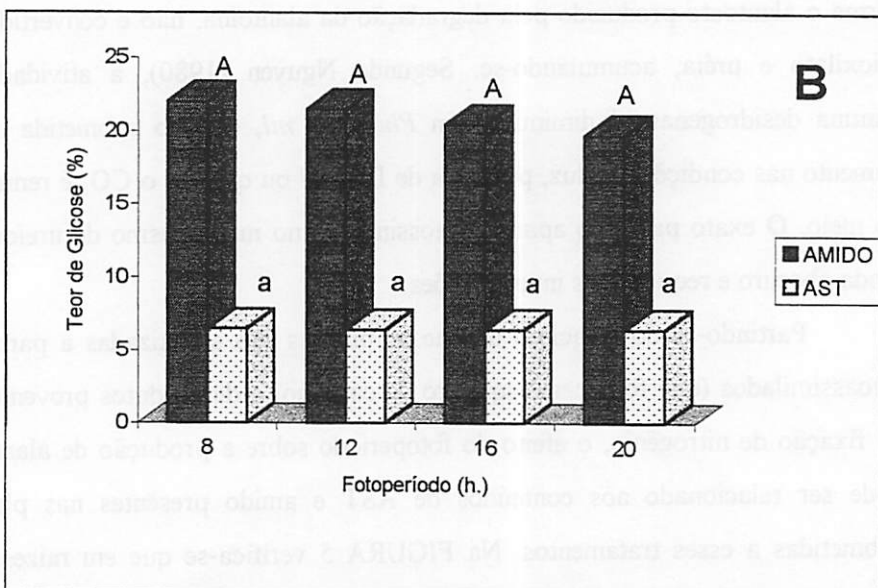
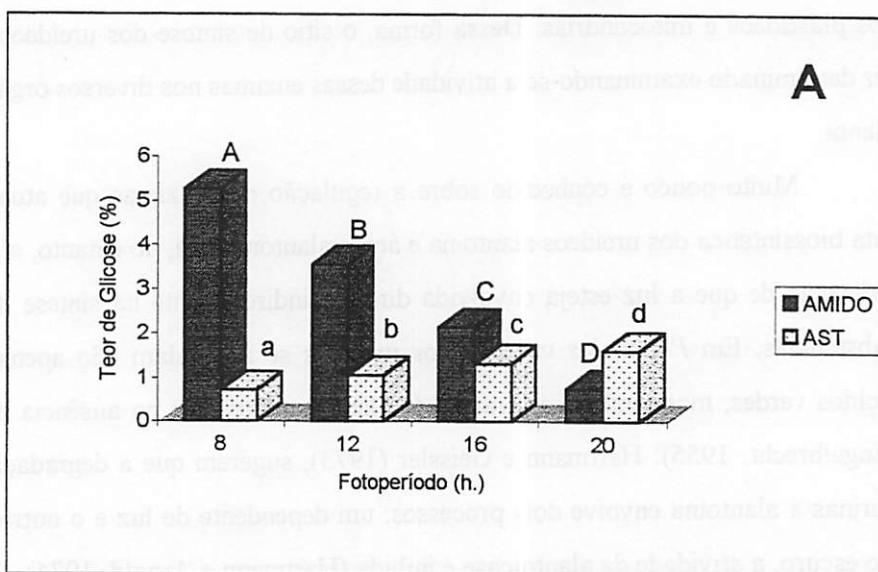


FIGURA 5: Teores de amido e açúcares solúveis totais (AST) em plantas de confrei, submetidas a diferentes fotoperíodos. A. Raízes; B. Rizomas. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. UFLA. Lavras, MG, 1999.

Estes resultados sugerem que os tratamentos fotoperiódicos influenciaram positivamente os teores de AST em raízes, possivelmente por estimularem a degradação do amido acumulado nesses órgãos. Um aumento nos teores de alantoína, pode estar associado a um aumento nos conteúdos de AST, que ao serem metabolizados possibilitam uma maior disponibilização de esqueletos de carbonos e substâncias precursoras para síntese desse ureídeo. Através desses resultados pode-se concluir que em confrei, as raízes correspondem, possivelmente, ao principal sítio de síntese de alantoína, concordando com os resultados obtidos por Reinbothe e Mothes (1962). Para Butler, Ferguson e Alisson (1961), nesta espécie, a enzima alantoinase apresenta uma baixa atividade em raízes, o que evidencia ainda mais um maior acúmulo de alantoína nesses órgãos (FIGURA 6). Contudo, tais resultados discordam dos obtidos por Engelbrecht (1955), Van der Drift e Vogels (1966) e Hartmann e Arnold (1974) que sugerem que a alantoína e mais comumente, o ácido alantóico acumulam-se na ausência de luz.

Não observou-se variação nos teores de amido e AST em rizomas (FIGURA 5), sendo esse resultado indicativo de que, apesar desses órgãos acumularem amido, este não é alocado neste local para a síntese de alantoína. Os resultados sugerem então que, a presença de alantoína em rizomas se deve à sua síntese em outros órgãos (como raízes e/ou folhas) e à sua translocação para rizomas. O decréscimo nos teores de alantoína nestes locais (FIGURA 7), ocorrido com o aumento do fotoperíodo é, possivelmente, um reflexo do aumento na atividade da enzima alantoinase pela luz, efeito este citado por Engelbrecht (1955), em trabalhos desenvolvidos com *Phaseolus vulgaris*.

Durante a determinação do conteúdo de alantoína por CLAE, as condições de extração e eluição empregadas possibilitaram a detecção de uma outra substância (pico 1), que não foi caracterizada neste trabalho, possivelmente

relacionada ao processo de biossíntese da alantoína. Foi observada uma queda em seus teores, a medida em que houve um aumento do fotoperíodo em raízes e rizomas. Acredita-se que essa substância seja possivelmente, uma precursora da rota biossintética da alantoína, que é intimamente afetada pela luz. Contudo, conclusões mais contundentes dependem de investigações mais detalhadas sobre a influência da luz, nos principais pontos de controle e regulação da rota de biossíntese da alantoína, bem como a identificação desse composto, posteriormente.

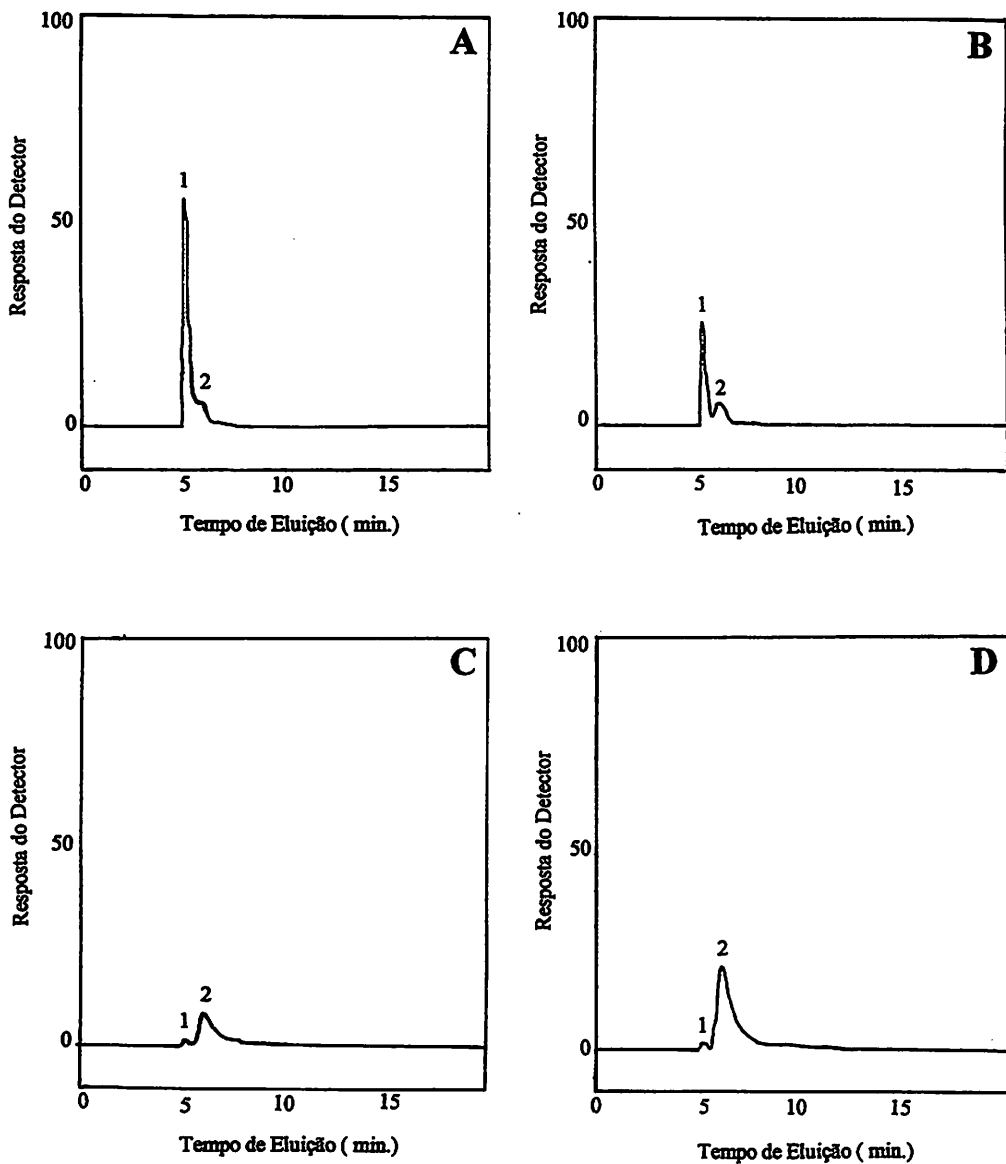


FIGURA 6: Cromatogramas representativos do efeito de diferentes fotoperíodos sobre os teores de alantoína em raízes de plantas de confrei. A. 8 h.; B. 12 h.; C. 16 h.; D. 20 h.; Pico 1= Substância não caracterizada; Pico 2= Alantoína. Instituto de Botânica. São Paulo, SP. 1999.

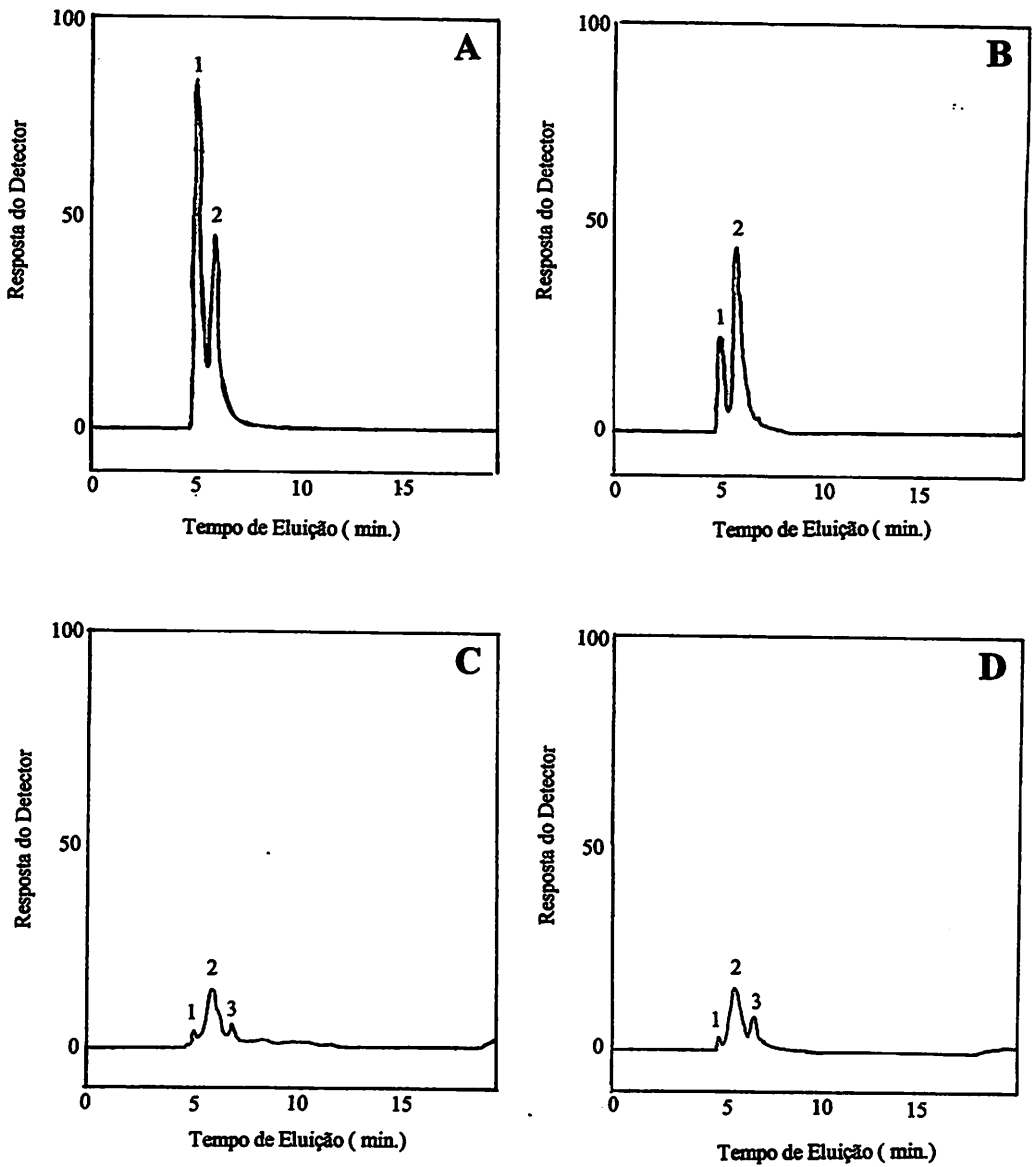


FIGURA 7: Cromatogramas representativos do efeito de diferentes fotoperíodos sobre os teores de alantóina em rizomas de plantas de confrei. A. 8 h.; B. 12 h.; C. 16 h.; D. 20 h. Pico 1 e 3= Substância não caracterizada; Pico 2= Alantóina. Instituto de Botânica. São Paulo, SP.1999.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que o este trabalho foi conduzido pôde-se concluir que:

1. O aumento no fotoperíodo promoveu um aumento no acúmulo de alantoína em raízes e uma diminuição nos seus teores em rizomas.
2. O incremento do fotoperíodo possibilitou um decréscimo no conteúdo de amido e um aumento nos teores de AST, em raízes, enquanto que em rizomas, os teores dessas substâncias permaneceram inalterados.
3. Em confrei, as raízes constituem os principais sítios produtores de alantoína.
4. A alantoína encontrada nos rizomas é proveniente de sua síntese nas raízes e posterior translocação para este órgão.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARÊAS, J.A.G.; LAJOLO, F.M. Determinação enzimática específica de amido, glicose, frutose e sacarose em bananas preclimatéricas e climatéricas. *Anais de Farmácia e Química de São Paulo*, São Paulo, v.20, n.1/2, p. 307-318, jan./dez. 1980.
- ASHIHARA, H.; YABUKI, N.; MITSUI, K.A. High-performance liquid chromatography method for separation of purine bases, nucleosides and ureides: application to studies on purine catabolism in higher plants. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 59-63, 1990.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of the association of official analytical chemists*. 11.ed. Washington, 1970. 1015 p.

- ATKINS, C.A.; SMITH, P.M.C.; STORER, P.J. Reexamination of the intracellular localization of the novo purine synthesis in cowpea nodules. *Plant Physiology*, Maryland, v. 113, n. 1, p. 127-135, Jan. 1997.
- BERNÁTH, J.; TÉTÉNYI, P. The effect of environmental factors on growth, development and alkaloid production of poppy (*Papaver somniferum* L.). I. Reponse to day-length and light intensity. *Biochemie und Physiologie Pflanzen*, Berlin, v. 174, p. 468-478, 1979.
- BORTHWICK, H.A.; PARKER, M.W. Photoperiodic perception in *Biloxi* soybean. *Botanical Gazzeta*, Chicago, v. 110, n. 1, p. 103-118, Mar./May 1938.
- BURBOTT, A.J. ; LOOMIS, W.D. Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. *Plant Physiology*, Maryland, v. 42, n. 1, p. 20-28, Jan. 1967.
- BUTLER, G.W.; FERGUSON, J.D.; ALLISON, R.M. The biosynthesis of allantoin in *Symphytum*. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 14, n. 3, p. 310-321, Mar. 1961.
- CHATTERJEE, S.K.; RAYCHADHURI, S.P. Cultivation and quality improvement of medicinal plants in West Bengal. **Recent advances in medicinal, aromatic and spice crops** (volume 2). In: INTERNATIONAL CONFERENCE HELD, 1989, New Delhi, India. CD-ROM. CAB Abstracts/1995.
- CHEN, X.B.; KYLE, D.J.; ORSKOV, E.R. Measurement of allantoin in urine and plasma by high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v. 617, p. 241-247, 1993.
- CLARK, R.J.; MENARY, R.C. Effects on photoperiod on the yield and composition of peppermint oil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Virginia, v. 104, n. 6, p. 699-702, Nov./Dez. 1979.
- DEMEYER, K.; VANHASTE, F.; VELDE, A. VAN; DEJAEGUE, R.; VAN de VELDE, H. de Introductory study for the optimization of growth and alkaloid production by cell cultures of *Datura stramonium* L. *Acta Horticulturae*, Leuven, BE, n. 306, p. 210-218, 1992.

- DÍEZ, M.T.; ARÍN, M. J.; RESINES, J. A. Simultaneous determination of allantoin and creatinine in urine by a rapid reversed-phase liquid-chromatographic method. **Journal of Liquid Chromatography**, New York, v. 15, n. 8, p. 1337-1350, 1992.
- DISCHE, Z. General color reaction. In: WHISTER, R. L.; WOLFRAM, M. L. (ed.). **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1962. p. 477-512.
- DUDAL, N.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; PALEVITCH, D.; HALEVY, A.H. Monoterpene content in *Origanum syriacum* as affect by environmental conditions and flowering. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 84, n. 4, p. 453-459, Apr. 1992.
- EITEMAN, M.A.; GORDILLO, R.M.; CABRERA, M.L. Analysis of oxonic acid, uric acid, creatine, allantoin, xanthine and hypoxanthine in poultry litter by reverse phase CLAE. **Fresenius' Journal Analytical Chemistry**, Berlin, v. 348, p. 680-683, 1994.
- ENGELBRECHT, L. Über allantoinsäure und allantoin. IV. Ihre beziehungen zu den säureamiden bei der keimung von *Phaseolus vulgaris* L. **Flora Oder Allgemeine Botanische Zeitung**, Jena, n. 142, p. 25-44, 1955.
- FAHLÉN, A.; WELANDER, M.; WENNERSTEN, R. Effects of light-temperature regimes on plant growth and essential oil yield of selected aromatic plants. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 73, n. 1, p. 111-119, Jan. 1997.
- FERREIRA, J.F.S. Developmental studies of *Artemisia annua*: flowering and artemisinin production under greenhouse and field conditions. **Planta Médica**, Stuttgart, v. 61, n. 2, p. 167-170, 1995.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468 p.
- HARTMANN, V.E.; ARNOLD, G. Über den ureidstoffwechsel beim laubmoosprotonema von *Funaria hygrometrica* L. (SIBTH.). III. Einfluß von licht und dunkelheit auf die aufnahme und den umsatz von allantoin-7-¹⁴C. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, Berlin, v. 166, p. 57-72, 1974.

- HARTMANN, V.E.; GEISSLER, G. Über den ureidstoffwechsel beim laubmoosprotonema von *Funaria hygrometrica* L. (SIBTH.). I. Der einfluß von verschiedenfarbigem licht. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, Berlin, v. 164, p. 614-622, 1973.
- JAZIRI, M.; SHIMOMURA, K.; YOSHIMATSU, K.; FALCONNIER, M.L.; MARLIER, M.; HOMES, J. Establishment of normal and transformed root cultures of *Artemisia annua* L. for artemisinin production. **Journal of Plant Physiology**, Kyoto, v. 145, n. 1-2, p. 175-177, Jan./Feb. 1995.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. P. 126-154.
- KACZMAREK, F.; WALICKA, A. Biological Instrument Roslin Leczniczych. 5: 89-96, 1959. In: **Chemical Abstracts** 54: 3606e.
- LOPES, L.M.; BOLZANI, V.S.; TREVISAN, L.M.V.; GRIGOLLI, T.M. Terpenes from *Aristolochia triangularis*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 660-662, Feb. 1990.
- MACHÁCKOVÁ, I.; KONSTANTINOVA, T.N.; SERGEEVA, L.; LOZHNIKOVA, V.N.; GOLYANOVSKAYA, S.A.; DUDKO, N.D.; EDER, J.; AKSENOVA, N. P. Photoperiodic control of growth, development and phytohormone balance in *Solanum tuberosum*. **Physiologia Plantarum**, v. 102, n. 2, p. 272-278, Feb. 1998.
- MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 2. ed. Fortaleza: UFC, 1994. 180 p.
- MATSUMOTO, T.; YATAZAWA, M.; YAMAMOTO, Y. Distribution and change in the contents of allantoin and allantoinic acid in developing nodulating and non-nodulating soybeans plants. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 18, p. 353-359, June/July 1977.
- NGUYEN, J.; CORNIC, G.; IMHOFF, C.; LOUASSON, G. Effect of carbon dioxide, oxygen and dichlorophenildimethylurea on the light-sensitive activity of xanthine dehydrogenase in cotyledons of *Pharbitis nil*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 58, n. 10, p. 1160-1164, May 1980.

- POLAYES, D.A.; SCHUBERT, K.R. Purine synthesis and catabolism in soybean seedlings. The biogenesis of ureides (Allantoin and allantoic acid). **Plant Physiology**, Maryland, v. 75, n. 4, p. 1104-1110, Aug. 1984.
- REINBHOTE, H.; MOTHES, K. Urea, ureides and guanidines in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, California, v. 13, p. 129-150, Jan./Dec. 1962.
- RESINES, J.A.; ARÍN, M.J.; DÍEZ, M.T. Determination of creatinine and purine derivatives in ruminant's urine by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 607, p. 199-202, 1992.
- RODIONOVA, M.A.; LAPA, I.K.; KASHINA, T.K.; SHUVALOVA, N.P. Effect of photoperiod on the content and metabolism of phenolic compounds in *Perilla ocymoides*. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscou, v. 42, n. 6, p. 746-751, 1995.
- SAITO, M.L.; OLIVEIRA, F. de Características físicas e químicas do extrato fluido de *Cordia ecalyculata* Vell. - Boraginaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 3-11, jan./jun. 1986.
- SANTOS, C.A. DE M.; TORRES, K.R.; LEONART, R. **Plantas medicinais: herbarium, flora et scientia**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1988. 160 p.
- SIMÕES, C.M.O. et al. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 4. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade, 1995. 173 p.
- SINDEN, S.L.; SCHALK, J.M.; STONER, A.K. Effects of day-length and maturity of tomato plants on tomatine content and resistance to the Colorado Potato Beetle. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Virginia, v. 103, n. 6, p. 596-600, Nov/Dec. 1978.
- SOUSA, M.P. et al. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: UFC, 1991. 416 p.
- SUCHORSKA, K.; JEDRASZKO, B.; OLSZEWSKA KAEZYNSKA, I. Influence of daylength on the content and composition of the essential oil from tarragon (*Artemisia dracunculus f. dracunculus*). **Annals of Warsaw Agricultural University**, Warsaw, n. 16, p. 79-82, 1992.

- TERZUOLI, L.; AREZZINI, L.; PANDOLFI, Separation and determination of liver uric acid and allantoin. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 663, p. 143-147, 1995.
- TERZUOLI, L.; PIZZICHINI, M.; AREZZINI, L.; PANDOLFI, M.L.; MARINELLO, E.; PAGANI, R. Separation and determination of allantoin, uric acid, hydantoin and urea. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 684, p. 350-353, 1994.
- THE MERCK INDEX: an encyclopedia of chemicals and drugs. 12.ed. Published by Merck e Co, In. Rahway: New Jersey, 1996. 2467 p.
- THOMAS, B.; VINCE-PRUE, D. **Photoperiodism in plants**. 2.ed. Califórnia: Academic Press, 1997. 428 p.
- THOMAS, R.J.; SCHRADER, L.E. Ureide metabolism in higher plants. **Phytochemistry**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 361- 371, 1981.
- VAN DER DRIFT, C.; VOGELS, G.D. Allantoin and allantoate in higher plants. **Acta Botanica Neerlandica**, Finlândia, v. 15, n. 2, p. 209-214, 1966.
- VINCENZI, M. de; MAIALETTI, F. Monographs on botanical flavouring substances used in foods. Part III. **Fitoterapia**, Milano, v. 115, n. 1, p. 49-58, 1992.
- VOIRIN, B.; SAUNOIS, A.; BAYET, C. Free flavonoid aglycones from *Mentha piperita*: developmental, chemotaxonomical and physiological aspects. **Biochemical Systematics and Ecology**, Elmsford, v. 22, n. 1, p. 95-99, 1994.
- YOUNG, E.G.; CONWAY, C.F. On the estimation of allantoin by the Rimini-Schyver reaction. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 142, p. 839-853, 1942.
- ZEEVAART, J.A.D.; GAGE, D.A. ent-Kaurene biosynthesis is enhanced by long photoperiods in the long-day plants *Spinach oleracea* L. and *Agrostemma githago* L. **Plant Physiology**, Maryland, v. 101, n. 1, p. 25-29, Jan. 1993.

ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Resumo da análise da terra de subsolo utilizada no preparo do substrato e montagem dos vasos durante a condução dos experimentos. Departamento de Ciência do Solo. UFLA. Lavras, MG, 1998.	116
TABELA 2A	Dados da temperatura, insolação e umidade relativa mensais e precipitação diária máxima, nos meses de março, abril, julho e agosto de 1998. Setor de Meteorologia . UFLA. Lavras, MG, 1998.	117
TABELA 3A	Solução nutritiva de Johanson et al., modificada. UFLA. Lavras, MG, 1998.	118
TABELA 4A	Resumo da análise de variância para os valores de peso de matéria seca total de plantas de confrei. Dados não transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.	119
TABELA 5A	Resumo das análises de variância para os valores do peso de matéria seca do limbo foliar (MS LF), pecíolo (MS Pe), raiz (MS Ra) e rizoma (MS Ri). Valores não transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.	119

- TABELA 6A** **Resumo das análises de variância para os pesos de** **120**
matéria seca total, lâminas foliares, pecíolos, rizomas
e raízes em plantas de confrei. Dados não
transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.
- TABELA 7A** **Resumo das análises de variância para os valores da** **120**
área foliar em plantas de confrei submetidas a
diferentes fotoperíodos. Dados não transformados.
UFLA, Lavras, MG, 1998.
- TABELA 8A** **Resumo das análises de variância para os valores de** **121**
RAF, RPF e AFE em plantas de confrei submetidas a
diferentes fotoperíodos. Dados não transformados.
UFLA, Lavras, MG, 1998.
- TABELA 9A** **Resumo das análises de variância para os valores dos** **121**
conteúdos de clorofilas a, b, total e relação clorofila
a:b, em plantas de confrei submetidas a diferentes
fotoperíodos. Dados não transformados. UFLA,
Lavras, MG, 1998.
- TABELA 10A** **Resumo da análise de variância para os teores de** **122**
alantoína em raízes de plantas de confrei. Dados não
transformados. UFLA. Lavras, MG, 1999.

TABELA 11A Resumo da análise de variância para os teores de 122
alantoína em rizomas de plantas de confrei. Dados não
transformados. UFLA. Lavras, MG,1999.

TABELA 12A Resumo da análise de variância para os teores de AST 123
e amido em raízes e rizomas de plantas de confrei.
Dados não transformados. UFLA. Lavras, MG,1999.

TABELA 1A: Resumo da análise mineral da terra de subsolo utilizada no preparo do substrato e montagem dos vasos durante a condução dos experimentos. Departamento de Ciência do Solo. UFLA. Lavras, MG, 1998.

DETERMINAÇÕES		
Descrição	Unidade	Amostra
Alumínio	cmolc/dm ³	0,0
Cálcio	cmolc/dm ³	3,9
Magnésio	cmolc/dm ³	0,7
Potássio	mg/dm ³	19,0
Fósforo	mg/dm ³	2,0
pH em H ₂ O 1:2,5		6,4
H + Al	cmolc/dm ³	1,7
Soma de Bases	cmolc/dm ³	4,6
CTC efetiva	cmolc/dm ³	4,6
CTC a pH 7,0	cmolc/dm ³	6,3
Sat. Al	%	0,0
Sat. Bases	%	73,0
Enxofre	mg/dm ³	20,59
Boro	mg/dm ³	0,42
Cobre	mg/dm ³	0,6
Ferro	mg/dm ³	22,0
Manganês	mg/dm ³	1,5
Zinco	mg/dm ³	1,0
Carbono	dag/kg	1,08
Matéria Orgânica	dag/kg	1,86
Ca/T	mg/dm ³	61,9
Mg/T	%	11,1
K/T	%	0,8
K/Mg	%	5,6
Ca/K	%	80,1
Mg/K	%	14,4

TABELA 2A: Dados da temperatura, insolação e umidade relativa mensais e precipitação diária máxima, nos meses de março, abril, julho e agosto de 1998. Setor de Meteorologia . UFLA. Lavras, MG, 1998.

Mês	Temperatura média (°C)	Precipitação Diária Máxima (mm)	Insolação (h.)		Umidade Relativa Média (%)
			Min.	Máx.	
Março	22,6	394	2,1	11,1	77
Abril	20,3	16,2	0,0	2,4	74
Julho	16,8	0,0	4,6	9,7	65
Agosto	19,8	19,4	1,2	10,2	68

TABELA 3A : Solução nutritiva de Johansen (1940) modificada. UFLA. Lavras, MG, 1998.

SAIS	CONC.	ml/l	N (224 ppm)	P (62 ppm)	K (235 ppm)	Ca (160 ppm)	Mg (24 ppm)	S (32 ppm)
KNO ₃	1 M	6,0	84	-	235	-	-	-
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	1 M	4,0	112	-	-	160	-	-
NH ₄ H ₂ PO ₄	1 M	2,0	28	62	-	-	-	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 M	1,0	-	-	-	-	24	32
KCl	50,0 mM	1,0	<u>Micronutrientes (ppm)</u>					
H ₃ BO ₃	25,0 mM	1,0	Cl - 1,77					
MnSO ₄ . H ₂ O	2,0 mM	1,0	B - 0,27					
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	2,0 mM	1,0	Mn - 0,11					
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,5 mM	1,0	Zn - 0,131					
H ₂ MoO ₄ (85% MoO ₃)	0,5 mM	1,0	Cu - 0,032					
Fe-EDTA	20,0 mM	1,0	Mo - 0,050					
			Fe - 1,120					

TABELA 4A: Resumo da análise de variância para os valores de peso de matéria seca total de plantas de confrei. Dados não transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.

C. V.	QUADRADO MÉDIO	
	G. L.	Peso de M. S. Total
Bloco	2	13,20
Concentração (C)	4	34,42
Tempo (T)	2	20,05
Inter. (C x T)	8	21,85
Resíduo	28	16,75
TOTAL	44	

CV= 17,72%

TABELA 5A: Resumo das análises de variâncias para os valores do peso de matéria seca do limbo foliar (MS LF), pecíolo (MS Pe), raiz (MS Ra) e rizoma (MS Ri). Valores não transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.

C.V.	G.L.	QUADRADO MÉDIO			
		MS LF	MS Pe	MS Ra	MS Ri
Blocos	2	3,46	0,38	0,79	4,05
CONCENTRAÇÃO (C)	(4)	7,93	0,31	(12,24 [*])	(16,38 [*])
Modelo	1	-	-	47,95 [*]	61,92 [*]
Desvio do Modelo	3	-	-	0,34	1,20
TEMPO (T)	2	10,03	0,01	1,90	1,04
Int. (CxT)	8	11,94	0,33	4,01	0,83
Resíduo	28	6,70	0,21	2,28	2,80
Total	44				
CV (%)		33,19	27,67	26,42	21,22

TABELA 6A: Resumo das análises de variância para os pesos de matéria seca total, lâminas foliares, pecíolos, rizomas e raízes em plantas de confrei. Dados não transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO				
		Total	L.Foliar	Pecíolo	Rizoma	Raiz
Fotoperíodo	3	4254,07**	369,70**	70,03**	512,69**	318,19**
Modelo	(1)	12422,29**	1067,70**	196,85**	1328,18*	870,58**
Desvio do Modelo	(2)	169,95	20,71	6,62	104,95	6,499
Resíduo	32	214,82	14,70	1,44	110,85	3,50
CV (%)		26,01	23,23	34,72	37,16	23,87

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste de F.

TABELA 7A: Resumo das análises de variâncias para os valores da área foliar em plantas de confrei submetidas a diferentes fotoperíodos. Dados não transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO
		ÁREA FOLIAR
Fotoperíodo	3	384,09**
Modelo Linear	(1)	1364,16**
Modelo Quadrático	(1)	959,96**
Desvio do Modelo	(1)	55,88
Resíduo	32	73,38
CV (%)		22,08%

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste de F.

TABELA 8A: Resumo das análises de variâncias para os valores de RAF, RPF e AFE em plantas de confei submetidas a diferentes fotoperíodos. Dados não transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO		
		RAF	RPF	AFE
Fotoperíodo	3	0,76**	0,01	6,69**
Modelo Linear	(1)	2,66**	-	19,76**
Desvio do Modelo	(2)	0,01	-	0,16
Resíduo	32	0,07	0,01	0,24
CV (%)		35,21	20,27	18,69

- Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste de F.

TABELA 9A: Resumo das análises de variâncias para os valores dos conteúdos de clorofilas a, b, total e relação clorofila a:b, em plantas de confei submetidas a diferentes fotoperíodos. Dados não transformados. UFLA, Lavras, MG, 1998.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO			
		a	b	Total	a:b
Fotoperíodo	3	254,81**	53,47**	43,87**	0,12
Modelo Linear	(1)	745,57**	155,67**	1265,37**	-
Desvio do Modelo	(2)	9,43	2,37	15,11	-
Resíduo	32	5,45	7,17	29,82	0,21
CV (%)		18,83	15,95	19,54	16,85

- Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste de F.

TABELA 10 A: Resumo da análise de variância para os teores de alantoína em raízes de plantas de confrei. Dados não transformados. UFLA. Lavras, MG,1999.

C. V.	G. L.	QUADRADO MÉDIO
Fotoperíodo	(3)	14,33**
Modelo	2	21,50**
Desvios do Modelo	1	0,01
Resíduo	8	0,08
TOTAL	11	

CV= 17,94%

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

TABELA 11 A: Resumo da análise de variância para os teores de alantoína em rizomas de plantas de confrei. Dados não transformados. UFLA. Lavras, MG,1999.

C. V.	G. L.	QUADRADO MÉDIO
Fotoperíodo	3	144,54**
Modelo	3	48,18
Desvios do Modelo	1	0,81
Resíduo	8	0,32
TOTAL	11	

CV= 12,77%

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

TABELA 12 A: Resumo da análise de variância para os teores de AST e amido em raízes e rizomas de plantas de confrei. Dados não transformados. UFLA. Lavras, MG,1999.

C.V.	G.L.	QUADRADO MÉDIO			
		AST Ra	AST Ri	Amido Ra	Amido Ri
Fotoperíodo	3	0,44**	0,01**	13,57	19,20
Resíduo	8	0,01	0,01	0,05	19,47
Total	11				
CV (%)		2,31	5,75	8,13	7,23

(*) significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de F.

FIGURA 1B	Efeito de diferentes fotoperíodos sobre o conteúdo de:	125
	A. Clorofila a e b; B. Clorofila total. UFLA. Lavras,	
	MG, 1998.	

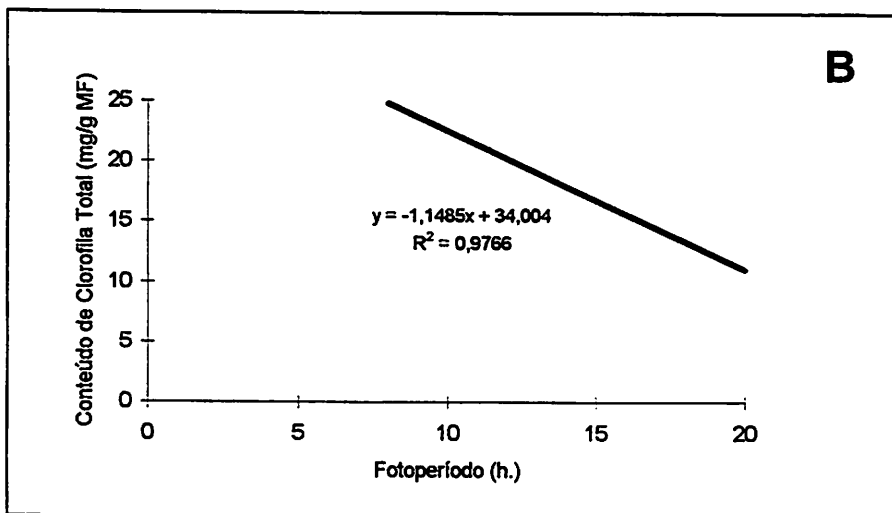
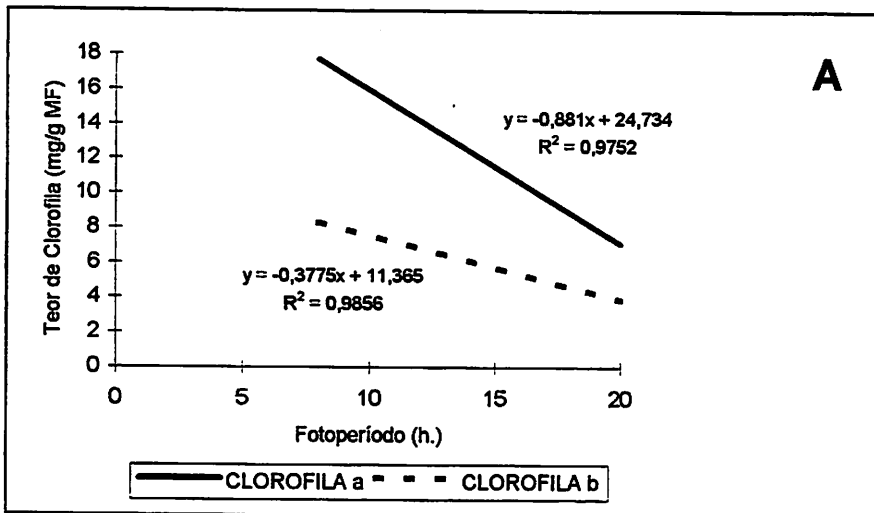


FIGURA 1 B: Efeito de diferentes fotoperíodos sobre o conteúdo de : A. Clorofila a e b; B. Clorofila total. UFLA. Lavras, MG, 1998.