

# CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL DE RESERVA EM FEIJÃO-GUANDU, LABLABE E MUCUNA <sup>(1)</sup>

MARIA SILVIA SENO <sup>(2,3)</sup>, LAURECIR GOMES <sup>(2)</sup> e ANGELO LUIZ CORTELAZZO <sup>(2)</sup>

## RESUMO

Com o intuito de caracterizar, em nível citoquímico, as principais reservas presentes em guandu, lablabe e mucuna, sementes foram fixadas e processadas para a microscopia, utilizando-se tanto métodos gerais como específicos para proteínas, lipídios, polissacarídeos neutros e ácidos, procedendo-se, à dosagem e à caracterização dessas reservas nas sementes. O amido revelou-se como principal material, seguido por proteínas e, em menor grau, por lipídios. O conteúdo de amido foi de 55% da matéria seca (MS) para guandu, 53% para lablabe e 40% para mucuna. As proteínas foram mais abundantes em lablabe, com 26% da MS, seguindo-se o guandu (19%) e a mucuna (17%). Lipídios representaram menos de 2% da MS dessas sementes, com uma quantidade maior em mucuna do que nas demais espécies. As análises dos açúcares neutros presentes indicaram grande conteúdo de glicose em função do amido e quantidade apreciável de galactose e arabinose, sempre em maior quantidade em mucuna. Os perfis eletroforéticos revelaram semelhança maior entre as proteínas de guandu e lablabe, sugerindo maior proximidade filogenética entre tais espécies. As proteínas mais abundantes apresentaram massa molecular relativa entre 65 e 70 kg/mol.

**Termos de indexação:** leguminosas, sementes, *Cajanus cajan*, *Lab-lab purpureum*, *Mucuna aterrima*, reservas.

## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF THE STORAGE MATERIAL IN GUANDU, LAB-LAB AND MUCUNA

For the cytochemical characterization of the storage material present in guandu, lab-lab and mucuna, seeds of each species were fixed and prepared for microscopy. Routine and specific fixation methods for proteins, lipids, neutral and acidic polysaccharides were used. The main reserves of the seeds were also analysed and

---

<sup>(1)</sup> Parte da Tese de Mestrado de Maria Silvia Seno. Recebido para publicação em 16 de junho de 1995 e aceito em 31 de janeiro de 1996.

<sup>(2)</sup> Departamento de Biologia Celular, Instituto de Biologia (IB), UNICAMP, Caixa Postal 6109, 13083-970 Campinas (SP).

<sup>(3)</sup> Bolsista do CNPq.

characterized. The results showed that starch is the principal reserve, with proteins surrounding the starch grains, as well as a few lipid globules. The starch concentration was 55% of the dry weight (DW) for guandu, 53% for lab-lab and 40% for mucuna. The proteins were more abundant in lab-lab, with 26% DW, while guandu and mucuna had respectively 19% and 17%. Lipids represented up to 2% of the total DW of the three species with mucuna presenting the largest quantity. The analyses of neutral saccharides showed a large amount of glucose due to the starch reserve, but also appreciable quantities of galactose and arabinose, which always occurred in greater quantities in mucuna. Electrophoretic patterns for proteins of guandu and lab-lab were quite similar, suggesting a phylogenetic proximity between these species. The principal proteins had a molecular relative mass between 65 to 70 kg/mol.

**Index terms:** leguminous, seeds, *Cajanus cajan*, *Lab-lab purpureum*, *Mucuna aterrima*, storage.

## 1. INTRODUÇÃO

Cultiva-se o guandu, uma leguminosa exótica, perene e arbustiva, com a finalidade principal de utilizar as sementes na alimentação humana. Não obstante, as sementes, isoladas ou em vagens, podem ser reduzidas a farinha, constituindo excelente alimento para o gado. A folhagem pode ser aproveitada tanto na alimentação animal, na forma de feno, como em silos. O guandu é, ainda, empregado como adubo verde (Menegario, 1966).

O lablabe, originário da Índia, é uma planta herbácea perene, cultivada, porém, como anual. O feijão é consumido com ou sem casca em várias partes daquele país. Além de ótimo adubo verde, apresenta-se como boa forrageira para a bovinocultura (Lovandini, 1972). Deka & Sarkar (1990) realizaram a análise de vários cultivares de lablabe quanto à composição nutricional e antinutricional, concluindo que as sementes podem ser muito proveitosas como fonte de alimento. Embora haja alta concentração de fatores antinutricionais em todos os cultivares, como inibidores de tripsina, por exemplo (Sgarbieri, 1980), não há problema se o feijão for devidamente processado, o que ocorre com um cozimento prolongado. As sementes de lablabe podem ser usadas amplamente como fontes de alimento para o gado, melhorando a qualidade da produção e a riqueza em proteínas e carboidratos.

A mucuna, também chamada de feijão-veludo por serem seus ramos e frutos cobertos de pêlos aveludados, é uma das leguminosas mais vigorosas com cipós de 6-8 m de comprimento. Originária das Antilhas, a mucuna, planta anual e exótica, é

utilizada como forrageira, tanto verde como fenada, pela sua excelente composição química, facilidade de cultura e perfeita aceitação pelo gado. As sementes e vagens moídas constituem ótimo alimento concentrado, rico em material nitrogenado e carboidratos. Nas folhas, reside a maior parte dos princípios alimentícios com a mais elevada digestibilidade. Também é uma das leguminosas mais utilizadas para adubação verde e silos, pela grande quantidade de matéria orgânica que produz (Menegario, 1966).

Dada a importância dessas espécies na alimentação, adubação e forragem, a maior parte das pesquisas aborda tais aspectos, economicamente importantes, sendo muito restritos os dados sobre a localização e a caracterização de suas reservas. Assim, o presente trabalho teve por objetivo caracterizar, em nível citoquímico e bioquímico, as principais reservas dos cotilédones de guandu, lablabe e mucuna.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se sementes de *Cajanus cajan* L. Mill. SP cultivar Fava larga (guandu); *Lab-lab purpureum* L. Sweet. - cultivar IAC-697 (lablabe) e *Mucuna aterrima* - cultivar IAC preta (mucuna-preta), obtidas na Seção de Sementes do Instituto Agrônomo, Campinas (SP).

**Caracterização *in situ* das reservas** - Após a separação dos tegumentos, fixaram-se os cotilédones em cada uma das seguintes soluções: (a) paraformaldeído 4% e glutaraldeído 2,5% em tampão

fosfato 0,1 mol/L e pH 7,4 durante 48 horas a 5°C; (b) etanol 100% 3V e ácido acético glacial 1V durante trinta minutos à temperatura ambiente; (c) formol 10% durante 48 horas a 5°C e lavagem em água corrente durante 24 horas (Cortelazzo & Vidal, 1991).

O material fixado nas soluções **a** e **b**, após permanecer em ácido fluorídrico durante 72 horas, foi lavado em água corrente durante 24 horas, desidratado em soluções de etanol com concentrações crescentes (70 a 100%), diafanizado em xilol durante trinta minutos e incluído em parafina. Em seguida, realizaram-se cortes longitudinais ou transversais com 8 µm de espessura, seguindo-se desparafinização e reidratação (Maia, 1979).

Os cortes foram corados com solução de safranina e azul-de-astra (AAs) para uma visualização geral, segundo Johansen (1940); com azul-de-toluidina a pH 4 (AT) para radicais aniônicos totais (Vidal, 1977); com azul-de-alcian (AA) para polissacarídeos ácidos (Mello & Vidal, 1980); pelo método do PAS para polissacarídeos neutros (Lison, 1960); com "xylydine ponceau" (XP) para radicais catiônicos totais (Cortelazzo & Vidal, 1991) e com ferricianeto férrico para radicais redutores (Lison, 1960). Após os métodos de coloração, as lâminas permaneceram em xilol para a diafanização do material, sendo, a seguir, montadas com bálsamo-do-canadá.

O material fixado na solução **c** foi cortado em micrótomo de congelção com 20 µm de espessura e corado com "Sudan black" (SB) para a observação de material hidrofóbico, segundo Maia (1979).

**Extração e dosagem das reservas** - Realizaram-se, em triplicata, a partir de 0,5 g de farinha obtida após moagem dos cotilédones das três espécies estudadas.

Para a extração de lipídios e açúcares livres, colocou-se o material em 10 ml de metanol, clorofórmio e água (MCA) 12:5:3 v/v/v, submetendo-o a três centrifugações de 12.000 xg durante dez minutos. Para cada quatro volumes de sobrenadante, acrescentou-se um volume de metanol e 1,5 de água destilada. Depositaram-se as soluções em funil de decantação por 48 horas. Logo após, recolheram-se

as fases superiores, submetendo-as a dosagens de açúcares livres; as inferiores foram coletadas, os solventes evaporados e o resíduo, pesado para a obtenção da quantidade de lipídios.

Os precipitados foram solubilizados com ácido tricloroacético (TCA) 10% e centrifugados duas vezes nas mesmas condições. Os sobrenadantes foram utilizados para as dosagens dos polissacarídeos solúveis (PS) e os precipitados, solubilizados em ácido perclórico 30% (PCA) e centrifugados quatro vezes a 27.000 xg durante quinze minutos. Com os sobrenadantes, realizaram-se as dosagens de amido, segundo o método da antrona (McCready et al., 1950).

Efetuarão-se extrações com MCA nas mesmas condições, deixando-se os precipitados obtidos em 10 ml de NaOH 0,1 mol/L durante dezesseis horas a 4°C, centrifugando-os a 27.000 xg durante quinze minutos. Aos sobrenadantes obtidos, adicionou-se PCA para uma concentração final de 5%, seguindo-se incubação por uma hora a 4°C. Após esse período, foram mantidos durante dez minutos a 90°C e centrifugados. Os precipitados foram solubilizados em NaOH 0,1 mol/L e submetidos à dosagem de proteínas, segundo método de Bradford (1976).

Para o material protéico obtido, realizaram-se eletroforeses em gel de poliacrilamida 12,5% com SDS, segundo Zingales (1984), preparando-se as amostras com ou sem tampão redutor (tampão Tris-HCl 62 mmol/L em pH 6,8 com ou sem 2 mercaptoetanol (Me) 0,2%). Para cada placa, aplicaram-se 15 mA durante duas horas. Utilizaram-se padrões de massa molecular (Pharmacia Fine Chemicals-Uppsala, Sweden), efetuando-se a coloração pelo Coomassie blue R-250 0,2% em ácido acético 10% e metanol 50% durante noventa minutos.

A dosagem de açúcares neutros totais deu-se a partir das farinhas dos cotilédones das três espécies, após a hidrólise com ácido sulfúrico 72% durante dezesseis horas, redução em boroidreto de sódio e preparação dos acetatos de alditol correspondentes. O material foi, então, dissolvido em clorofórmio e injetado em cromatógrafo a gás (Joseleau & Chambat, 1984).

### 3. RESULTADOS

Os resultados das diversas colorações encontram-se no quadro 1. As paredes celulares foram coradas pelo AAs, como método geral, pelo AT e AA em função dos polissacarídeos ácidos presentes, e também pelo método do PAS em vista dos polissacarídeos neutros. Todas as espécies apresentaram grande conteúdo de amido, evidenciado pelo método do PAS.

As células parenquimáticas dos cotilédones de guandu revelaram-se maiores do que as de lablabe e mucuna. Em feijão-guandu e mucuna, os grãos de amido apresentaram-se maiores do que em lablabe. Entretanto, a quantidade desses grânulos por célula foi maior em lablabe (Figuras 1-3).

As três espécies apresentaram um conteúdo protéico bastante corado pelo XP, disperso por todo o citoplasma das células analisadas (Figuras 1-3). A coloração com SB foi mais intensa em mucuna. O material hidrofóbico se apresentou disperso por todo o citoplasma das células, como os corpos protéicos. Pôde-se notar em mucuna maior concentração do corante na região periférica desses corpos (Figuras 4-6).

A principal reserva das sementes analisadas foi o amido, seguido de proteínas. Em guandu, o amido apresentou os maiores valores, atingindo mais de 50% da sua massa seca (MS); em mucuna, os menores valores (40%). Os níveis de polissacarídeos solúveis em água e açúcares livres foram baixos em todas as espécies analisadas (Quadro 2).

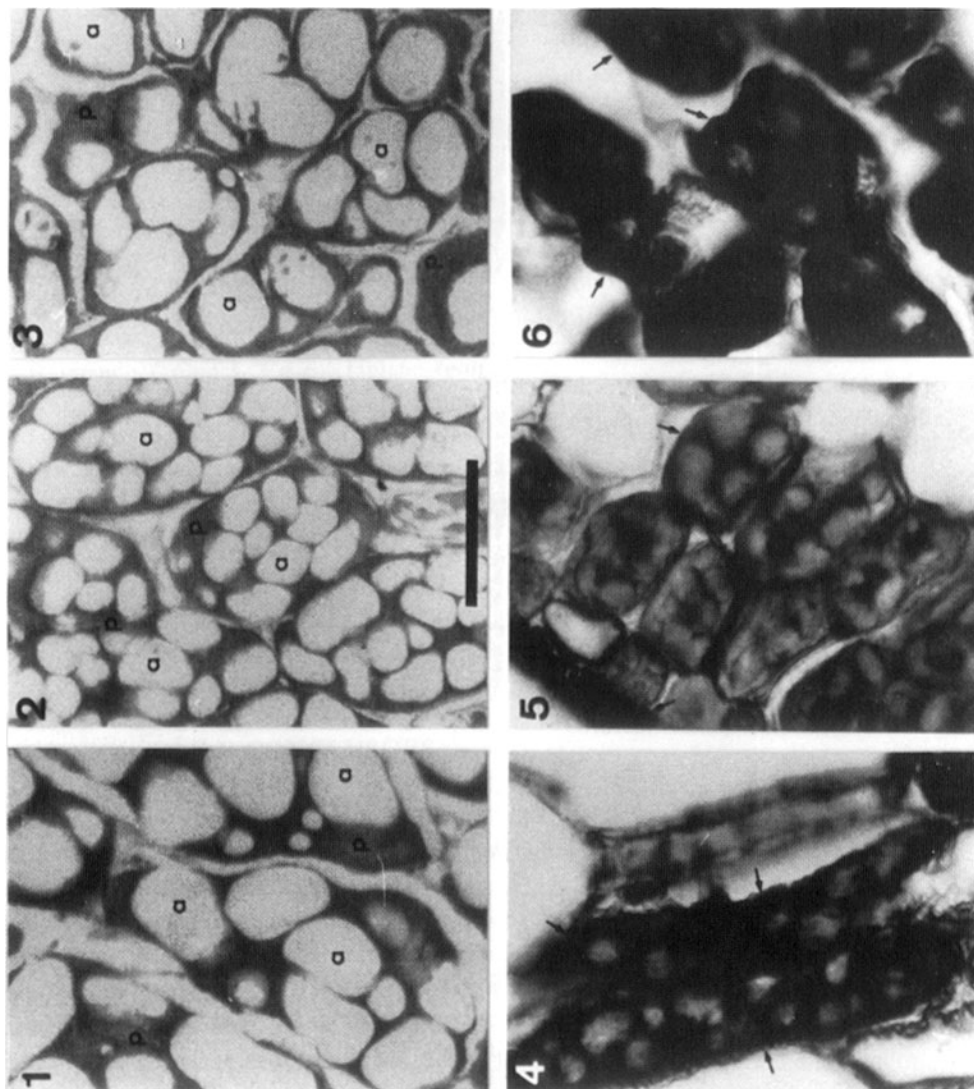
Nas determinações de proteínas, obtiveram-se valores semelhantes para guandu e mucuna - 19,1 e 17,4% da MS respectivamente. Em lablabe, os valores representaram cerca de 26% da MS dos cotilédones. Detectaram-se lipídios em pequenas quantidades e, em termos dessa reserva, a mucuna apresentou 1,8%, enquanto guandu e lablabe, 1,4% da MS (Quadro 2).

Observou-se, pelo método SDS-PAGE, grande população de proteínas nas três espécies, estando, as mais proeminentes, entre 100 e 50 kg/mol (Figura 7). Em guandu, evidenciaram-se as proteínas de 100 e 66 kg/mol (colunas 2 e 6), podendo-se observar várias acima de 120 kg/mol, sem o agente redutor (coluna 6) e quatro, entre 50 e 19 kg/mol (coluna 2). Uma proteína de 116,5 kg/mol apareceu somente em guandu. Em lablabe predominaram as proteínas de 45 kg/mol (colunas 3 e 7), 92 e 68 kg/mol.

Quadro 1. Métodos de coloração utilizados e estruturas coradas nos cotilédones de guandu, lablabe e mucuna

Estrutura	Guandu ( <sup>1</sup> )	Lablabe ( <sup>1</sup> )	Mucuna ( <sup>1</sup> )
<b>Paredes celulares</b>	AAs:+++	AAs:+++	AAs:+++
Açúcares ácidos	AT:+	AT:+	AT:+
	AA:+	AA:++	AA:+
Açúcares neutros	PAS:+++	PAS:+++	PAS:+++
<b>Citoplasma</b>	S:+++	S:+++	S:+++
Corpos protéicos	XP:+++	XP:+++	XP:+++
	PAS:+	PAS:+	PAS:+++
	AT:-	AT:-	AT:-
Grãos de amido	PAS:+++	PAS:+++	PAS:+++
	AT:p+	AT:p+	AT:p+
	SB:p+	SB:p+	SB:p+
Lipídios	SB:+	SB:+	SB:+++

(<sup>1</sup>) AAs: azul-de-astria; AT: azul-de-toluidina em pH 4,0; AA: azul-de-alcian em pH 1,0 e 2,5; PAS: método do PAS (ácido periódico, reativo de Schiff); S: safranina; XP: "xylydine ponceau" em pH 2,5; SB: "Sudan black". Símbolos: -: não corado; +: pouco corado; ++: corado; +++: intensamente corado; p+: região próxima à periferia do grão, levemente corada.



**Figuras 1-6.** Cortes transversais de cotilédones de guandu, lablabe e mucuna. Barra = 50  $\mu$ m. **Figuras 1-3.** Cortes corados pelo "xylydine ponceau" em pH 2,5. Nota-se o material protéico corado (p), ao redor dos grãos de amido (a), que têm resposta negativa ao corante. **Figura 1.** Guandu. **Figura 2.** Lablabe; **Figura 3.** Mucuna. As imagens sugerem menor tamanho e maior quantidade de grãos em lablabe. **Figuras 4-6.** Cortes corados pelo "Sudan black". O material lipídico ( $\uparrow$ ) se encontra distribuído por todo o citoplasma. **Figura 4.** Guandu; **Figura 5.** Lablabe; **Figura 6.** Mucuna, com conteúdo mais corado em relação às duas outras espécies.

Em mucuna, uma proteína com 68 kg/mol mostrou-se bastante evidente e outras três, de menor massa molecular (36,5; 27,5 e 18,5 kg/mol) puderam, igualmente ser bem visualizadas (colunas 4 e 8). Mucuna e lablabe apresentaram uma proteína de 113,5 kg/mol, ausente em guandu (Figura 7).

Os resultados para os açúcares neutros, analisados por cromatografia, encontram-se no quadro

3. Valores mais altos, em relação à MS, foram obtidos, em seqüência, para guandu (54%), lablabe (46%) e mucuna (40%). Os conteúdos de galactose e arabinose foram significativos, e maiores em mucuna. Apenas guandu e lablabe apresentaram conteúdo mensurável de xilose. Os maiores valores foram obtidos para a glicose, sendo superior em guandu, seguido por lablabe e mucuna (Quadro 3).

Quadro 2. Teores de lipídios, proteínas e carboidratos das sementes de guandu, lablabe e mucuna<sup>(1)</sup>

Reserva	Guandu		Lablabe		Mucuna	
	MF	MS	MF	MS	MF	MS
Lipídios	11,4	13,5b	12,4	13,6b	17,1	18,2a
Proteínas	161,7	191,1b	233,0	256,3a	162,8	173,4b
Carboidratos	544,1	642,0a	521,8	574,0a	444,2	473,0b
Monossacarídeos	23,7	28,0a	18,4	20,2a	21,6	23,0a
WSP	49,7	58,8a	21,4	23,5b	52,7	56,2a
Amido	469,2	554,6a	481,7	529,9a	370,3	394,4b

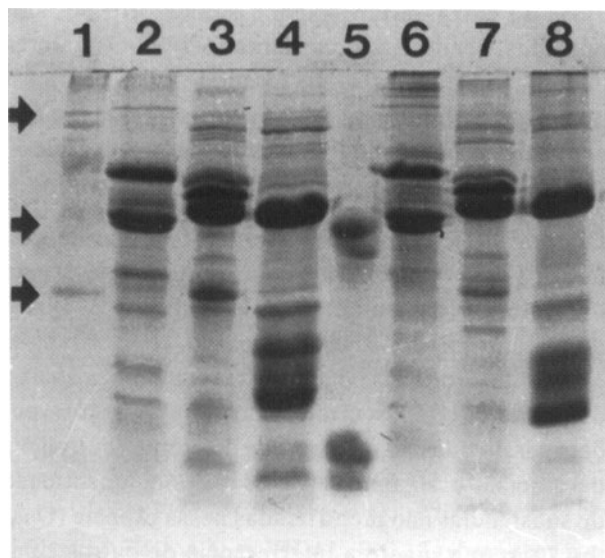
<sup>(1)</sup> Valores expressos em mg/g de massa fresca (MF) ou massa seca (MS).

Os valores representam a média de três repetições. Numa mesma linha, valores com a mesma letra não diferem ao nível de P = 0,01.

Quadro 3. Açúcares neutros na matéria seca de cotilédones de guandu, lablabe e mucuna

Açúcar	Guandu <sup>(1)</sup>		Lablabe <sup>(1)</sup>		Mucuna <sup>(1)</sup>	
	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%
Ramnose	TC	0,0	TC	0,0	TC	0,0
Fucose	TC	0,0	TC	0,0	TC	0,0
Arabinose	26	4,8	18	3,8	34	8,6
Xilose	8	1,5	3	0,6	TC	0,0
Manose	5	0,9	3	0,6	4	1,1
Galactose	40	7,4	26	5,8	42	10,5
Glicose	464	85,4	412	89,2	318	79,8
<b>Total</b>	<b>544</b>	<b>100</b>	<b>462</b>	<b>100</b>	<b>398</b>	<b>100</b>

<sup>(1)</sup> TC = traços. Os valores representam a média de três repetições.



**Figura 7.** SDS-PAGE (12,5% de acrilamida) do extrato total de guandu (colunas 2 e 6), lablabe (colunas 3 e 7) e mucuna (colunas 4 e 8). Coluna 1: padrão da massa molecular. As setas indicam, da porção superior para a inferior:  $\beta$ -galactosidase (116 kg/mol), albumina bovina (67 kg/mol) e ovalbumina (45 kg/mol). Coluna 5: albumina bovina (67 kg/mol). Colunas 2, 3 e 4: material com agente redutor (2-mercaptoetanol); colunas 6, 7 e 8: sem agente redutor.

#### 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Guandu, lablabe e mucuna produzem sementes exalbuminosas. Assim, todas as suas reservas estão concentradas nos cotilédones e no eixo embrionário. As sementes analisadas indicaram amido e proteínas como principais reservas. Entretanto, houve reação positiva ao "Sudan black", cuja característica é interagir com o material hidrofóbico presente (Maia, 1979). A pouca quantidade de lipídios detectada por esse método, nas três espécies, foi confirmada pelos resultados das extrações com MCA.

Nas sementes de guandu e lablabe, encontrou-se cerca de 1,4% de lipídios. Segundo a Academia Norte-Americana de Ciências (NAS, 1979), os grãos secos dessa espécie contêm 1,1% de óleo. A análise dos óleos presentes em mucuna-anã (Ulian, 1981) revelou 12,4%. Souza (1987) obteve valor de 6,8%,

enquanto os deste trabalho foram mais baixos: 2%. Esses autores também encontraram amido e proteína, como as principais reservas das sementes de mucuna. Outro fator a ser destacado é a diferença entre os valores obtidos para diferentes cultivares, o que poderia justificar os resultados.

Em lablabe, pôde-se notar quantidade maior de grãos de amido com tamanho reduzido. Já em guandu, aparentemente, notou-se maior quantidade de grãos que em mucuna, com tamanho bem maior do que em lablabe, mas com formato mais globular. Essa análise comparativa sugere maior conteúdo de amido em guandu do que em mucuna, o que foi confirmado nos métodos de extração e dosagem. No lablabe, o tamanho diferente dos grãos dificultou uma estimativa em relação às duas outras espécies, utilizando-se apenas os métodos citoquímicos de análise. Entretanto, suas dosagens de amido revelaram conteúdo intermediário dessa reserva em relação ao guandu e à mucuna.

Em leguminosas, o amido pode atingir mais de 50% da MS como em *Pisum sp.*, *Vicia faba* (Halmer, 1985), *Canavalia ensiformis* e *C. gladiata* (Cortelazzo, 1992). Variedades de *Vigna unguiculata* apresentam entre 50 e 67% de amido em relação à massa seca da semente. O amido também é a principal reserva em inúmeras outras leguminosas (Smith, 1973; Jenner, 1982).

As diferenças obtidas na extração e dosagem (método da antrona) em relação às análises cromatográficas confirmam que todos os métodos de extração e dosagem têm valor estimativo, mesmo se considerados os enzimáticos de dosagem (Haisig & Dickson, 1979; Jenner, 1982). De todo o modo, em ambos os processos utilizados no presente trabalho, guandu foi a espécie mais rica em amido, seguida por lablabe e mucuna.

As paredes das células parenquimáticas dos cotilédones foram coradas pelo AAs e pelo PAS, haja vista a presença dos polissacarídeos neutros (celulose e hemiceluloses). AT e AA podem corar essas estruturas em função das substâncias pécticas presentes, sendo observada metacromasia. Entretanto, dada a intensidade das colorações, ou a quantidade de pectatos não é muito elevada nas paredes das

três espécies, ou seus grupos negativos se encontram fortemente ligados a outras estruturas ou, ainda, inacessíveis às moléculas dos corantes.

Paredes celulares do parênquima cotiledonar são ricas em xiloglicanos (Carpita & Gibeaut, 1993). Contudo, a análise da composição dos açúcares formadores dessas paredes ficou comprometida pela grande quantidade de amido presente nas células. A remoção do amido poderá ser feita a fim de possibilitar tal análise: esse estudo complementar e determinaria as particularidades existentes ou não nas paredes celulares de tais espécies. Traços de ramnose e fucose foram determinados nas cromatografias. Embora a xilose possa ser determinada apenas em guandu e lablabe, os resultados sugeriram maior quantidade de polissacarídeos de xilose nas paredes celulares dessas duas espécies. *Mucuna* apresentou maior quantidade de galactose, indicando maior presença de galactanos em seus cotilédones.

Outra reserva mais expressiva encontrada foi o material protéico, evidenciado pelo XP que, juntamente com outros corantes ácidos, tem sido usado para a detecção do material protéico em sementes, como em soja (Cortelazzo & Vidal, 1989, 1991). As proteínas de reserva se distribuem por todo o citoplasma das células cotiledonares, circundando os grãos de amido. Não puderam ser notadas, visualmente, diferenças de intensidade de coloração, revelando que o teor dessas moléculas não varia muito entre as três espécies. A coloração pelo método do PAS indicou a presença de glicoproteínas nos corpos protéicos.

Teixeira et al. (1985), em estudos sobre a composição química de guandu, obtiveram 23,11 g de proteína em 100 g de MS, pelo método de Kjeldahl para dosagem de proteínas. Do mesmo modo, alguns autores reportam que o teor de proteínas em guandu pode variar de 17 a 24%, conforme a época, o local do plantio e os cultivares usados (Seno, 1993). O valor obtido no presente trabalho (19,1%), apesar de ser um pouco inferior, aproximou-se dos alcançados por esses autores. Segundo a Academia Norte-Americana de Ciências (NAS, 1979), os grãos secos de lablabe contêm cerca de 25,5% de proteínas, 1,1% de óleos, 69,6% de carboidratos, 9,6% de fibras,

3,6% de cinzas e um balanço satisfatório de aminoácidos, sendo ricos em lisina (6,1%). Os valores de lablabe, neste trabalho, foram de 1,4% de óleos, 57,4% de carboidratos e 25,6% de proteínas, o que confirma os resultados existentes para a espécie.

Nas análises em grãos de *mucuna-anã*, feitas por Ulian (1981), encontraram-se 25,5% de proteínas. Souza (1987) obteve 19,3% de proteínas, 6,8% de óleo, 46,7% de amido, 5,35% de fibras e 5,04% de matéria mineral. Neste trabalho, registraram-se 17,4% de proteínas, o que está um pouco abaixo dos valores citados. Entretanto, tais variações podem ser devidas ao emprego de diferentes cultivares de *mucuna* e ao fato de ocorrer maior quantidade de substâncias não identificadas nessa espécie (Quadro 2), o que sugere a interferência de outros compostos na análise, como, por exemplo, o ácido tânico, cuja presença foi sugerida nos testes citotóxicos e que deverá merecer estudos complementares.

Os resultados da eletroforese revelaram inúmeras diferenças entre as três espécies. Se se considerar que a população de vicilinas é mais semelhante entre diferentes espécies (Derbyshire et al., 1976), pode-se supor que, neste caso, elas apresentam massa molecular aparente em torno de 66 a 70 kg/mol. Assim, as outras vicilinas e/ou leguminas teriam massa molecular aparente diversa, tornando-se possível dizer que a proteína de 100 kg/mol seja característica para guandu; que lablabe se caracterize pela proteína de 45 kg/mol, enquanto, em *mucuna*, predominem proteínas de menor massa molecular, como, por exemplo, as de 36,5, 27,5 e 18,5 kg/mol. Guandu e lablabe apresentaram um perfil eletroforético mais semelhante entre si, o que poderia sugerir maior proximidade filogenética entre ambos, quando comparados à *mucuna*.

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Luiz Fernandez Razera, da Seção de Sementes do IAC, pelo fornecimento das variedades estudadas, e à Sr.<sup>a</sup> Andréa Lefèbvre do Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales em Grenoble, França, pelo auxílio na preparação e análise das cromatografias.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, Duluth, **72**:248-254, 1976.
- CARPITA, N.C. & GIBEAUT, D.M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal*, Oxford, **3**:1-30, 1993.
- CORTELAZZO, A.L. Detecção e quantificação do amido em cotilédones de *Canavalia ensiformis* e *C. gladiata* durante o desenvolvimento inicial da planta. *Revista brasileira de Botânica*, São Paulo, **15**:157-162, 1992.
- CORTELAZZO, A.L. & VIDAL, B.C. Determination of the apparent isoelectric point of the protein bodies of *Glycine max*. *Cytologia*, Tokyo, **54**:635-639, 1989.
- CORTELAZZO, A.L. & VIDAL, B.C. Soybean seed proteins: detection in situ and mobilization during germination. *Revista brasileira de Botânica*, São Paulo, **14**:27-33, 1991.
- DEKA, R.K. & SARKAR, C.R. Nutrient composition and antinutritional factors of *Dolichos lab lab* L. seeds. *Food Chemistry*, Essex, **38**:239-246, 1990.
- DERBYSHIRE, E.; WRIGHT, D.J. & BOULTER, D. Legumin and vicilin storage proteins of legume seeds. *Phytochemistry*, Oxford, **15**:3-24, 1976.
- HAISSIG, B.E. & DICKSON, R.E. Starch measurement in plant tissue using enzymatic hydrolysis. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, **47**:151-157, 1979.
- HALMER, P. The mobilization of storage carbohydrates in germinated seeds. *Physiologie Végétale*, Montrouge, **23**:107-25, 1985.
- JENNER, C.F. Storage of starch. In: LOEWUS, F.A. & TANNER, W., eds. *Plant Carbohydrates I*. Berlin, Springer-Verlag, 1982. p.700-747.
- JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill, 1940. 523p.
- JOSELEAU, J.P. & CHAMBAT, G. Structure of the primary cell walls of suspension-culture *Rosa glauca* cells. II. Multiple forms of xiloglucans. *Plant Physiology*, Rockville, **74**:694-700, 1984.
- LISON, L. *Histochimie et cytochimie animales*. Paris, Gauthier-Villars, 1960. 607p.
- LOVANDINI, L.A.C. Emprego de *Dolichos lab lab* (L.) como adubo verde. Estudo do plantio intercalado na cultura do milho. *Bragantia*, Campinas, **5**:97-108, 1972.
- McCREADY, R.M.; GUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V. & OWENS, H.S. Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, Washington, **22**:1156-1158, 1950.
- MAIA, V. *Técnica histológica*. São Paulo, Atheneu, 1979. 246p.
- MELLO, M.L.S. & VIDAL, B.C. *Práticas em Biologia Celular*. São Paulo, Edgar Blücher-Funcamp, 1980. 69p.
- MENEGARIO, A. *As leguminosas forrageiras*. Campinas. DATE, 1966. 49p. (Boletim, 29)
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAS). *Tropical legumes*. Resources of the future. Washington, 1979. 331p.
- SENO, M.S. *Composição e morfologia de feijão guandu, lab-lab e mucuna*. Campinas, 1993. 93p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular), IB-UNICAMP, 1993.
- SGARBIERI, V.C. Estudo do conteúdo e de algumas características das proteínas em sementes de plantas da família Leguminosae. *Ciência e Cultura*, São Paulo, **32**:78-84, 1980.
- SMITH, D.L. Nucleic acid, protein, and starch synthesis in developing cotyledons of *Pisum arvense* L. *Annals of Botany*, London, **37**:795-804, 1973.
- SOUZA, P.A. *Avaliação bromatológica, nutricional e tecnológica de algumas leguminosas tropicais*. Piracicaba, 1987. 85p. Tese (Doutorado em Agronomia) ESALQ-USP, 1987.
- TEIXEIRA, J.P.F.; SPOLADORE, D.S.; BRAGA, N.R. & BULISANI, E. Composição química de grãos de feijão guandu, cultivar Kaki. *Bragantia*, Campinas, **44**:457-463, 1985.
- ULIAN, E.C. *Caracterização agrônômica, avaliação bromatológica e valor nutritivo de sementes de leguminosas utilizadas como adubos verdes*. Jaboticabal, 1981. 52p. Dissertação (Monografia de Graduação) - FCAV-UNESP, 1981.
- VIDAL, B.C. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification. *Cellular and Molecular Biology*, Oxford, **22**:45-64, 1977.
- ZINGALES, B. Analysis of protein by sodium dodecyl-sulfate-polyacrilamide gel electrophoresis. In: MOREL, C.M., ed. *Genes and antigens of parasites*. Rio de Janeiro, UND/World Bank/WHO/Fiocruz, 1984. p.357-363.