

Efeito do fotoperíodo no crescimento e no padrão de acúmulo de frutanos em plantas aclimatizadas de *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. (Amaranthaceae)¹

MÍRIAM FERRAZ MOREIRA², CANDIDA C. J. VIEIRA³ e LILIAN B. P. ZAIDAN^{3,4}

(recebido em 03/02/99; aceito em 19/08/99)

ABSTRACT - (Effect of photoperiod on growth and fructan accumulation pattern in acclimatized plants of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. (Amaranthaceae)). *Gomphrena macrocephala* is a perennial herb, native to the Brazilian cerrado, with medicinal properties and ornamental potential. As with other plants of the cerrado, it is characterized by well defined phenological phases. This species has been studied because of its particular fructan accumulation in the tuberous root, the variation of these carbohydrates being related with phenological phases. Micropropagated and acclimatized plants were used in the present study to investigate the presence of fructans in tuberous roots and to verify if the photoperiodic conditions interfere on growth, phenological behavior and on fructan accumulation. Short days (8 h) provided lower shoot growth, and induce the appearance of senescence characteristics and accumulation of polysaccharides, as already reported to plants in early dormancy. Long days (12 and 16 h), however, increased shoot growth and resulted in lower fructan contents, similar to what is observed in the vegetative growth phase of this plant.

RESUMO - (Efeito do fotoperíodo no crescimento e no padrão de acúmulo de frutanos em plantas aclimatizadas de *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. (Amaranthaceae)). *Gomphrena macrocephala* é uma espécie herbácea perene, nativa do cerrado brasileiro, que apresenta propriedades medicinais e potencial ornamental. Como outras espécies do cerrado, apresenta fases fenológicas bem definidas. A espécie tem sido estudada em função do acúmulo de carboidratos do tipo frutano em sua raiz tuberosa, cujo padrão de variação está relacionado com as fases fenológicas. O presente estudo utilizou plantas micropropagadas e aclimatizadas, com o objetivo de investigar a presença de frutanos em raízes tuberosas, além de verificar se as condições fotoperiódicas interferem no crescimento, no comportamento fenológico e no acúmulo de frutanos dessas plantas. Dias curtos (8 h) proporcionaram menor crescimento vegetativo, induziram o aparecimento de caracteres de senescência e acúmulo de polissacarídeos, como já descrito para plantas em início de dormência. Dias longos (12 e 16 h), no entanto, estimularam maior desenvolvimento da parte aérea e resultaram em menor conteúdo de frutanos, semelhante ao observado em plantas em fase de crescimento vegetativo.

Key words - *Gomphrena*, photoperiodism, fructan accumulation

Introdução

Gomphrena macrocephala (Amaranthaceae) é uma espécie herbácea perene que cresce espontaneamente no cerrado brasileiro (Vieira & Figueiredo-Ribeiro 1993), apresentando ciclo de desenvolvimento anual, com fases fenológicas bem caracterizadas. No outono, a parte aérea da planta senesce e o órgão subterrâneo de reserva permanece dormente durante o inverno. Na primavera, ocorrem intensa brotação e crescimento vegetativo, vindo a planta a florescer e frutificar no verão. Esse padrão é comum a outras espécies herbáceas perenes do cerrado (Isejima & Figueiredo-Ribeiro 1993, Carvalho & Dietrich 1993). O comportamento fenológico desta vegetação reflete uma série de estratégias

adaptativas para superar estresses térmicos, hídricos e nutricionais (Mantovani & Martins 1988). A redução na produção de matéria seca durante o outono e o inverno coincide com o período do ano em que ocorre menor disponibilidade de água, redução da temperatura e do comprimento do dia (Coutinho et al. 1982, Mantovani & Martins 1988).

Pertencente à sub-classe Caryophyllidae, *G. macrocephala* é a única espécie deste grupo em que foi constatada a presença de frutanos, os quais representam cerca de 40% da matéria seca da raiz tuberosa (Vieira & Figueiredo-Ribeiro 1993). Frutanos são carboidratos constituídos basicamente de séries homólogas de oligo e polissacarídeos não redutores contendo resíduos de frutose ligados a uma molécula de sacarose (Edelman & Jefford 1968, Figueiredo-Ribeiro et al. 1991). São prontamente disponíveis e têm sido encontrados em órgãos de reserva de espécies herbáceas perenes do cerrado, principalmente nas asteráceas (Figueiredo-Ribeiro et al. 1991, Tertuliano & Figueiredo-Ribeiro 1993). A presença de frutanos provavelmente confere às plantas maior capacidade de explorar ambientes em

1. Parte da dissertação de mestrado de M. F. Moreira (ESALQ-USP).
2. Bolsista da CAPES.
3. Seção de Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, Caixa Postal 4005, 01061-970 São Paulo, SP, Brasil.
4. Autor para correspondência: lzaidan@smtp-gw.ibot.sp.gov.br

que a disponibilidade de água é limitada (Hendry 1993), como ocorre em regiões do cerrado. Nesse ambiente, os frutanos acumulados nos órgãos subterrâneos, além de atuar no armazenamento de energia, poderiam estar relacionados com processos de osmorregulação (Figueiredo-Ribeiro 1993).

Os frutanos acumulados nas raízes tuberosas de *G. macrocephala* estão distribuídos em série homóloga única e não correspondem à série da inulina (ligações β -2,1) (Vieira & Figueiredo-Ribeiro 1993), típica das dicotiledôneas (Pollock & Chatterton 1988). A análise cromatográfica desses carboidratos e co-eluição com padrões conhecidos de frutanos sugeriram que os mesmos seriam do tipo β -2,6 (Vieira, 1996), predominante entre as gramíneas, porém não encontrado em dicotiledôneas. Utilizando métodos físico-químicos, Shiomi et al. (1996) confirmaram que os polissacarídeos de alto peso molecular de *G. macrocephala* são frutanos lineares do tipo fleano (levano) com ligações β -2,6.

Vieira & Figueiredo-Ribeiro (1993) observaram a ocorrência de variações sazonais na quantidade e na composição dos frutanos de *G. macrocephala*. No final da dormência, ocorre aumento no teor de polissacarídeos concomitante à redução na quantidade de oligossacarídeos. Nas fases de brotação e crescimento vegetativo, predominam frutanos de baixo peso molecular. Nos períodos de floração/frutificação e início de dormência, há um aumento no peso molecular dos polissacarídeos e redução no teor de oligossacarídeos.

Além dos frutanos, *G. macrocephala* acumula saponinas esteroidais (Young et al. 1992). A presença de grandes inflorescências purpúreas, do tipo capítulo, amplia a potencialidade de uso dessa espécie, tanto para fins econômicos como ornamentais (Vieira et al. 1994).

G. macrocephala é uma espécie de difícil propagação. A reprodução vegetativa pode ocorrer através de brotações de gemas localizadas na raiz tuberosa, porém esse processo é limitado, tendo em vista o lento crescimento das raízes. A reprodução sexuada é também restrita, em função do reduzido número de sementes viáveis produzidas (Vieira et al. 1994).

A micropropagação foi, então, sugerida como uma alternativa viável para a multiplicação dessa espécie (Mercier et al. 1992). Estudos prévios (Vieira 1996) mostraram que tecidos cultivados *in vitro*, incluindo

raízes adventícias de plantas micropropagadas, acumulam frutanos. No entanto, esses frutanos são exclusivamente do tipo inulina, ao contrário das raízes de plantas propagadas em condições naturais, que acumulam fleanos.

O objetivo deste trabalho foi investigar a presença de frutanos em raízes tuberosas de plantas aclimatizadas de *Gomphreana macrocephala* e verificar se as condições fotoperiódicas são capazes de influenciar o desenvolvimento das plantas, interferindo no comportamento fenológico e no acúmulo de carboidratos nas raízes tuberosas.

Material e métodos

As sementes de *Gomphreana macrocephala* St.-Hil. foram coletadas em região de cerrado no município de Itirapina, SP (22°18'S e 47°11'W). Um exemplar dessa população foi depositado no Herbário do Estado "Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo" (SP167648), do Instituto de Botânica. As plantas matrizes foram obtidas a partir de germinação de sementes *in vitro*. Microestacas desenvolvidas a partir de gemas axilares dos explantes nodais retirados das plântulas *in vitro* (Mercier et al. 1992) foram enraizadas em meio MS (Murashige & Skoog 1962) desprovido de fitorreguladores. Após 30 dias em meio de enraizamento, as plantas foram transferidas, individualmente, para bandejas de plástico contendo terra de cerrado.

A aclimatização foi feita em casa de vegetação, com luz natural, temperatura de 28°C \pm 3°C, umidade relativa de 95% e irrigação por nebulização cerca de oito vezes ao dia, durante 50 dias.

Os tratamentos fotoperiódicos foram iniciados após esse período (março de 1998). Para cada tratamento fotoperiódico (8 h, 12 h e 16 h) foram utilizadas 12 plantas, em vasos individuais. Todas as plantas receberam 8 h de luz natural em casa de vegetação com irradiância média correspondente a 80% da irradiância natural. A fim de complementar o fotoperíodo necessário, o tempo de exposição à luz foi suplementado em câmaras com controle automático de iluminação, conforme descrito em Ruggiero & Zaidan (1997). A irrigação foi feita diariamente ou quando se fez necessário.

A cada 20 dias foram observados o número de pares de folhas, o comprimento da haste e o número de novas brotações.

Para as análises de frutanos, amostras de raízes tuberosas de duas plantas de cada tratamento foram retiradas 140 dias após o início do tratamento fotoperiódico. As amostras foram separadas em três partes, cada uma constituindo uma repetição. Foram então pesadas, congeladas (-80°C) e liofilizadas, até atingirem peso constante, para determinação da massa seca.

A extração de frutanos a partir das amostras liofilizadas das raízes tuberosas foi feita de acordo com o método estabelecido por Pollock & Jones (1979), adaptado para *G. macrocephala*, conforme descrito em Vieira & Figueiredo-Ribeiro (1993). Os extratos foram cromatografados no sistema "Dionex", que consiste na cromatografia de troca aniônica de alto desempenho (HPAEC), usando-se colunas CarboPac⁺ PA1 (4 x 250 mm) e CarboPac⁺ PA100 (4 x 250 mm), com detecção de pulso amperométrico (PAD). A eluição dos carboidratos foi realizada conforme método utilizado por Shiomi et al. (1991, 1996). Os resultados foram registrados através de um integrador Hewlett-

Packard, sendo comparados com extratos de raízes tuberosas de *G. macrocephala* coletadas no cerrado e de tubérculos de *Helianthus tuberosus*, preparados conforme método descrito por Pollock & Jones (1979), utilizados como padrão.

A quantificação de frutose total, livre e combinada, foi feita segundo Jermyn (1956), utilizando D-frutose como padrão e expressa como média dos valores obtidos.

Com o intuito de verificar o tipo de frutano presente em plantas aclimatizadas após um longo período, foi também avaliado o carboidrato acumulado em plantas aclimatizadas após dois anos, utilizando-se a mesma metodologia descrita acima.

Resultados e Discussão

Os valores médios de crescimento da parte aérea (comprimento de haste e número de pares de folhas) foram maiores quando as plantas foram submetidas aos fotoperíodos mais longos (12 h e 16 h), conforme é mostrado na tabela 1 e na figura 1. Dias mais longos aparentemente favoreceram o aparecimento de maior número de brotações, a partir de gemas localizadas na porção basal da raiz tuberosa (tabela 1). Esses resultados sugerem que os parâmetros de crescimento analisados são influenciados pelo fotoperíodo. Thomas & Vince-Prue (1997) afirmam ser possível generalizar que plantas submetidas a dias longos apresentam maior crescimento vegetativo, algumas vezes diretamente em função do fotoperíodo, outras como resultado da atividade fotossintética.

Tabela 1. Dados de crescimento (média \pm desvio padrão) em altura, número de pares de folhas e número de brotações em plantas micropropagadas e aclimatizadas de *Gomphrena macrocephala* mantidas em fotoperíodos de 8, 12 e 16 h por 140 dias.

Fotoperíodo	8 h	12 h	16 h
Comprimento da haste (cm)	4,17 \pm 0,16	10,73 \pm 0,99	12,25 \pm 2,20
Nº de pares de folhas	2,79 \pm 0,13	3,66 \pm 0,17	3,06 \pm 0,24
Nº de brotações	1,00 \pm 0,08	1,15 \pm 0,07	1,26 \pm 0,07

No estado de São Paulo, a variação do fotoperíodo é de 10,5 a 13,5 horas (Vianello & Alves 1991). Tendo em vista que em *G. macrocephala* houve menor produção de folhas nos fotoperíodos de 8 h e 16 h, é possível que fotoperíodos aquém ou além da faixa natural de variação possam constituir uma condição desfavorável para o crescimento de

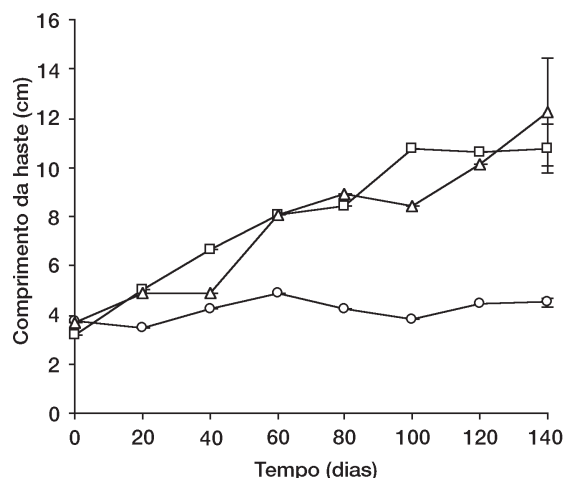


Figura 1. Curva de crescimento de plantas micropropagadas e aclimatizadas de *Gomphrena macrocephala* durante 140 dias de tratamento fotoperiódico (8 (—○—), 12 (—□—) e 16 (—△—) horas). As barras representam o desvio padrão da média.

algumas espécies que ocorrem nesta região, conforme já descrito em outras espécies (Ruggiero & Zaidan 1997). Klein et al. (1996) observaram que plantas de *Bidens gardneri* Baker, uma espécie herbácea perene, também do cerrado, apresentaram maior desenvolvimento da parte aérea em fotoperíodos intermediários (12 h, 14 h, 16 h), tendo registrado valores menores de crescimento nas plantas mantidas em fotoperíodos mais curtos (8 h) ou mais longos (20 h) do que os mencionados.

Menor crescimento vegetativo foi observado quando as plantas foram submetidas a fotoperíodo de 8 h (tabela 1, figura 1). Este resultado coincide com os dados observados para outras espécies perenes do cerrado, como *Viguiera discolor* (Isejima et al. 1991), *Vernonia cognata* (Cesarino 1996), *Viguiera robusta* (Ruggiero & Zaidan 1997) e *Diplusodon virgatus* (Cesarino et al. 1998). Algumas plantas de *G. macrocephala* em fotoperíodo de 8 h apresentaram características de senescência e perderam a parte aérea durante o período de estudo. No entanto, não foi possível afirmar que essas plantas poderiam estar em dormência, ou que foram induzidas à dormência por dias curtos. *G. macrocephala*, quando em condições naturais, apresenta menor crescimento e perde a parte aérea, entrando em dormência no final do outono, quando o fotoperíodo está gradativamente diminuindo (Vieira & Figueiredo-Ribeiro 1993).

A tabela 2 mostra os valores de massa fresca e seca e os teores de frutose total das raízes tuberosas de *G. macrocephala* nos diferentes tratamentos fotoperiódicos após 140 dias. A massa fresca total foi maior nas plantas em fotoperíodo de 16 h. No entanto, os dados de massa seca foram muito semelhantes nos três fotoperíodos. Com relação à frutose total, só é possível afirmar que os menores valores foram encontrados no fotoperíodo de 8 h. Os altos valores do desvio padrão da média em 16 h impedem outras conclusões.

Tabela 2. Valores de massa fresca total (g), valores médios de massa seca/massa fresca (g) e de frutose total (mg.g⁻¹ massa seca) encontrados na raiz tuberosa de plantas de *Gomphrena macrocephala*, após 140 dias de tratamento fotoperiódico.

Fotoperíodo	Massa fresca	Massa seca/ massa fresca	Frutose total
8 h	1,24	0,26 ± 0,056	14,20 ± 3,22
12 h	2,67	0,23 ± 0,072	26,20 ± 4,69
16 h	4,89	0,30 ± 0,059	51,30 ± 22,91

Análise dos carboidratos por HPAEC mostraram a presença de uma série homóloga de frutanos (figura 2) que co-eluíram com os fleanos extraídos de raízes tuberosas de plantas de *G. macrocephala* coletadas no cerrado. No presente estudo, fleanos de baixo peso molecular estão presentes nas raízes tuberosas das plantas de todos os tratamentos fotoperiódicos, porém em proporções inferiores às encontradas para glicose, frutose e sacarose (figura 2). Em nenhum tratamento fotoperiódico foi detectado frutano do tipo inulina, como encontrado em calos oriundos da parte aérea de *G. macrocephala*, cultivados *in vitro* (Vieira et al. 1995). Esse resultado mostra que as plantas micropropagadas, depois de um período de aclimatização, passaram a apresentar acúmulo do mesmo tipo de frutano que plantas propagadas por sementes. Isto foi particularmente evidente nas plantas micropropagadas e aclimatizadas, cultivadas por dois anos em casa de vegetação (figura 2), em cujas raízes tuberosas foram detectados os membros de baixo peso molecular da série homóloga de fleanos.

O acúmulo de frutanos em órgãos perenes, tais como tubérculos e raízes tuberosas, pode ser afetado por fatores externos e por processos de desen-

volvimento que alteram a partição de compostos de reserva (Pollock & Chatterton 1988, Figueiredo-Ribeiro 1993). Carvalho et al. (1997), trabalhando com *Vernonia herbacea*, uma espécie de Asteraceae nativa do cerrado, observaram que o teor de oligossacarídeos foi maior durante o período de rápido crescimento vegetativo, concomitante à redução no teor de polissacarídeos. A variação nos teores de frutano indicou que este carboidrato é metabolizado durante o desenvolvimento da planta. O mesmo foi observado em plantas de *G. macrocephala* submetidas aos fotoperíodos mais longos (12 e 16 h), onde a proporção de oligossacarídeos da série de frutanos foi superior àquela de polissacarídeos (figura 3). Raízes tuberosas de plantas submetidas a fotoperíodo de 8 h apresentaram uma proporção elevada de polissacarídeos em relação aos oligossacarídeos quando comparada aos demais tratamentos. Isejima et al. (1991), estudando a influência do fotoperíodo em *Viguiera discolor*, observaram que, embora a quantidade total de frutanos das raízes tuberosas tenha sido similar nos tratamentos de dias curtos e longos, a relação polissacarídeos: oligossacarídeos foi de 10:1 em dias curtos e 6:1 em dias longos. Esses autores mostraram ainda que os polissacarídeos de inulina predominaram nas raízes tuberosas em todos os tratamentos, ocorrendo em maior quantidade nas plantas induzidas para floração.

A floração em plantas de *G. macrocephala* não foi observada em nenhum dos tratamentos fotoperiódicos, mesmo depois de nove meses de cultivo. Existem poucos dados disponíveis sobre a floração de espécies do cerrado, conforme mencionado na revisão feita por Zaidan & Felipe (1994). Além do fotoperíodo, outros fatores ambientais, como temperatura e umidade, exercem efeito importante na indução da floração (Thomas & Vince-Prue 1997).

Estudos feitos em condições de casa de vegetação, utilizando plantas do cerrado portadoras de órgão subterrâneo de reserva e que foram irrigadas periodicamente, mostraram que essas plantas apresentam fases fenológicas coincidentes com as observadas em plantas crescendo naturalmente no cerrado (Figueiredo-Ribeiro & Dietrich 1981, Isejima & Figueiredo-Ribeiro 1993, Carvalho & Dietrich 1993, Sá e Carvalho & Dietrich 1996, Carvalho et al. 1997). O presente estudo limitou-se a

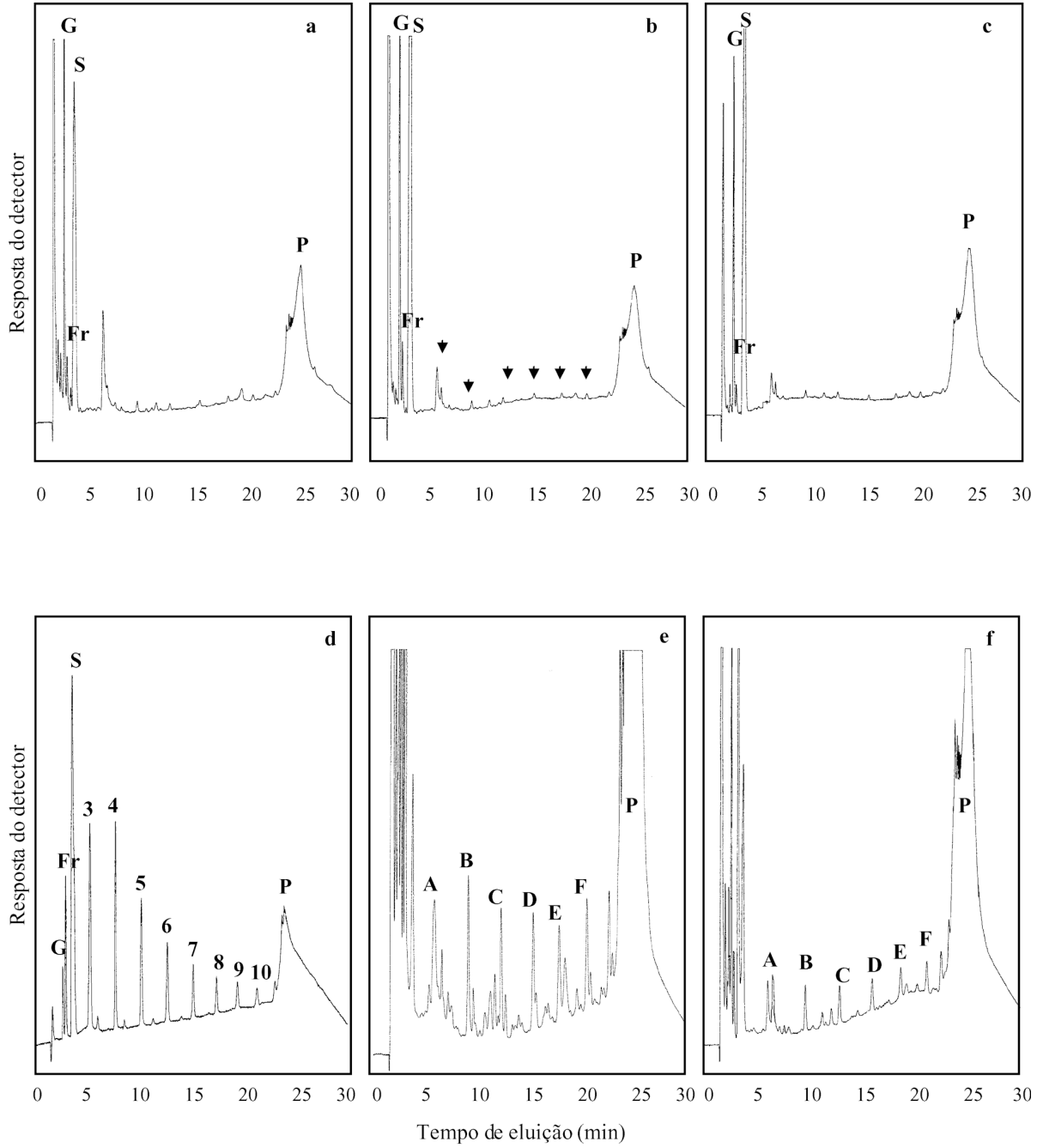


Figura 2. Análise por HPAEC, em coluna CarboPac PA1, dos oligossacarídeos presentes em raízes tuberosas de plantas micropropagadas e aclimatizadas de *Gomphrena macrocephala*, submetidas a fotoperíodos de 8(a), 12(b) e 16(c) horas por 140 dias. Os perfis cromatográficos foram comparados com padrões conhecidos de oligossacarídeos de inulina, obtidos de tubérculos de *Helianthus tuberosus*(d) e de fleanos, extraídos de raízes tuberosas de plantas de *G. macrocephala*, coletadas no campo(e), e de plantas micropropagadas e aclimatizadas com dois anos de idade(f). G, glicose; Fr, frutose; S, sacarose; P, polissacarídeos; 3-10, oligossacarídeos de inulina com grau de polimerização 3 a 10; A-F e setas, oligossacarídeos da série homóloga de fleanos de *G. macrocephala*.

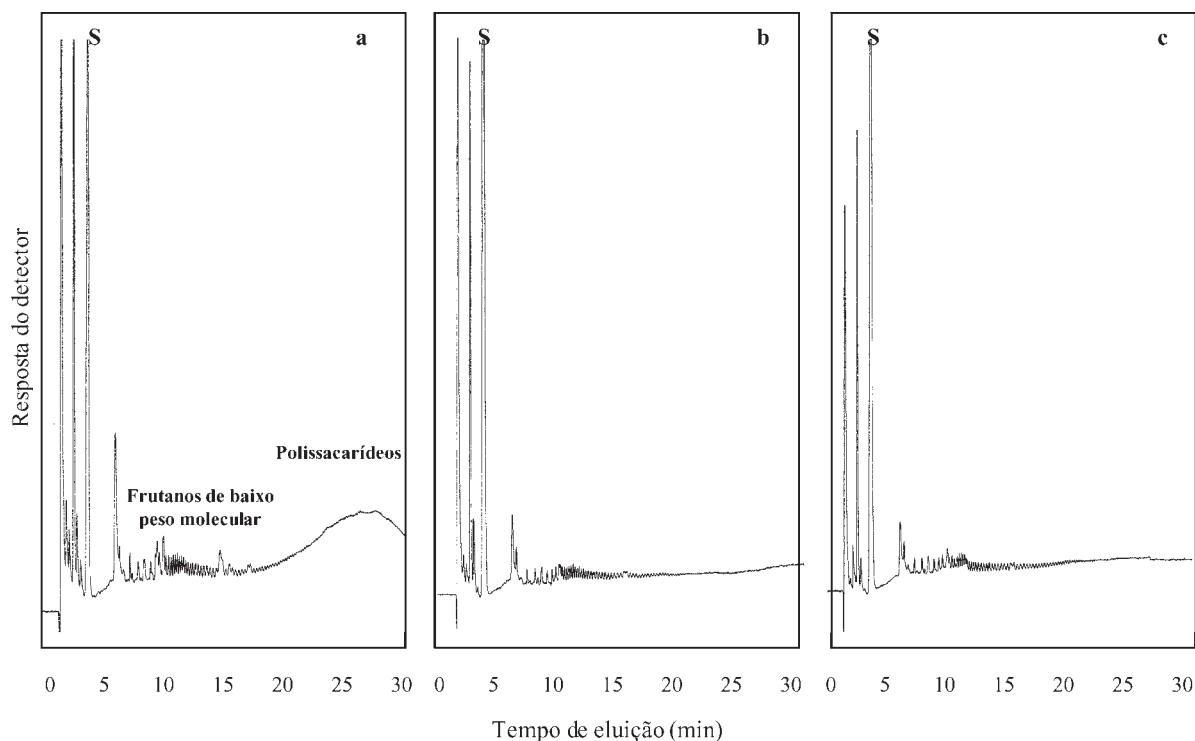


Figura 3. Análise por HPAEC, em coluna CarboPac PA100, dos polissacarídeos de raízes tuberosas de plantas micropropagadas e aclimatizadas de *Gomphrena macrocephala*, submetidas a fotoperíodos de 8(a), 12(b) e 16(c) horas por 140 dias. S, sacarose.

um período de nove meses que procedeu a etapa de aclimatização. Embora não tenham sido observadas as fases fenológicas já descritas para *G. macrocephala* (Vieira & Figueiredo-Ribeiro 1993), especialmente floração e dormência, não se pode deixar de considerar que as plantas aqui estudadas originaram-se de segmentos caulinares de plântulas. Sendo assim, é provável que necessitem de um período de dormência antes de iniciar um ciclo de desenvolvimento, como já foi descrito para *V. herbacea* (Carvalho et al. 1997). Plantas de *G. macrocephala* crescendo em canteiros próximos à casa de vegetação apresentaram floração coincidindo com o período em que florescem no cerrado (verão). Estas plantas, propagadas vegetativamente a partir de estacas radiculares de plantas trazidas do cerrado, têm, portanto, um comportamento diferente do das microestacas formadas a partir de plântulas cultivadas *in vitro*.

Variações no teor de frutanos podem ocorrer ao longo do ciclo de vida das plantas acumuladoras, tanto em monocotiledôneas como em dicotiledôneas (Pontis 1989). Vieira & Figueiredo-Ribeiro (1993)

relacionaram as variações na composição, no conteúdo e no peso molecular dos frutanos de *G. macrocephala* com os estados fenológicos da planta. Apesar das diferenças observadas nos tratamentos fotoperiódicos em relação ao crescimento da parte aérea das plantas de *G. macrocephala* (tabela 1) e ao conteúdo de frutose total das raízes tuberosas (tabela 2), não foram constatadas alterações significativas na proporção de oligo e polissacarídeos (figura 3), com exceção do tratamento fotoperiódico de 8 h. Vieira & Figueiredo-Ribeiro (1993) observaram um padrão característico para os carboidratos de *G. macrocephala* em cada fase fenológica. De fato, plantas que cresceram em fotoperíodo de 8 h apresentaram características morfológicas (ramos secos, folhas com manchas purpúreas, ausência de gemas em brotação) e bioquímicas (acúmulo de polissacarídeos) de plantas em estado de dormência.

Agradecimentos - Ao CEBTEC, especialmente ao Dr. Otto J. Crocomo, pelo uso dos laboratórios e da casa de vegetação, possibilitando a multiplicação *in vitro* e a aclimatização das plantas estudadas.

Referências bibliográficas

- CARVALHO, M.A.M. & DIETRICH, S.M.C. 1993. Variation in fructan content in the underground organs of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. *New Phytologist* 123:735-740.
- CARVALHO, M.A.M., ZAIDAN, L.B.P. & DIETRICH, S.M.C. 1997. Growth and fructan content of plants of *Vernonia herbacea* (Asteraceae) regenerated from rhizophores. *New Phytologist* 136:153-161.
- CESARINO, F. 1996. Crescimento de *Vernonia cognata* Less., uma espécie herbácea de cerrado. Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- CESARINO, F., ARAUJO, J.E. & ZAIDAN, L.B.P. 1998. Germinação de sementes e crescimento de plantas de *Diplusodon virgatus* Pohl, Lythraceae. *Acta Botanica Brasílica* 12(supl.): 349-356.
- COUTINHO, L.M., VUONO, Y.S. & LOUSA, J.S. 1982. Aspectos ecológicos do fogo no cerrado. IV. A época da queimada e a produtividade primária líquida epigéia do estrato herbáceo subarborescente. *Revista Brasileira de Botânica* 5:37-41.
- EDELMAN, J. & JEFFORD, T.G. 1968. The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus*. *New Phytologist* 67:517-531.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1993. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 5:203-208.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. & DIETRICH, S.M.C. 1981. Variações estacionais nos compostos de reserva e no metabolismo do xilopódio de *Ocimum mucicaule* Benth. var. *anisifolia* Giul. (Labiatae). *Revista Brasileira de Botânica* 4:73-82.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L., ISEJIMA, E.M., DIAS-TAGLIACOZZO, G.M., CARVALHO, M.A.M. & DIETRICH, S.M.C. 1991. The physiological significance of fructan accumulation in Asteraceae from the Cerrado. *Ciência e Cultura* 43:443-446.
- HENDRY, G.A.F. 1993. Evolutionary origins and natural functions of fructans - a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytologist* 123:3-14.
- ISEJIMA, E.M. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1993. Fructan variations in tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae): the influence of phenology. *Plant and Cell Physiology* 34:723-727.
- ISEJIMA, E.M., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. & ZAIDAN, L.B.P. 1991. Fructan composition in adventitious tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae) as influenced by daylength. *New Phytologist* 119:149-154.
- JERMYN, M.A. 1956. A new method for the determination of keto-hexoses in presence of aldohexoses. *Nature* 177:38-39.
- KLEIN, A.L., ZAIDAN, B.P. & FELIPPE, G.M. 1996. Interaction between soil and photoperiod on development of *Bidens gardneri* Baker (Asteraceae), a herbaceous species from the Brazilian cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 19:1-15.
- MANTOVANI, W. & MARTINS, F.R. 1988. Variações fenológicas das espécies de cerrado da Reserva Biológica de Mogi-Guaçu, São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica* 11:101-112.
- MERCIER, H., VIEIRA, C.C.J. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1992. Tissue culture and plant propagation of *Gomphrena officinalis* - a Brazilian medicinal plant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 28:249-254.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
- POLLOCK, C.J. & CHATTERTON, N.J. 1988. Fructan. In *Biochemistry of plants* (J. Preiss, ed.). Academic Press, London, p.109-140.
- POLLOCK, C.J. & JONES, T. 1979. Seasonal patterns of fructan metabolism in forage grasses. *New Phytologist* 83:8-15.
- PONTIS, H.G. 1989. Fructans and cold stress. *Journal of Plant Physiology* 134:148-150.
- RUGGIERO, P.G.C. & ZAIDAN, L.B.P. 1997. Estudos de desenvolvimento de *Viguiera robusta* Gardn., uma Asteraceae do Cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 20:1-9.
- SÁ e CARVALHO, C.G. & DIETRICH, S.M.C. 1996. Carbohydrates in tuberous roots of *Cochlospermum regium* in different stages of development. *Revista Brasileira de Botânica* 19:127-131.
- SHIOMI, N., ONODERA, S., CHATTERTON, J. & HARRISON, P.A. 1991. Separation of fructooligosaccharide isomers by anion-exchange chromatography. *Agricultural and Biological Chemistry* 55:1427-1428.
- SHIOMI, N., ONODERA, S., VIEIRA, C.C.J. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1996. Structure of fructan polymers from tuberous roots of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil., a herbaceous Amaranthaceae from the cerrado. *New Phytologist* 133:643-650.
- TERTULIANO, M.F. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1993. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. *New Phytologist* 123:741-749.
- THOMAS, B. & VINCE-PRUE, D. 1997. Photoperiodism in plants. Academic Press, San Diego.
- VIANELLO, R.L. & ALVES, A.R. 1991. Meteorologia básica e aplicações. Imprensa Universitária, Viçosa.
- VIEIRA, C.C.J. 1996. Caracterização e produção de frutanos por tecidos e órgãos isolados de *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. (Amaranthaceae). Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- VIEIRA, C.C.J. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1993. Fructose - containing carbohydrates in the tuberous root of *Gomphrena macrocephala* St. Hil. (Amaranthaceae) at different phenological phases. *Plant, Cell and Environment* 16:919-928.
- VIEIRA, C.C.J., MERCIER, H., CHU, E.P. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1994. *Gomphrena* species (globe amaranth): In vitro culture and production of secondary metabolites. In *Biotechnology in Agriculture and Forestry* (Y.P.S. Bajaj, ed.). Springer-Verlag, Berlin & Heidelberg, v.28, p.257-270.
- VIEIRA, C.C.J., BRAGA, M.R. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1995. Fructans in callus of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 42:233-238.
- YOUNG, M.C.M., VIEIRA, C.C.J., CHU, E.P., HARAGUCHI, M. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1992. Ecdysterone and saponins from tuberous roots of *Gomphrena officinalis* Mart. (Amaranthaceae). *Revista Latinoamericana de Química* 22 & 23: 41-44.
- ZAIDAN, L.B.P. & FELIPPE, G.M. 1994. Flowering of cerrado plants: experiments in semi-controlled environmental conditions. *Flowering Newsletter* 18:4-11.