

QUEBRA DE DORMÊNCIA E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS EM TUBÉRCULOS-SEMENTE
DE BATATA (Solanum tuberosum L.)

MARILIO RICARDO DE OLIVEIRA CARDOSO

Dissertação apresentada ao Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de "Mestre em Fitotecnia".

Fortaleza - Ceará
MAIO de 1977



Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia outorgado pela Universidade Federal do Ceará e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A transcrição do material contido nesta dissertação é permitida desde que se faça a citação apropriada.

Marílio Ricardo de Oliveira Cardoso

Dissertação aprovada em 13 de maio de 1977 por:

Luiz Gonzaga Rebouças Ferreira, Ph.D.
Orientador

José Tarquínio Prisco, Ph.D.
Conselheiro

Roberto Cláudio Frota Bezerra, M.S.
Conselheiro

Vicente Wagner Dias Casali, Ph.D.
Convidado

A meus pais,
pelo amor e imensos sacrifícios,

A meus irmãos e a Diva,
pelo estímulo e amor, e

Em memória de meu
irmão Guido.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), instituição de origem, pela oportunidade de realizar este curso e a ajuda financeira.

Desejamos agradecer ao professor Dr. Luiz Gonzaga Reboças Ferreira, pela orientação desta dissertação.

Nosso agradecimento especial ao professor Dr. José Tarquínio Prisco, pelas valiosas sugestões e esclarecimentos, e ao professor Dr. Vicente Wagner Dias Casali, da Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio e estímulo, e pela presença no comitê de defesa da dissertação.

Somos gratos ao professor Roberto Cláudio Frota Bezerra, do Departamento de Estatística e Matemática Aplicada, pela orientação na parte estatística.

Nosso profundo agradecimento ao colega José Gomes de Souza, pelo apoio e importante colaboração na execução deste trabalho.

O autor agradece aos professores Enéas Gomes Filho e Joaquim Enéas Filho pelas colaborações prestadas.

Desejamos estender os nossos agradecimentos ao Banco do Nordeste do Brasil (BNB) e ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, pelos suportes financeiros.

A todos enfim, que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, o sincero agradecimento.

CONTEÚDO

	<u>Página</u>
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	ix
DEFINIÇÕES E ABREVIATURAS	xi
INTRODUÇÃO	1
A dormência em batatas e sua importância	1
Mecanismos da dormência e da brotação	2
Efeitos do ácido giberélico (GA ₃)	4
Efeitos da temperatura	5
Objetivos do presente trabalho	7
MATERIAL E MÉTODOS	8
Tubérculos-semente de batata	8
Tratamentos para a quebra de dormência	8
Atividade enzimática	9
Determinação de açúcares livres e de amido	11
Produtividade biológica	13
Delineamento experimental e análise estatística ...	15

Página

RESULTADOS	17
Condições de ensaio da α -amilase	17
Efeitos dos tratamentos de quebra de dormência sobre a atividade amilásica	17
Efeitos dos tratamentos de quebra de dormência sobre os teores de açúcares livres e de amido	24
Efeitos dos tratamentos sobre a dormência e aspectos da brotação	29
Efeitos dos tratamentos de quebra de dormência sobre a produtividade biológica	29
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	43
RESUMO	49
LITERATURA CITADA	51

LISTA DE TABELAS

TABELA		<u>Página</u>
I	Atividade α -amilásica (α), β -amilásica (β) e amilásica total (T), em tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke	20
II	Teores de açúcares livres (AL), de amido (A) e valor azul (VA) em tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke	25
III	Taxa de assimilação líquida (TAL) e taxa de crescimento relativo (TCR) nas cultivares de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência	30
IV	Análise da variância para as taxas de assimilação líquida (TAL) e de crescimento relativo (TCR) das cultivares de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência ..	31
V	Peso seco da parte aérea (PA), das raízes e estolons (RE) e de toda a planta (T), nas cultivares de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos	35

TABELA

Página

VI	Análise da variância para o peso seco da parte aérea e das raízes e estólons, das cultivares de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência	36
VII	Número médio e altura total média das hastes, nas cultivares de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência	39
VIII	Análise da variância para o número médio e altura total média das hastes, nas cultivares de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) Bintje e Marijke, provenientes dos tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência	40

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA		<u>Página</u>
1	Características da α -amilase extraída de tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) da cultivar Bintje, brotados naturalmente	18
2	Atividade α -amilásica em tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke	21
3	Atividade β -amilásica em tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke	22
4	Atividade amilásica total em tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke	23
5	Teores de açúcares livres em tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke	26
6	Teores de amido em tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke	27
7	Valor azul em extratos de amido obtidos de tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke	28

FIGURA

Página

8	Taxa de assimilação líquida (TAL) das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje e Marijke ...	32
9	Taxa de crescimento relativo (TCR) das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje e Marijke ...	33
10	Peso seco da parte aérea das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje e Marijke	37
11	Peso seco das raízes e estôlons das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje e Marijke ...	38
12	Altura total média de hastes das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje e Marijke ...	41
13	Número médio de hastes das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (<u>Solanum tuberosum</u> L.) das cultivares Bintje e Marijke	42

DEFINIÇÕES E ABREVIATURAS

ATP	- adenosina-trifosfato
A_{620}	- absorvância medida em 620 nm
ΔA_{620}	- diferença de absorvância medida em 620 nm
A_{680}	- absorvância medida em 680 nm
DNA	- ácido desoxirribonucleico
GA_3	- ácido giberélico 3
GL	- grau de liberdade
ppm	- parte por milhão
QM	- quadrado médio
RNA	- ácido ribonucleico
TAL	- taxa de assimilação líquida, correspondente ao <u>incremen</u> to diário de matéria seca por unidade de área foliar, em $mg.cm^{-2}.dia^{-1}$
TCR	- taxa de crescimento relativo, correspondente ao aumento diário de matéria seca por unidade de matéria seca <u>exis</u> tente, em $mg.g^{-1}.dia^{-1}$
Valor azul	("blue value") - absorvância medida em 680 nm e que <u>re</u> presenta a quantidade de amido medida pela <u>coloração</u> azul resultante da reação deste composto com o iodo.

INTRODUÇÃO

A dormência em batatas e sua importância

Os tubérculos de batata (Solanum tuberosum L.), podem ser considerados como dormentes, quando colocados em condições favoráveis, suas gemas não apresentam crescimento. O período de dormência varia entre as cultivares, e pode ser definido como o número de dias entre a senescência do tubérculo formado e o início de sua brotação.

A dormência em batatas vem sendo estudada sob os aspectos de estimulação e inibição do crescimento das gemas. No Brasil, dois ou até mesmo três plantios anuais são possíveis em determinadas regiões. Para que isto se torne viável, há necessidade de se ter tubérculos-semente devidamente brotados. A fim de atender esta necessidade, muitas vezes, utilizam-se meios físicos ou químicos com o objetivo de se obter uma brotação a mais uniforme possível. Tal operação, aliada ao alto custo da batata-semente certificada, requer cuidados especiais.

Tem-se utilizado vários métodos para antecipar a brotação, alguns simples e baratos e outros complexos e dispendiosos, contudo, não se encontrou ainda uma resposta definida. Guardando as devidas recomendações técnicas para o cultivo da batata, o desenvolvimento vegetativo estaria provavelmente na dependência do método empregado para se quebrar a dormência e, possivelmente da maneira como as reservas existentes no tubérculo são mobilizadas.

Mecanismos da dormência e da brotação

Os mecanismos da dormência e brotação há muito vêm sendo estudados. As diferentes evidências experimentais citadas por HEMBERG (1965), mostram que antigamente considerava-se a dormência e o processo da brotação, conjugados com a respiração. Alguns pesquisadores achavam que a dormência era devida a inabilidade do O_2 penetrar na película. Outros discordavam radicalmente desta afirmativa, e consideravam que a dormência era devida a alta permeabilidade da película do tubérculo ao O_2 . Quando a película tivesse atingido uma certa espessura, e em consequência se tornasse menos permeável ao O_2 , a dormência estaria terminada. Resultados experimentais mostraram que o teor de O_2 de tubérculos armazenados, é invariável durante o período de dormência. Além disto, também não foi observada nenhuma variação na produção de CO_2 pelos tubérculos, durante a fase de dormência, mas houve aumento na produção deste gás, quando os tubérculos iniciaram a brotação. Quando os tubérculos de batata eram tratados quimicamente, com o objetivo de quebrar a dormência, a respiração era aumentada em níveis diferentes para os diversos tratamentos. Estes dados nos levam a crer que, o aumento na respiração durante a quebra de dormência era provavelmente uma consequência, e não a causa desta brotação.

Alguns pesquisadores consideram que as substâncias reguladoras do crescimento são as principais responsáveis pelo fenômeno da quebra de dormência em tubérculos de batata. A transição entre a dormência e a plena capacidade de brotação, seria determinada pela relação inibidores/giberelinas. Constatou-se que após a colheita, o nível de inibidores era alto e a capacidade de brotação era nula. Durante o armazenamento este nível decresce, e as giberelinas são formadas ou ativadas (BOO, 1961; BRUINSMA, 1962). Estudando-se as giberelinas naturais na planta e no tubérculo, e sua relação com a dormência, observou-se que as substâncias ácidas naturais impedem sua ação reguladora (OKASAWA, 1959, citado por SMITH, 1968).

Substâncias ácidas inibidoras do crescimento, são encontradas, principalmente na película de batatas dormentes. Tais substâncias desaparecem quando a batata termina o período de dormência (SMITH, 1968). Estas substâncias ácidas inibidoras, foram identificadas como compostos complexos denominados de inibidor β (BENNET-CLARK & KEFFORD, 1953), no qual o ácido abscísico era o maior componente (HEMBERG, 1958). O inibidor β , extraído de películas de batatas dormentes, inibia o crescimento e estimulava a absorção de O_2 em coleótilos de aveia e em tubérculos de batata, além de interferir com a absorção de fosfato inorgânico (MARINOS e HEMBERG, 1960). Baseando-se nestes dados e na similaridade de ação do 2,4-dinitrofenol, eles sugeriram que o inibidor β pode causar uma inibição do crescimento, pelo não acoplamento da fosforilação no sistema transferidor de elétrons. Como consequência disto, não haveria suprimento de energia (ATP) necessária para que se processassem as reações relacionadas com o crescimento. Verificou-se também que o inibidor β extraído da película afetou somente a atividade α -amilásica e não a β -amilásica, em coleótilos de aveia (HEMBERG & LARSSON, 1961). O tratamento de tubérculos de batatas dormentes com cloridrina etilênica, resultou em incremento da atividade amilásica. Entretanto, observou-se que esta substância atua indiretamente, visto que ela não tem efeito sobre a atividade desta enzima "in vitro" (DENNY, MILLER & GUTHRIE, 1930, DENNY, 1931, 1932, MILLER, 1931, citados por HEMBERG, 1965).

Alguns autores acreditam que o processo da quebra de dormência possa estar relacionado com a síntese de DNA e de RNA mensageiro (GALSTON & DAVIES, 1972, JONES, 1973). Quando cloridrina etilênica foi aplicada em batatas dormentes, foi observado que o RNA e o DNA aumentaram antes de um incremento em peso fresco das gemas (TUAN & BONNER, 1964). Desoxiadenosina, actinomicina D e puromicina, inibidores da síntese de ácidos nucleicos e de proteínas, também foram estudados em gemas extirpadas de batatas. Observou-se que estas substâncias

cias reduziram a brotação das gemas, indicando que estes processos estão associados com o fim da dormência (MADISSON & RAPPAPORT, 1968, citados por SHIH & RAPPAPORT, 1970).

Também muito discutido é o efeito do teor de glutatona, cujo aumento é verificado no fim do período de dormência. Este efeito pode ser explicado, provavelmente, pelo grupo SH da glutatona, que reagindo com os inibidores, os torna inativos. Quando os inibidores são inativados, a dormência é quebrada, e desde que o teor de auxina seja suficientemente alto e as condições externas propícias, o crescimento é alcançado (HEMBERG, 1965).

Efeitos do ácido giberélico (GA_3)

O GA_3 tem sido usado para reduzir o período de dormência de batatas recém-colhidas. O apressamento na brotação e emergência é conseguido, e sob certas condições aumenta a produção de tubérculos (RAPPAPORT *et al.*, 1957, 1958; TIMM *et al.*, 1960, citados por SMITH, 1968). A aplicação deste hormônio promoveu o desenvolvimento de brotos e diferenciação dos estôlons, resultando em um maior número de hastes e tubérculos (AKIYAMA, 1963, citado por SMITH, 1968, SMELTZER & MACKAY, 1963, HOLMES *et al.*, 1970, PERENNEC & CROSNIER, 1971). Uma correlação positiva foi encontrada entre o tratamento com GA_3 , a capacidade de absorção do sistema radicular e a taxa de fotossíntese (GRECHUSKNIKOV *et al.*, 1964, citado por SMITH, 1968).

O efeito do GA_3 sobre a brotação é condicionado pelo estágio de período de repouso, concentração e temperatura de aplicação. Plantas provenientes de tubérculos de batata-semente cortadas e tratadas com ácido giberélico, proporcionaram respostas decrescentes na produção, quando aumentou-se a concentração de 1 a 10 ppm. Entretanto,

o tratamento dos tubérculos inteiros com este hormônio, em todas estas concentrações, proporcionou às plantas formadas um ligeiro incremento em suas produções (MURPHY & GOVEN, 1959, citado por SMITH, 1968). A aplicação de GA_3 a $25^{\circ}C$, promoveu um maior número de brotos e um aumento na percentagem total de tubérculos brotados, em relação a aplicação deste hormônio a $5^{\circ}C$ (SMITH, 1968). Como efeitos indesejáveis de altas concentrações de GA_3 tem-se, o alongamento dos internódios das hastes e estólons, e o retardamento do crescimento foliar e de tubérculos. No entanto, efeitos benéficos podem ser obtidos com baixas concentrações, sem que a colheita seja feita além do período normal (SMITH, 1968).

Muitos trabalhos têm mostrado que este hormônio está envolvido no controle do nível de enzimas, associado com o metabolismo de carboidratos (CLEGG & RAPPAPORT, 1970). A aplicação de GA_3 em gemas extirpadas de batatas dormentes, aumentou a síntese de DNA e de RNA dentro de 12 horas, bem antes do começo da divisão e alongamento celulares (RAPPAPORT & WOLF, 1968).

Efeitos da temperatura

Um método físico de se encurtar o período de dormência, é o de submeter os tubérculos a extremos de temperatura, ou levá-los a um choque frio seguido imediatamente por um rápido aumento de temperatura (STUART & MILSTEAD, 1934; WRIGHT & PEACOCK, 1934; DAVIS, 1949). Diferenças na brotação em batatas são quase sempre observadas entre os vários armazenamentos comerciais e, é razoavelmente evidente que os graus de brotação deveriam afetar o valor propagativo do tubérculo (HARTMAN, 1934). Plantas oriundas de tubérculos conservados a $0^{\circ}C$, exibiram um desenvolvimento retardado e maior número de hastes, em comparação com as plantas de tubérculos provenientes de armazenamento

sob temperatura normal. Concluiu-se que as temperaturas de armazenamento afetaram o desenvolvimento vegetativo, rendimento e principalmente a brotação (EMILSSON & GUSTAFSSON, 1950, citados por BOOCK & NÓBREGA, 1963). Entretanto, tubérculos frigorificados (4°C e 85% de umidade relativa, por 110 dias), apresentaram-se turgescerentes, pouco brotados, estiolados e descoloridos. Contudo, não houve diferenças apreciáveis, quando se estudou os efeitos deste armazenamento sobre o desenvolvimento das plantas (BOOCK & NÓBREGA, 1963).

O armazenamento de tubérculos à baixas temperaturas (3 a 5°C), causa degradação do amido e acúmulo de açúcares livres (sacarose, glicose e frutose). É possível que o processo de degradação de amido não esteja relacionado a um significativo incremento em alguma atividade enzimática, mas, a determinada mudança na distribuição de diferentes enzimas ou substratos dentro dos compartimentos subcelulares do tubérculo. Então, se os grãos de amido estão circundados por uma membrana semi-permeável, mudanças na permeabilidade desta membrana, podem promover um contato das enzimas degradativas com seus substratos (OHAD et al., 1971).

Mantendo-se batatas dormentes em altas temperaturas (25 a 30°C) antes do plantio, foram obtidos consideráveis incrementos nas produções (STUART et al., 1929; PEACOCK & WRIGTH, 1927, citados por HARTMAN, 1934). Estes resultados são explicados pelo aumento no tamanho dos brotos e o apressamento na emergência das plantas. Confirmando esta explicação, um experimento envolvendo tubérculos com brotos grandes, observou-se que eles produziram plantas mais cedo e, estas plantas produziram melhor que aquelas provenientes de tubérculos com brotos pequenos (HARTMAN, 1934).

Objetivos do presente trabalho

O presente trabalho teve como objetivos, estudar os efeitos de tratamentos químicos (ácido giberélico) e físicos (temperatura) na dormência e na atividade metabólica de tubérculos-semente de batata (Solanum tuberosum L.). Também foi estudado o crescimento vegetativo, proporcionado pelas reservas dos tubérculos submetidos a estes tratamentos.

MATERIAL E MÉTODOS

Tubérculos-semente de batata

No presente estudo foram utilizadas batatas-semente (Solanum tuberosum L.) certificadas e dormentes, das cultivares Bintje, Achat e Marijke. O período médio de dormência das duas primeiras cultivares é de 90 dias, enquanto que a cultivar Marijke possui uma dormência média de 270 dias. Todas as batatas-semente foram originadas da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, e os experimentos foram iniciados após 60 dias da colheita.

Tratamentos para a quebra de dormência

Na quebra de dormência foram utilizados tratamentos químicos (ácido giberélico -GA₃- em duas concentrações) e físicos (temperaturas alta e baixa).

O GA₃ (Sigma Chemical Company, EE.UU.) foi usado nas concentrações de 5 e 10 ppm (BOOCK, 1975). A solução concentrada de GA₃ (120 ppm) foi preparada segundo ROSS (1974), diluindo-se 0,24 g desta substância em 20 ml de álcool etílico 95% (Carlo Erba do Brasil S.A., São Paulo) e completando-se o volume para 2.000 ml com água destilada. Partindo-se desta solução preparou-se o GA₃ a 5 e a 10 ppm, concentrações estas em que os tubérculos foram imersos durante 20 minutos a 25°C. Após o tratamento, os tubérculos foram colocados sobre papel toalha, com o fim de drenar o excesso de GA₃ e acondicionados em caixas de madeira, onde permaneceram a uma temperatura de aproximadamente

25°C, até a brotação. As amostras para o ensaio das atividades enzimáticas e determinação dos teores de açúcares livres e de amido, foram coletadas, respectivamente, 48 e 65 horas após os tratamentos.

Para o tratamento de alta temperatura os tubérculos foram acondicionados em um saco de tecido de algodão e colocados em um germinador de sementes (Precision Scientific Company, Model 805, Chicago, EE.UU.), programado para $32 \pm 1^\circ\text{C}$. Após 15 dias sob estas condições, eles foram retirados e acondicionados em caixa de madeira, onde permaneceram a uma temperatura de 25°C, até a brotação. As amostras para o ensaio das atividades enzimáticas e determinação dos teores de açúcares livres e de amido, foram coletadas, respectivamente, 48 e 65 horas após a retirada dos tubérculos do germinador.

Para o tratamento de baixa temperatura, os tubérculos foram acondicionados da mesma maneira que no de alta temperatura e colocados em um refrigerador ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) por 25 dias. Em seguida, foram submetidos a um abafamento, que consistiu em colocá-los numa caixa de madeira, forrada com papéis e sacos de tecido de algodão. As amostras para o ensaio das atividades enzimáticas e determinação dos teores de açúcares livres e de amido, foram coletadas, respectivamente, 48 e 65 horas após o início do abafamento.

Atividade enzimática

Dos extratos obtidos dos tubérculos, foram estudadas as atividades de duas enzimas hidrolíticas: α -amilase e β -amilase. Determinou-se a atividade destas enzimas, pela capacidade de promover a hidrólise do amido. A reação enzimática foi feita segundo ROSS (1974). Na preparação do substrato da reação, dissolveu-se 600 mg de amido (Sigma Chemical Company, EE.UU.) em tampão acetato 0,1 M, pH 5,6 e

para atingir a concentração final de 0,30%, completou-se com o mesmo tampão o volume para 200 ml. Esta mistura foi fervida durante 1 minuto, deixada resfriar-se à temperatura ambiente e centrifugada a 2.000 x g por 10 minutos, sendo o sobrenadante o substrato da reação. A solução "stock" de iodo, foi preparada dissolvendo-se em água destilada 6 g de iodeto de potássio e 600 mg de iodo, completando-se em seguida o volume da solução para 100 ml. A solução reagente de iodo, preparada momentos antes da reação enzimática, foi acidificada tomando-se 1,0 ml da solução "stock" e completando-se o volume para 100 ml com HCl 0,1 N.

Para a determinação da atividade α -amilásica o extrato foi preparado segundo SWAIN & DEKKER (1966), pela homogeneização em um liquidificador de 50 g de tubérculo em 150 ml de tampão acetato 0,025 M, pH 5,6. O homogenato, após filtrado através de tecido de "nylon", foi centrifugado a 7.500 x g por 15 minutos, sendo o precipitado desprezado. Após a adição de 6 ml de CaCl_2 0,5 M, o sobrenadante foi colocado em um banho-maria a 70°C por 15 minutos, com agitação ocasional. Em seguida, resfriou-se à temperatura ambiente e centrifugou-se a 7.500 x g por 15 minutos. O precipitado foi desprezado e o sobrenadante dializado contra tampão acetato 0,0125 M, pH 5,6, durante 24 horas, e novamente centrifugado a 7.500 x g por 10 minutos, descartando-se o precipitado e conservando-se o sobrenadante (extrato). A reação enzimática foi feita pela adição de 1,0 ml do extrato a 1,0 ml do substrato. A temperatura de incubação foi de 25°C e o tempo de reação de 10 minutos. A reação foi cessada pela adição de 1,0 ml do reagente de iodo acidificado. Para cada reação preparou-se uma prova em branco do ensaio, constituída de substrato e reagente de iodo acidificado. Antes de se determinar a atividade α -amilásica, todos os tubos de ensaio das reações, tiveram seus volumes completados para 7 ml com água destilada. Determinou-se a atividade α -amilásica medindo-se a absorvância em 620 nm (A_{620}) num espectrofotômetro Spekol, Modelo ZV (Jena, República Democrática Alemã), contra um branco consti

tuido de 1,0 ml do reagente de iodo acidificado e 6 ml de água destilada. Dos valores de absorvância da prova em branco subtraiu-se os valores obtidos para as amostras. Portanto, a atividade α -amilásica foi expressa em ΔA_{620} por 10 minutos de incubação.

A atividade β -amilásica foi estimada pela diferença entre as atividades, amilásica total e α -amilásica. Para obtenção da atividade amilásica total, tomou-se o mesmo extrato utilizado na determinação da atividade α -amilásica, sem contudo executar as etapas de inativação da β -amilase, ou seja, a adição de CaCl_2 e o aquecimento a 70°C .

Determinação de açúcares livres e de amido

Para as determinações de açúcares livres e de amido, a metodologia usada foi a descrita por McCREADY et al. (1950), com ligeiras modificações.

As amostras para estas determinações foram coletadas perfurando-se o tubérculo no sentido longitudinal com um furador de rocha de 0,6 cm de diâmetro. Cilindros com 4 cm de comprimento, a partir do ápice do tubérculo, após pesados, foram homogeneizados em um almofariz por 10 minutos, adicionando-se parceladamente 6 ml de água destilada. O homogenato foi transferido para um tubo de centrifuga com ajuda de 24 ml de álcool etílico 80% (Carlo Erba do Brasil S.A., São Paulo) aquecido a 50°C , e em seguida centrifugado a $1.000 \times g$ por 5 minutos e o sobrenadante coletado numa proveta. O precipitado foi lavado mais 4 vezes com 30 ml de álcool etílico 80% e os sobrenadantes adicionados à proveta acima referida. Aliquotas deste material foram retiradas para determinação do teor de açúcares livres.

O precipitado final, após refrigerado, foi ressuspensão em 10 ml de água destilada e 13 ml de ácido perclórico 52% (E. Merck, Darmstadt, República Federal da Alemanha). Durante 15 minutos esta suspensão foi agitada ocasionalmente. Depois da adição de 20 ml de água destilada, agitou-se mais uma vez a suspensão e centrifugou-se a 1.000 x g por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado numa proveta de 100 ml e o precipitado foi refrigerado, e em seguida ressuspensão em 5 ml de água destilada e 6,5 ml de ácido perclórico 52%. Durante 15 minutos esta suspensão foi agitada ocasionalmente. Após a adição de 10 ml de água destilada, agitou-se mais uma vez a suspensão e centrifugou-se a 1.000 x g por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado junto ao primeiro e completou-se o volume para 100 ml com água destilada. Este sobrenadante foi filtrado com auxílio de um funil de Buchner, através de papel de filtro (Frama, Indústria Klabin, São Paulo), desprezando-se os primeiros 5 ml. Aliquotas deste material foram retiradas para determinação de amido.

Na determinação dos teores de açúcares livres e de amido, usou-se o reagente antrona (DREYWOOD, 1946, citado por McCREADY et al., 1950). Este reagente foi preparado momentos antes da reação, na proporção de 0,1 g de antrona (Fischer Scientific Company, EE.UU.) para 50,0 ml de ácido sulfúrico 96% (Carlo Erba do Brasil S.A., São Paulo). A reação processou-se com a adição de 4,0 ml do reagente antrona a 2,0 ml do extrato, em tubos de ensaio tampados com esferas de vidro, levados em seguida para um banho-maria a 98°C por 5 minutos. Após este aquecimento, os tubos foram resfriados à temperatura ambiente. Determinou-se os teores de açúcares livres e de amido, medindo-se a absorbância em 625 nm, num espectrofotômetro Spekol, Modelo ZV (Jena, Rep. Dem. Alemã, contra um branco contendo 2 ml de álcool etílico 80% ou 2 ml de ácido perclórico 10,14% e 4 ml do reagente antrona. Preparou-se duas curvas-padrão, uma com 6, 12, 24, 36, 48 e 60 µg de glicose por ml de álcool etílico 80% e outra com 16, 32, 48, e 64 e 80 µg

de glicose por ml de ácido perclórico 10,14%. O valor da absorvância foi multiplicado pelo fator de diluição, volume do extrato e pelo fator da curva-padrão. O produto obtido em μg de glicose foi transformado em mg e dividido pelo peso da amostra, a fim de expressar os teores de açúcares livres e de amido, em mg de glicose por grama de peso fresco de tubérculo. O teor de amido ainda foi multiplicado pelo fator 0,9, para converter a glicose em amido (ETHEREDGE, 1941, citado por McCREADY et al., 1950).

A determinação do valor azul ("blue value"), foi feita adicionando-se a 1,0 ml do extrato preparado para a determinação de amido, 1,0 ml do reagente iodo-iodeto de potássio e água destilada até a obtenção de um volume final de 100 ml. O reagente iodo-iodeto de potássio foi preparado com 20 g de KI em 20 ml de água destilada, mais 2 g de I_2 , e completando-se o volume para 1.000 ml com água destilada. Deixou-se em repouso por 15 minutos e mediu-se a absorvância em 680 nm (A_{680}), num espectrofotômetro Spekol, Modelo ZV (Jena, República Democrática Alemã), contra um branco contendo 1,0 ml do reagente em 100 ml de água destilada. O valor azul foi expresso em A_{680} .

Produtividade biológica

A produtividade biológica foi medida através de determinações de peso seco da parte aérea, das raízes e estôlons, altura e número de hastes, taxa de assimilação líquida (TAL) e taxa de crescimento relativo (TCR).

Objetivando-se analisar a produtividade biológica proporcionada pela reserva nutritiva dos tubérculos provenientes dos diferentes tratamentos, fez-se o cultivo de um tubérculo por vaso de polietileno, contendo aproximadamente 1 kg de vermiculite (Vermiculite

Paulista S.A., São Paulo). Todos os vasos foram pintados externamente com tinta branca, a fim de reduzir o aquecimento causado pela radiação solar. A irrigação foi efetuada com água destilada, aproximadamente 200 ml por vaso, em intervalos de 72 horas. Nesta fase experimental, com duração de 30 dias, realizada em casa de vegetação, utilizou-se apenas as cultivares Bintje e Marijke. Durante o período experimental a temperatura média foi de 28°C, a umidade relativa média foi de 88% e a radiação solar média foi de 218 cal . cm⁻² . dia⁻¹.

As determinações necessárias ao cálculo das taxas de assimilação líquida de crescimento relativo foram feitas num intervalo de 7 dias, sendo a primeira no 23º dia (t₁) e a segunda no 30º dia (t₂) após o plantio. A taxa de assimilação líquida (TAL), expressa em mg . cm⁻² . dia⁻¹ foi calculada pela fórmula,

$$TAL = \frac{(LA_2 - LA_1) (P_2 - P_1)}{(t_2 - t_1) (A_2 - A_1)}$$

onde L é o logaritmo neperiano, P₂ e P₁ representam o peso seco da planta nos períodos de tempo t₂ e t₁ e A₂ e A₁, a área foliar nos mesmos períodos de tempo (RADFORD, 1967). A taxa de crescimento relativo (TCR), expressa em mg . g⁻¹ . dia⁻¹ foi calculada pela fórmula,

$$TCR = \frac{L P_2 - L P_1}{t_2 - t_1},$$

onde L é o logaritmo neperiano, P₂ e P₁ representam o peso seco da planta nos períodos de tempo t₂ e t₁, respectivamente (RADFORD, 1967). Para o cálculo da área foliar (A), utilizou-se o método de extrapolação de peso fresco de discos foliares de área conhecida, para

o peso fresco total de sistema foliar. O peso seco (P) da planta foi obtido após secagem em uma estufa a 80°C por 48 horas. Determinou-se ainda, no 30º dia após o plantio, as seguintes variáveis: peso seco da parte aérea, das raízes e estólons, altura total média e o número médio de hastes.

No estudo das taxas de assimilação líquida e de crescimento relativo, foram cultivados 2 tubérculos de pesos iguais em cada parcela experimental. No estudo do peso seco da parte aérea, das raízes e estólons, e altura e número de hastes, cada parcela experimental foi composta de 4 tubérculos.

Delineamento experimental e análise estatística

No estudo da atividade enzimática e dos teores de açúcares livres e de amido, usou-se um delineamento experimental planejado segundo uma classificação dupla cruzada com 3 repetições; o primeiro fator referia-se a tratamentos (controle, GA₃ a 5 ppm, GA₃ a 10 ppm, temperatura alta e temperatura baixa), e o segundo fator a cultivares (Bintje, Achat e Marijke). A partir das informações obtidas neste delineamento, efetuou-se o cálculo das médias nos diversos tratamentos e, aos gráficos correspondentes fez-se acompanhar os desvios padrões para cada tratamento. A discussão estatística procedida fez-se a partir dos resultados colocados em gráficos, com base nos desvios padrões existentes.

Para a produtividade biológica, usou-se um delineamento experimental planejado segundo uma classificação dupla cruzada, com 3 repetições; o primeiro fator referia-se a tratamentos (GA₃ a 5 ppm, GA₃ a 10 ppm, temperatura alta e temperatura baixa) e o segundo fator referia-se a cultivares (Bintje e Marijke). A análise estatística

procedida, seguiu o modelo convencional de Análise da Variância, discriminando-se os contrastes ortogonais segundo o interesse das comparações envolvidas (BROWLEE, 1965).

RESULTADOS

Condições de ensaio da α -amilase

O estudo da atividade α -amilásica, foi precedido da determinação das condições ótimas de ensaio, em extratos obtidos de tubérculos-semente de batata da cultivar Bintje, brotados naturalmente. A atividade α -amilásica apresentou-se máxima na faixa de pH entre 5,2 e 6,0, sendo escolhido o valor intermediário de 5,6 como o pH a ser utilizado para essa reação (Figura 1 A). Para que a reação enzimática se processasse em excesso de substrato, determinou-se a relação enzima-substrato. Da curva obtida ficou estabelecida a concentração de 0,30% do substrato (amidô), para 1,0 ml do extrato, sendo o volume final da reação de 2,0 ml (Figura 1 B). A atividade enzimática aumentou linearmente em função das crescentes quantidades de extrato (enzima bruta) na mistura da reação (Figura 1 C).

Efeitos dos tratamentos de quebra de dormência sobre a atividade amilásica

A atividade α -amilásica apresentou diferentes valores entre os tratamentos e entre as cultivares. O tratamento químico com GA_3 , nas duas concentrações usadas aumentou em 69% a atividade α -amilásica em relação ao controle, considerando as cultivares em conjunto. Entretanto, a concentração de 5 ppm deste hormônio, proporcionou um maior incremento na atividade desta enzima do que a concentração de 10 ppm, sendo que este incremento foi mais evidente na cultivar Achat do que nas demais (Tabela I e Figura 2). Os tratamentos físicos

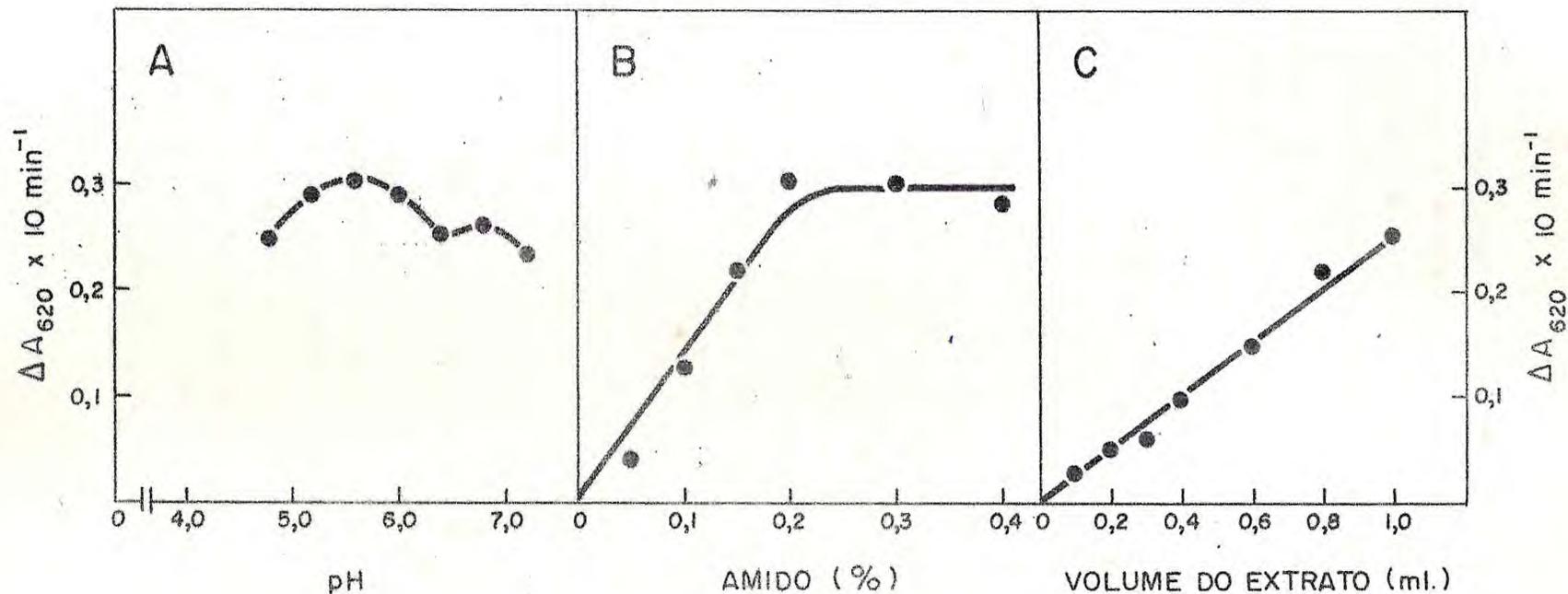


Figura 1 - Características da α -amilase extraída de tubérculos-semente de batata (Solanum tuberosum L.) da cultivar Bintje, brotados naturalmente. A : curva de pH para o ensaio da atividade α -amilásica, usando-se amido como substrato; B : curva de atividade α -amilásica em função de concentrações crescentes de substrato (amido), sendo o pH da mistura da reação 5,6; C : curva de atividade α -amilásica em função de quantidades crescentes de extrato (enzima bruta).

de temperatura, apresentaram-se menos eficientes do que os químicos, em induzir um incremento na atividade α -amilásica. Os tratamentos com as temperaturas alta e baixa nas cultivares Bintje e Achat, não tiveram efeito sobre a atividade desta enzima em relação ao controle. Entretanto, na cultivar Marijke, os tratamentos físicos aumentaram ligeiramente a atividade α -amilásica, sendo que a baixa temperatura foi mais eficiente (Tabela I e Figura 2).

Um decréscimo na atividade β -amilásica, foi observado nos extratos obtidos de tubérculos das cultivares Bintje e Achat tratados com GA_3 a 5 ppm, em relação ao controle, sendo que na cultivar Marijke este tratamento não afetou a atividade desta enzima. Por outro lado, o tratamento com GA_3 a 10 ppm proporcionou aos tubérculos, um aumento na atividade β -amilásica em todas as cultivares, em relação ao controle (Tabela I e Figura 3). Para os tratamentos físicos, observou-se que o tratamento à temperatura alta foi o responsável pelo maior incremento na atividade β -amilásica em todos os cultivares, sendo que este aumento foi mais acentuado na cultivar Marijke. O tratamento dos tubérculos a baixa temperatura, não afetou a atividade da β -amilase em relação ao controle (Tabela I e Figura 3). Em termos médios podemos afirmar que, os tratamentos que apresentaram um estímulo da atividade α -amilásica, ou não tiveram um efeito sobre a atividade β -amilásica ou a diminuíram.

Nos resultados obtidos para a atividade amilásica total, observou-se que os tratamentos químicos aumentaram ou não tiveram efeito sobre esta atividade enzimática, em relação ao controle. Nos tubérculos das cultivares Bintje e Marijke, a aplicação de GA_3 a 10 ppm resultou em um aumento na atividade amilásica total em relação ao controle, maior do que aquele proporcionado pelo tratamento com GA_3 a 5 ppm (Tabela I e Figura 4). Tratamento à temperatura alta possibilitou aos tubérculos, um aumento na atividade amilásica total em

TABELA I - Atividades α -amilásica (α), β -amilásica (β) e amilásica total (T), em tubérculos-semente de batata (Solanum tuberosum L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke ⁽¹⁾.

Tratamentos	Atividade Enzimática ($\Delta A_{620} \times 10 \text{ min.}^{-1}$) ⁽²⁾								
	Bintje			Achat			Marijke		
	α	β	T	α	β	T	α	β	T
Controle	0,089	0,217	0,306	0,084	0,176	0,260	0,076	0,207	0,283
GA ₃ 5 ppm	0,158	0,156	0,314	0,192	0,130	0,322	0,133	0,205	0,338
GA ₃ 10 ppm	0,115	0,255	0,340	0,123	0,207	0,330	0,119	0,261	0,380
Temp. alta	0,084	0,281	0,365	0,086	0,237	0,323	0,094	0,409	0,503
Temp. baixa	0,076	0,184	0,260	0,091	0,171	0,262	0,109	0,217	0,326

(1) Extrações feitas de tubérculos dormentes não tratados (controle) e 48 horas após os diferentes tratamentos.

(2) Valores médios de 3 repetições.

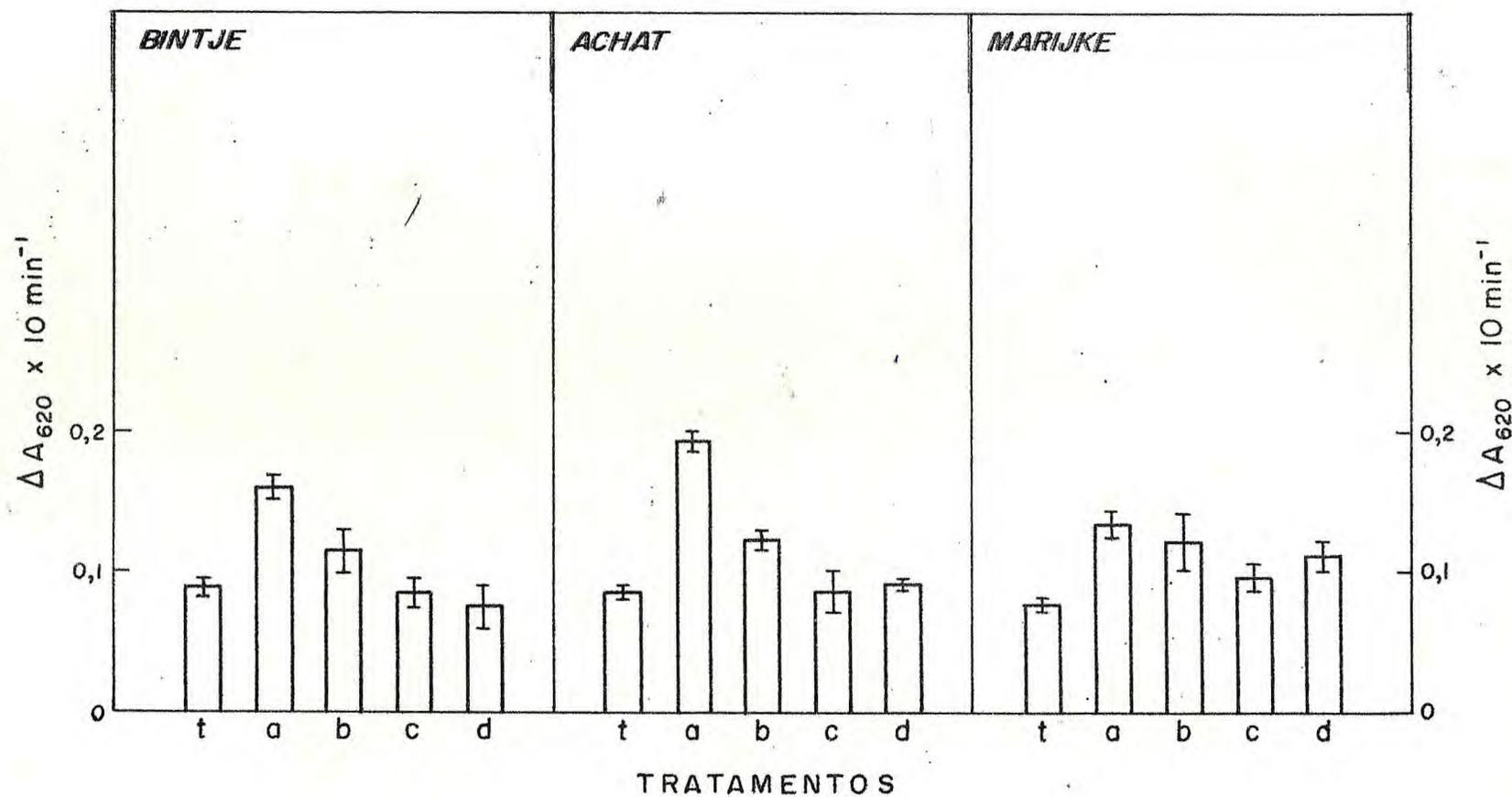


Figura 2 - Atividade α -amilásica em tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke. Controle (t); GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (|).

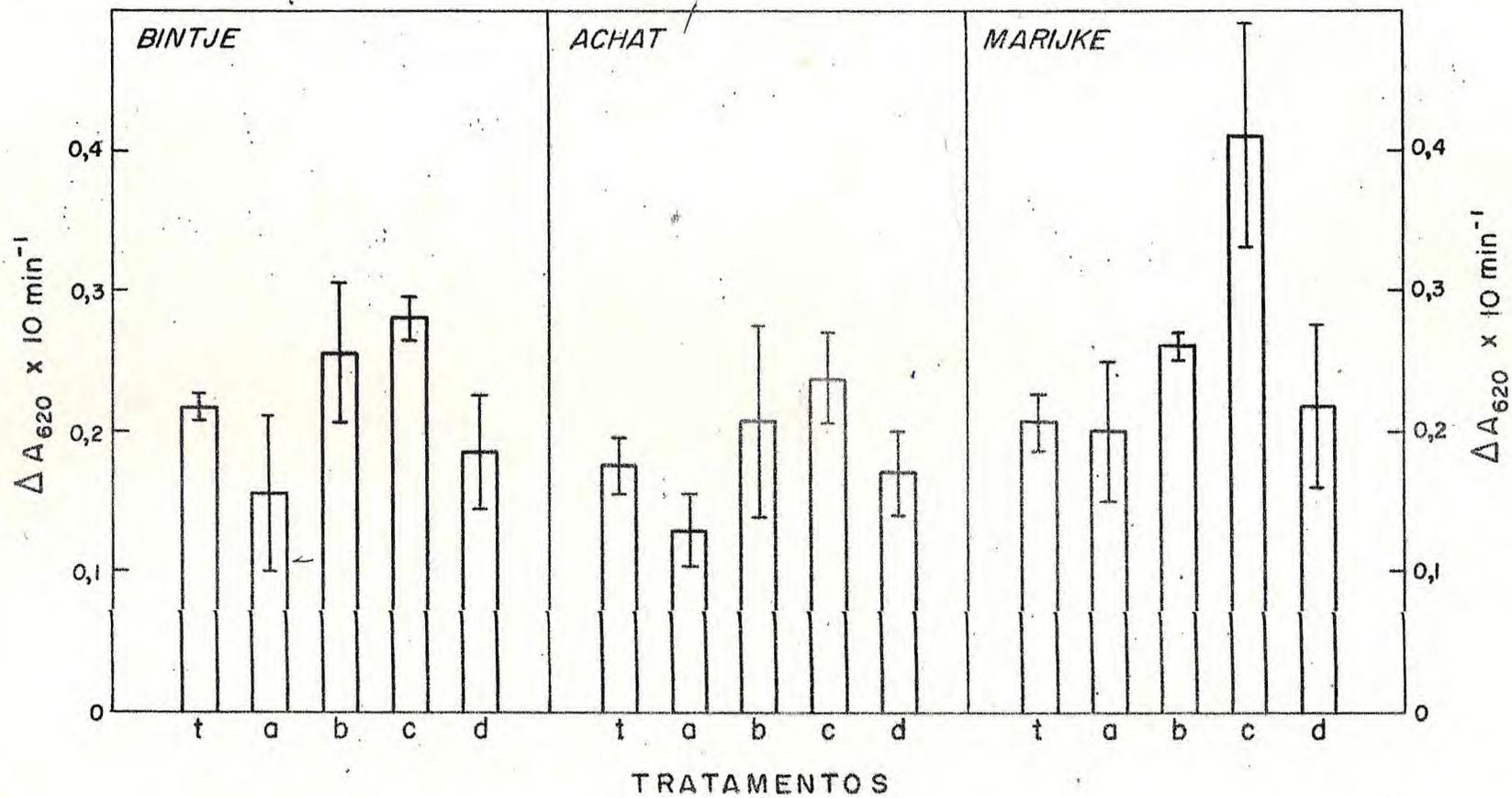


Figura 3 - Atividade β -amilásica em tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke. Controle (t); GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (|).

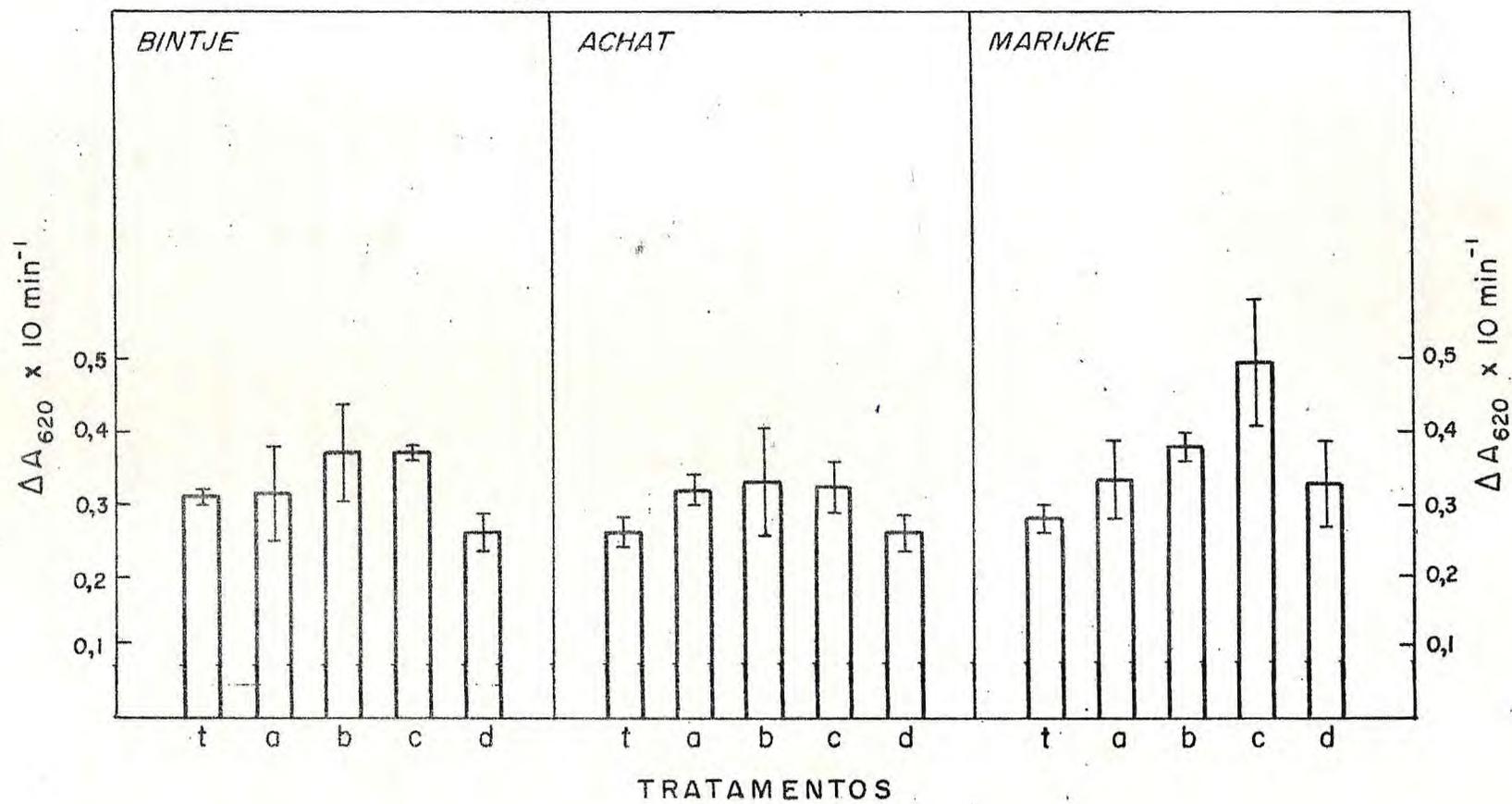


Figura 4 - Atividade amilásica total em tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke. Controle (t); GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (|).

relação ao controle, nas três cultivares estudadas. Por outro lado, o tratamento a baixa temperatura diminuiu, em relação ao controle, esta atividade amilásica dos extratos provenientes de tubérculos da cultivar Bintje. Entretanto, não houve diferença nas atividades amilásicas totais entre os tratamentos a baixa temperatura e o controle, no caso das cultivares Achat e Marijke (Tabela I e Figura 4).

Efeitos dos tratamentos de quebra de dormência sobre os teores de açúcares livres e de amido

Os teores de açúcares livres variaram entre os tratamentos, não se verificando o mesmo entre as cultivares, as quais não mostraram diferenças tão evidentes (Tabela II e Figura 5). Os tratamentos químicos aumentaram ligeiramente o teor de açúcares livres ou não apresentaram variação nestes constituintes, em relação ao controle. Os tubérculos provenientes dos tratamentos físicos, também mostraram um aumento no teor de açúcares livres, sendo que o aumento foi mais acentuado no tratamento a baixa temperatura (Tabela II e Figura 5).

Os teores de amido não variaram ou decresceram em relação ao controle, para todos os tratamentos nas três cultivares, sendo que o maior decréscimo verificou-se para o tratamento a baixa temperatura (Tabela II e Figura 6). Convém salientar que este tratamento foi o que proporcionou o maior teor em açúcares livres (Tabela II e Figura 5). Os valores de "blue value" nos diferentes tratamentos e nas três cultivares foram semelhantes aos de amido (Tabela II e Figuras 6, 7), sendo o coeficiente de correlação calculado para estes dois parâmetros da ordem de 0,95. O aumento no teor de açúcares livres para um decréscimo no teor de amido, apresentou um coeficiente de correlação de -0,68, considerando todos os tratamentos nas três cultivares (Tabela II).

TABELA II - Teores de açúcares livres (AL), de amido (A) e valor azul (VA), em tubérculos - semente de batata (Solanum tuberosum L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke ⁽¹⁾.

Tratamentos	CULTIVARES ⁽²⁾								
	Bintje			Achat			Marijke		
	AL ⁽³⁾	A ⁽³⁾	VA ⁽⁴⁾	AL ⁽³⁾	A ⁽³⁾	VA ⁽⁴⁾	AL ⁽³⁾	A ⁽³⁾	VA ⁽⁴⁾
Controle	3,40	124,86	0,124	5,10	102,81	0,102	6,26	110,14	0,104
GA ₃ 5 ppm	6,49	112,12	0,109	6,44	102,19	0,104	7,59	107,42	0,102
GA ₃ 10 ppm	4,02	117,15	0,126	5,50	85,13	0,083	6,79	99,57	0,099
Temp. alta	6,28	73,73	0,082	7,12	86,10	0,097	8,61	101,35	0,098
Temp. baixa	12,94	72,28	0,078	14,25	75,90	0,075	14,66	83,07	0,087

(1) Extrações feitas de tubérculos dormentes não tratados (controle) e 65 horas após os diferentes tratamentos.

(2) Valores médios de 3 repetições.

(3) Valores expressos em mg de glicose x grama de peso fresco⁻¹.

(4) Valores expressos em A₆₈₀.

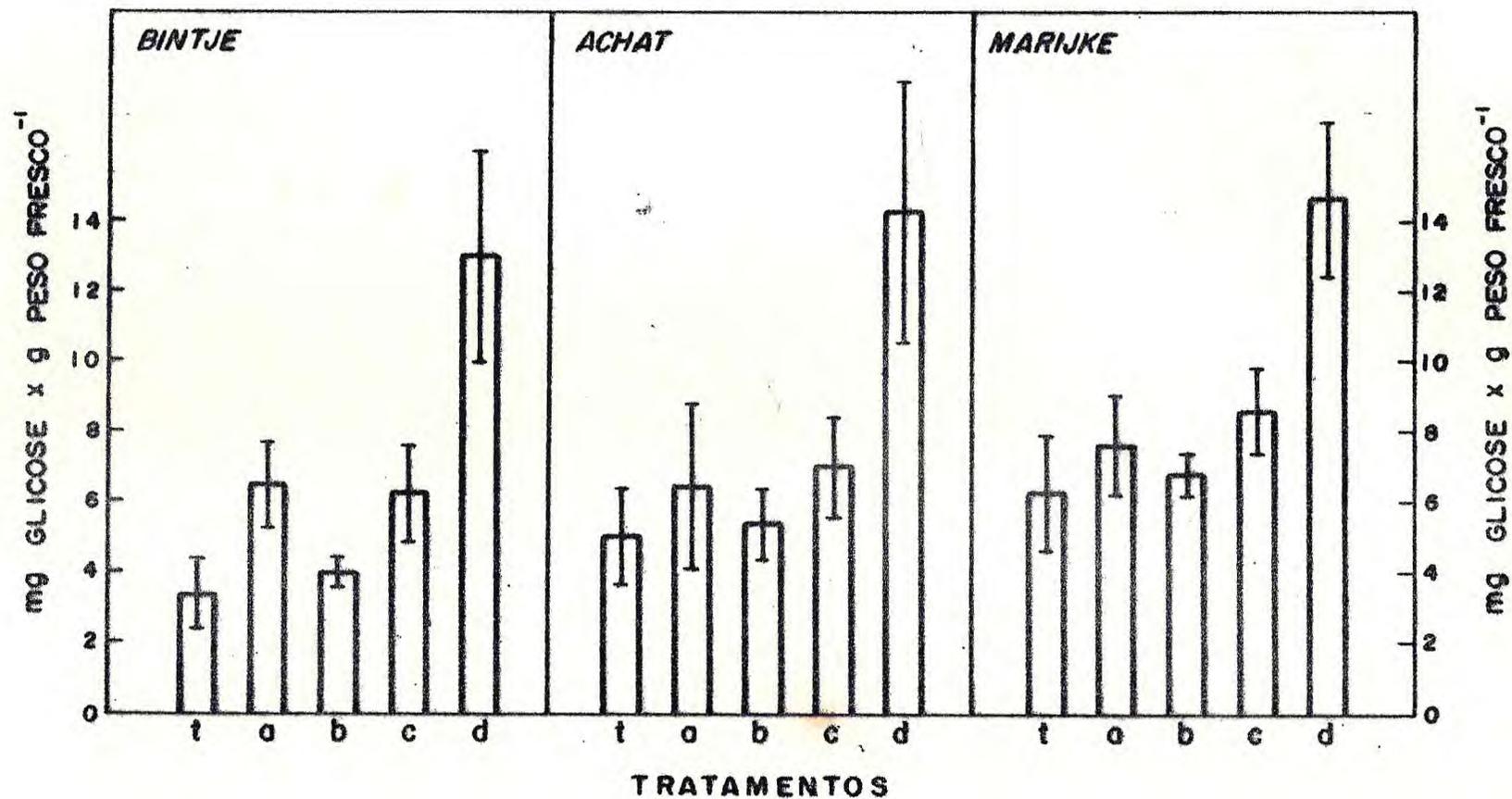


Figura 5 - Teores de açúcares livres em tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke. Controle (t); GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (I).

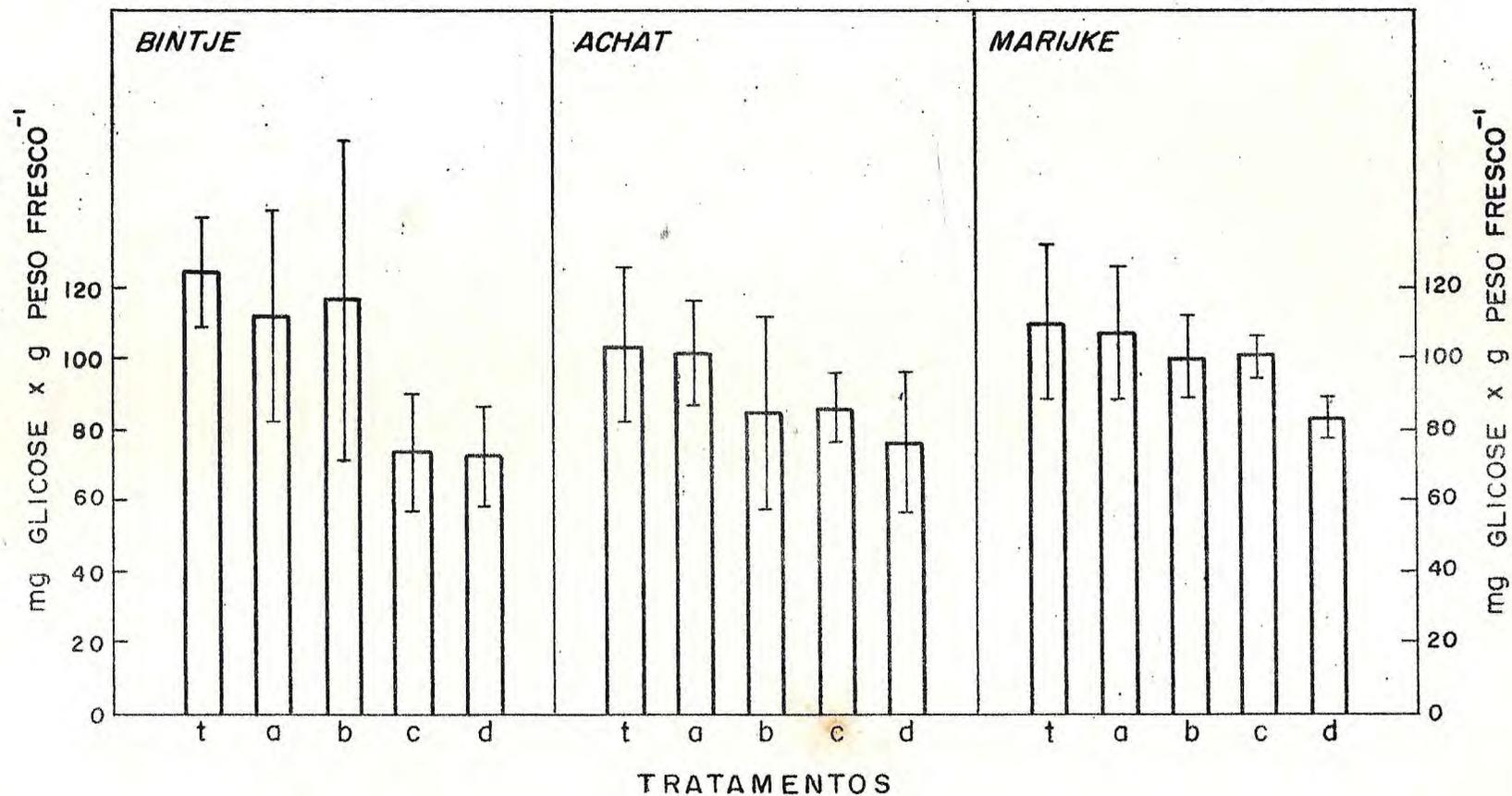


Figura 6 - Teores de amido em tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke. Controle (t); GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (|).

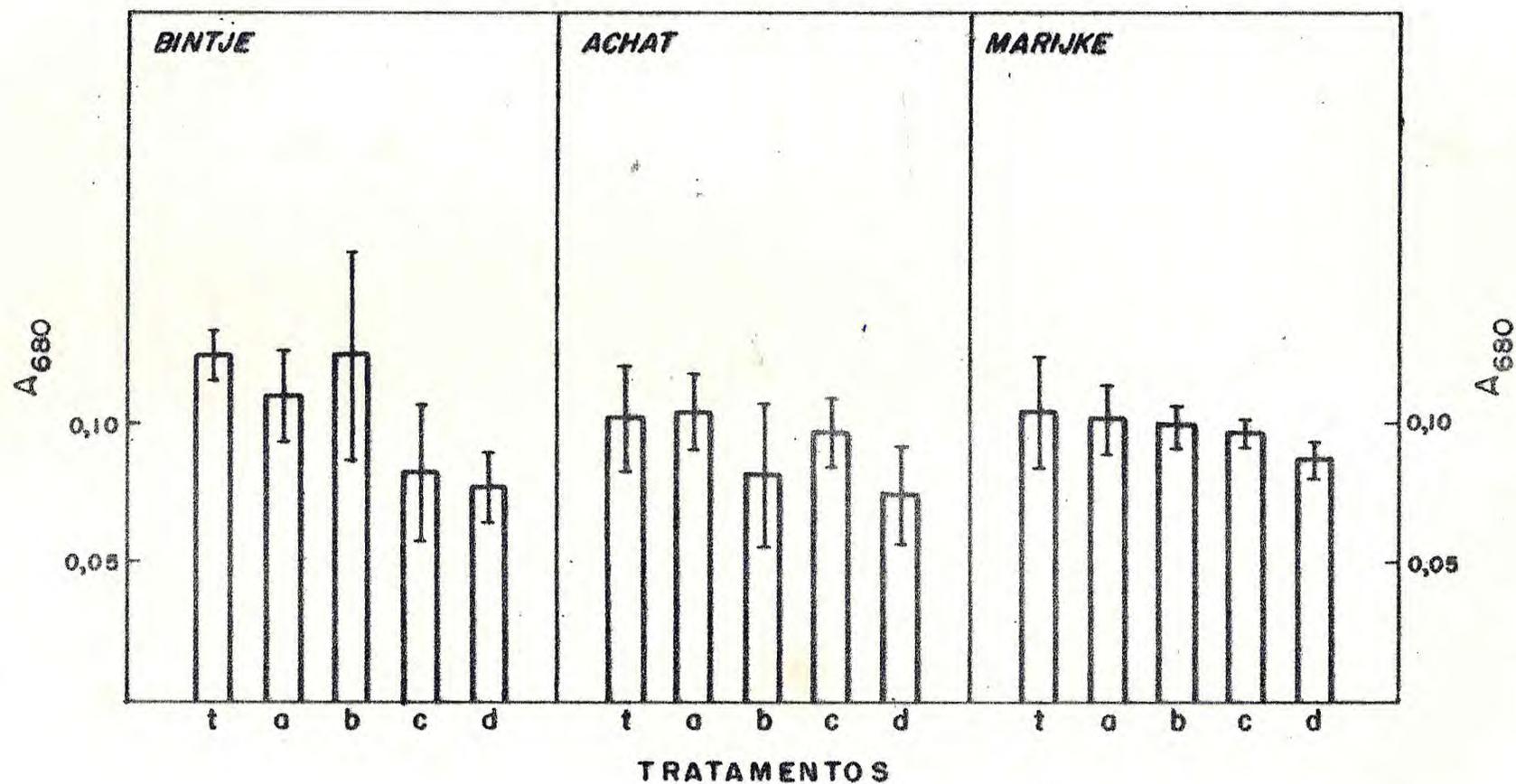


Figura 7 - Valor azul em extratos de amido obtidos de tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje, Achat e Marijke. Controle (t); GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (I).

Efeitos dos tratamentos sobre a dormência e aspectos da brotação

Apesar de não ter sido quantificado, o início da brotação variou nos diferentes tratamentos. Baseando-se em observações visuais, podemos afirmar que todos os tratamentos foram efetivos em provocar a brotação. Os tratamentos químicos provocaram uma brotação uniforme nas três cultivares estudadas, embora que alguns brotos tenham se apresentado ligeiramente "queimados". Os brotos provenientes de tubérculos tratados com GA_3 a 10 ppm foram os que apresentaram maior tamanho, quando comparados com os provenientes de tubérculos submetidos aos outros tratamentos. Em relação aos tratamentos físicos, os seus efeitos variaram em função da cultivar. O tratamento à temperatura alta foi mais efetivo em produzir uma brotação uniforme e com mais brotos por tubérculo para a cultivar Bintje. Já o tratamento à temperatura baixa, foi mais efetivo na cultivar Marijke, a qual apresentou brotos uniformes, no entanto, em menor número.

Efeitos dos tratamentos de quebra de dormência sobre a produtividade biológica

A produtividade biológica foi estudada somente nas cultivares Bintje e Marijke.

As taxas de assimilação líquida e de crescimento relativo apresentaram comportamentos semelhantes dentro das duas cultivares, para todos os tratamentos (Tabela III e Figuras 8, 9). A aparente superioridade do tratamento com GA_3 a 10 ppm sobre o com GA_3 a 5 ppm, bem como do tratamento de baixa temperatura sobre o de temperatura alta (Tabela III e Figuras 8, 9) não foi estatisticamente significativa (Tabela IV).

TABELA III - Taxa de assimilação líquida (TAL) e taxa de crescimento relativo (TCR) nas cultivares de batata (Solanum tuberosum L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência (1).

Tratamentos	TAL (mg . cm ⁻² . dia ⁻¹)		TCR (mg . g ⁻¹ . dia ⁻¹)	
	Bintje	Marijke	Bintje	Marijke
GA ₃ 5 ppm	3,97	3,67	106,8	98,7
GA ₃ 10 ppm	5,90	5,00	136,8	134,9
Temp. alta	3,93	3,83	89,9	98,5
Temp. baixa	4,67	4,87	105,0	130,4

(1) Valores médios de 3 repetições.

TABELA IV - Análise da variância para as taxas de assimilação líquida (TAL) e de crescimento relativo (TCR) das cultivares de batata (Solanum tuberosum L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência.

Causas de Variação	GL	T A L		T C R	
		QM	F	QM	F
Tratamentos	(3)	3,6	1,8 ns	2.005,2	1,8 ns
Cultivares	1	0,5	0,3 ns	218,4	0,2 ns
Interação (Tratamento x Cultiv.)	3	0,3	0,2 ns	323,8	0,3 ns
Resíduo	16	2,0	-	1.118,3	-

(ns) Estatisticamente não significativo ao nível de 5%.

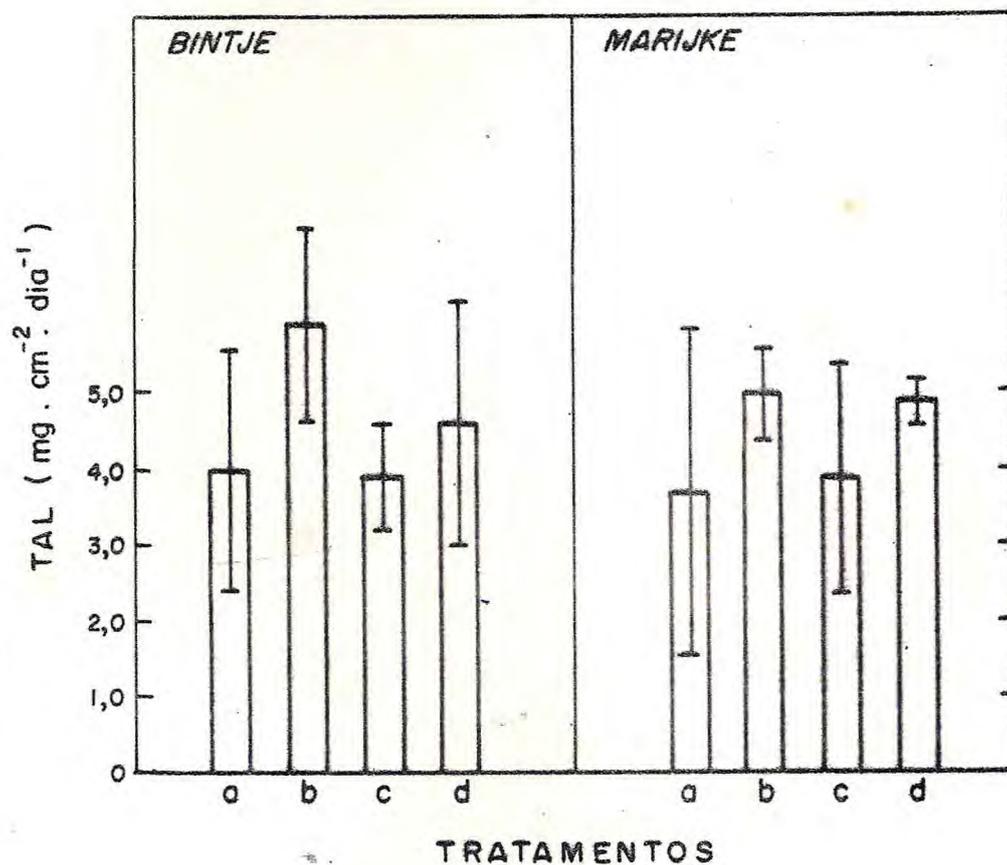


Figura 8 - Taxa de assimilação líquida (TAL) das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (Solanum tuberosum L.) das cultivares Bintje e Marijke. GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (|).

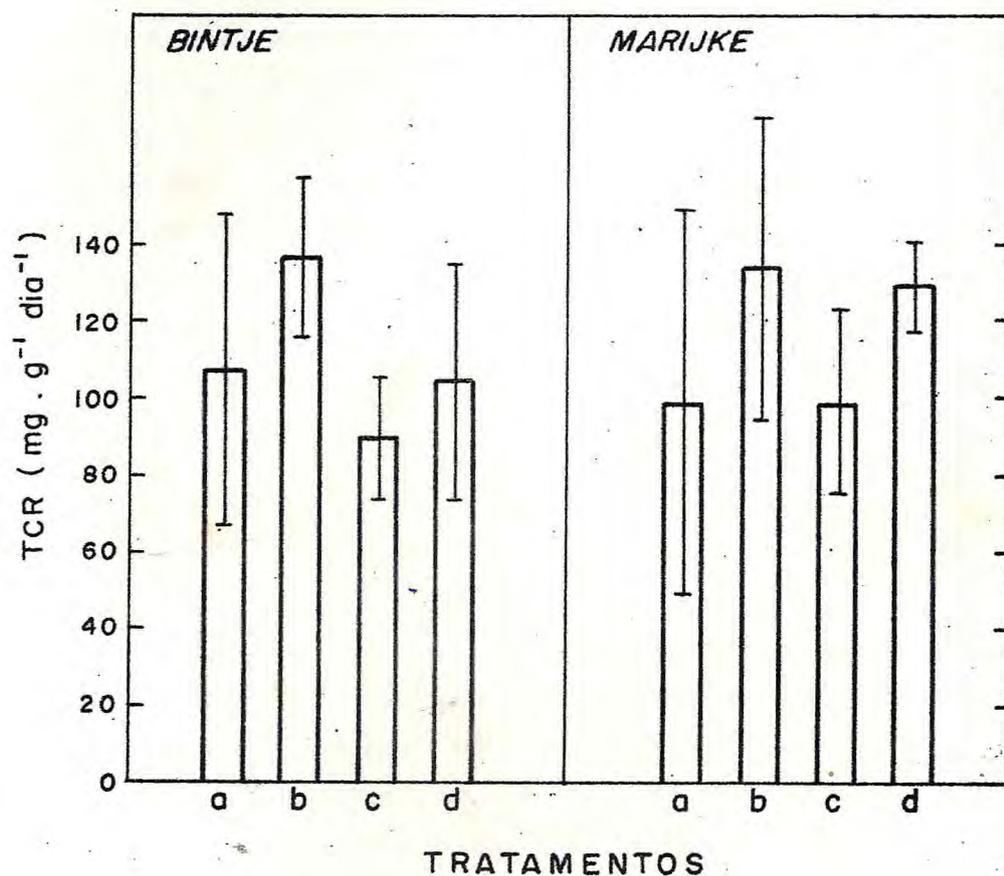


Figura 9 - Taxa de crescimento relativo (TCR) das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje e Marijke. GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (|).

As plantas das duas cultivares estudadas provenientes de tubérculos submetidos a tratamentos químicos, apresentaram valores de peso seco da parte aérea superior aos das provenientes de tubérculos submetidos a tratamentos físicos (Tabela V, VI e Figura 10). O peso seco da parte aérea não foi afetado pelo aumento na concentração de GA_3 , tanto na cultivar Bintje como na Marijke (Tabela VI e Figura 10). A interação estatisticamente significativa entre os tratamentos de temperatura, mostra que a cultivar Bintje apresentou uma maior resposta à temperatura alta e a cultivar Marijke à temperatura baixa (Tabelas V, VI e Figura 10).

O peso seco das raízes e estôlons comportou-se de maneira idêntica ao peso seco da parte aérea. As plantas provenientes de tubérculos submetidos a tratamentos químicos, nas duas cultivares estudadas, apresentaram valores de peso seco das raízes e estôlons superiores aos das plantas provenientes de tubérculos submetidos a tratamentos físicos (Tabela V, VI e Figura 11). O peso seco das raízes e estôlons não foi afetado pelo aumento na concentração de GA_3 , tanto na cultivar Bintje como na Marijke (Tabela VI e Figura 11). A interação estatisticamente significativa entre os tratamentos de temperatura, mostra que a cultivar Bintje apresentou uma maior resposta à temperatura alta e a cultivar Marijke à temperatura baixa (Tabelas V, VI e Figura 11).

A altura total média das hastes variou de modo semelhante ao peso seco da parte aérea e das raízes e estôlons. As plantas das duas cultivares estudadas originadas de tubérculos submetidos a tratamentos químicos proporcionaram valores de altura total média das hastes maiores que aqueles das plantas provenientes de tubérculos submetidos a tratamentos físicos (Tabela VII, VIII e Figura 12). A altura total média das hastes não foi afetada pelo aumento na concentração de GA_3 , tanto na cultivar Bintje como na Marijke (Tabela VII e Figura 12). A interação estatisticamente significativa entre os tratamentos

TABELA V - Peso seco da parte aérea (PA), das raízes e estôlons (RE) e de toda a planta (T), nas cultivares de batata (Solanum tuberosum L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubércu los submetidos a diferentes tratamentos (1).

Tratamentos	Peso seco (mg)					
	Bintje			Marijke		
	PA	RE	T	PA	RE	T
GA ₃ a 5 ppm	640	1.280	1.920	1.620	1.720	3.340
GA ₃ a 10 ppm	800	1.340	2.140	1.700	2.000	3.700
Temp. alta	680	1.170	1.850	780	860	1.640
Temp. baixa	440	930	1.370	1.230	1.270	2.500

(1) Valores médios de 3 repetições.

TABELA VI - Análise da variância para o peso seco da parte aérea e das raízes e estôlons, das cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência.

Causas de Variação	GL	parte aérea		raízes e estôlons	
		QM	F	QM	F
Tratamentos	(3)	358.348,6	9,7**	592.381,9	17,6**
Químicos vs Físicos	1	996.337,5	26,8**	1.669.537,5	49,7**
GA ₃ a 5 ppm vs GA ₃ a 10 ppm	1	45.633,3	1,2ns	88.408,3	2,6ns
Temp. alta vs Temp. baixa	1	33.075,0	0,9ns	19.200,0	0,6ns
Cultivares	1	2.835.937,5	76,4**	484.504,2	14,4**
Interação (Tratamento x Cultiv.)	3	244.793,1	6,6**	259.393,1	7,7**
Químicos vs Físicos	1	372.504,2	10,0**	429.337,5	12,8**
GA ₃ a 5 ppm vs GA ₃ a 10 ppm	1	4.800,2	0,1ns	35.208,3	1,1ns
Temp. alta vs Temp. baixa	1	357.075,0	9,6**	313.633,3	9,3**
Resíduo	16	37.125,0	-	33.579,2	-

(**) Estatisticamente significativo ao nível de 1%.

(ns) Estatisticamente não significativo ao nível de 5%.

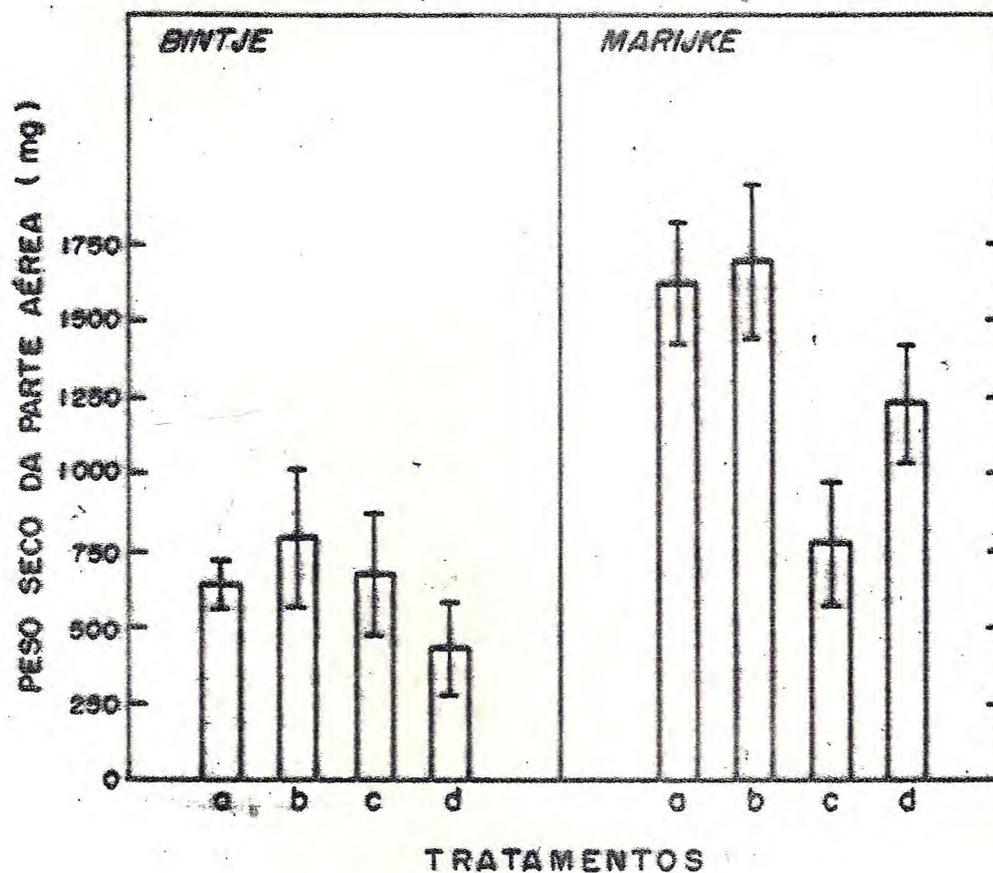


Figura 10 - Peso seco da parte aérea das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje e Marijke. GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (I).

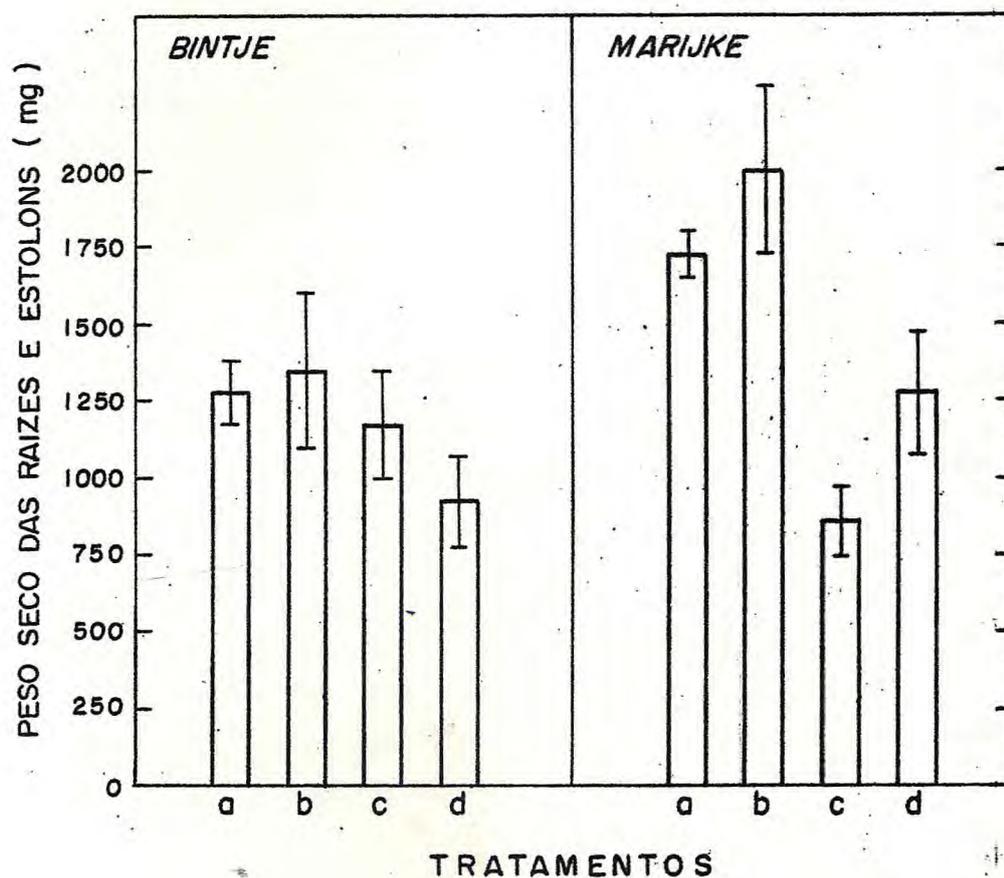


Figura 11 - Peso seco das raízes e estôlons das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje e Marijke. GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (I).

de temperatura, mostra que a cultivar Bintje apresentou uma maior resposta à temperatura alta e a cultivar Marijke à temperatura baixa (Tabelas VII, VIII e Figura 12).

O número médio de hastes das plantas provenientes de tubérculos tratados quimicamente, foi maior do que o das provenientes de tubérculos que foram submetidos a tratamentos físicos (Tabelas VII, VIII e Figura 13). O número médio de hastes não foi afetado quando se usou diferentes concentrações de GA_3 ou diferentes temperaturas (Tabela VIII).

TABELA VII - Número médio e altura total média das hastes, nas cultivares de batata (Solanum tuberosum L.) Bintje e Marijke, provenientes de tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência (1).

Tratamentos	número de hastes		altura (cm)	
	Bintje	Marijke	Bintje	Marijke
GA_3 a 5 ppm	2,8	5,8	24,8	83,3
GA_3 a 10 ppm	3,3	7,4	28,6	95,4
Temp. alta	2,7	5,2	27,3	44,6
Temp. baixa	2,4	4,8	17,7	64,6

(1) Valores médios de 3 repetições.

TABELA VIII - Análise da variância para o número médio e altura total média das hastes, nas cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.) Bintje e Marijke, provenientes dos tubérculos submetidos a diferentes tratamentos de quebra de dormência.

Causas de Variação	GL	número de hastes		altura	
		QM	F	QM	F
Tratamentos	(3)	3,6	3,8*	849,4	8,6**
Químicos vs Físicos	1	6,8	7,1*	2.277,6	23,1**
GA ₃ a 5 ppm vs GA ₃ a 10 ppm	1	3,6	3,8ns	190,4	1,9ns
Temp. alta vs Temp. baixa	1	0,4	0,4ns	80,1	0,8ns
Cultivares	1	54,6	56,9**	13.452,1	136,1**
Interação (Tratamento x Cultiv.)	3	0,9	1,0ns	703,3	7,1**
Químicos vs Físicos	1	-	-	1.401,5	14,2**
GA ₃ a 5 ppm vs GA ₃ a 10 ppm	1	-	-	51,3	0,5ns
Temp. alta vs Temp. baixa	1	-	-	657,1	6,7*
Resíduo	16	0,96	-	98,8	-

(**) Estatisticamente significativo ao nível de 1% e (*) ao nível de 5%.

(ns) Estatisticamente não significativo ao nível de 5%.

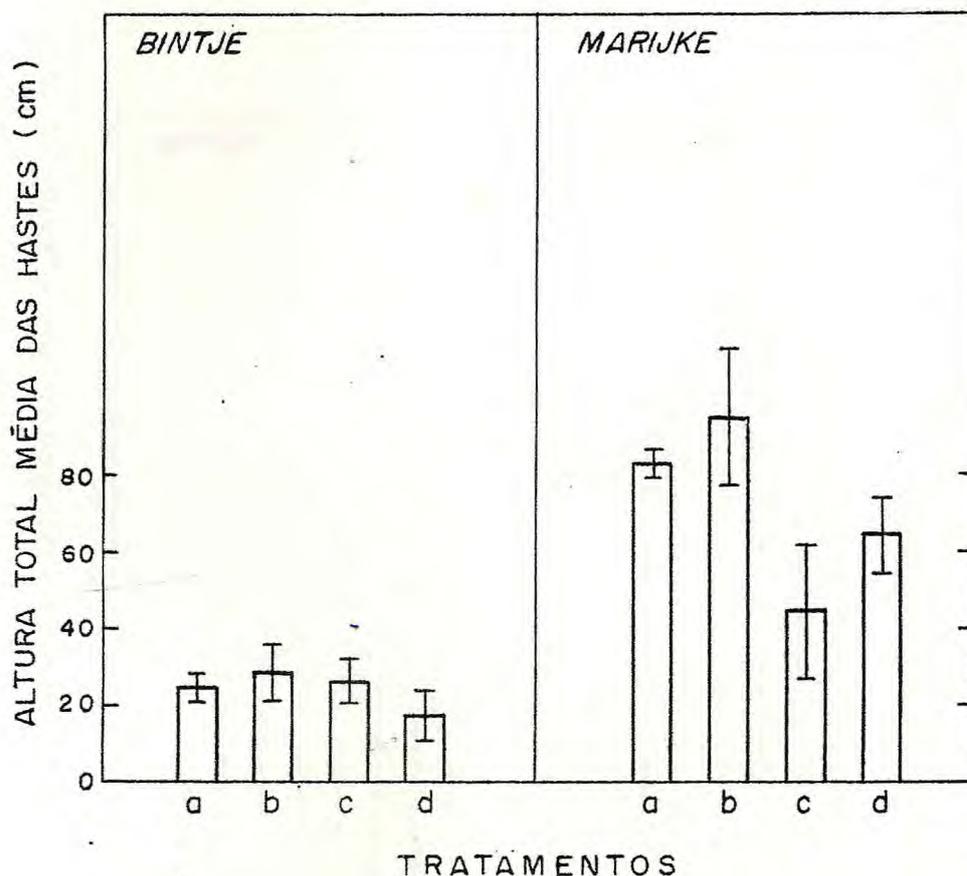


Figura 12 - Altura total média de hastes das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje e Marijke. GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão (|).

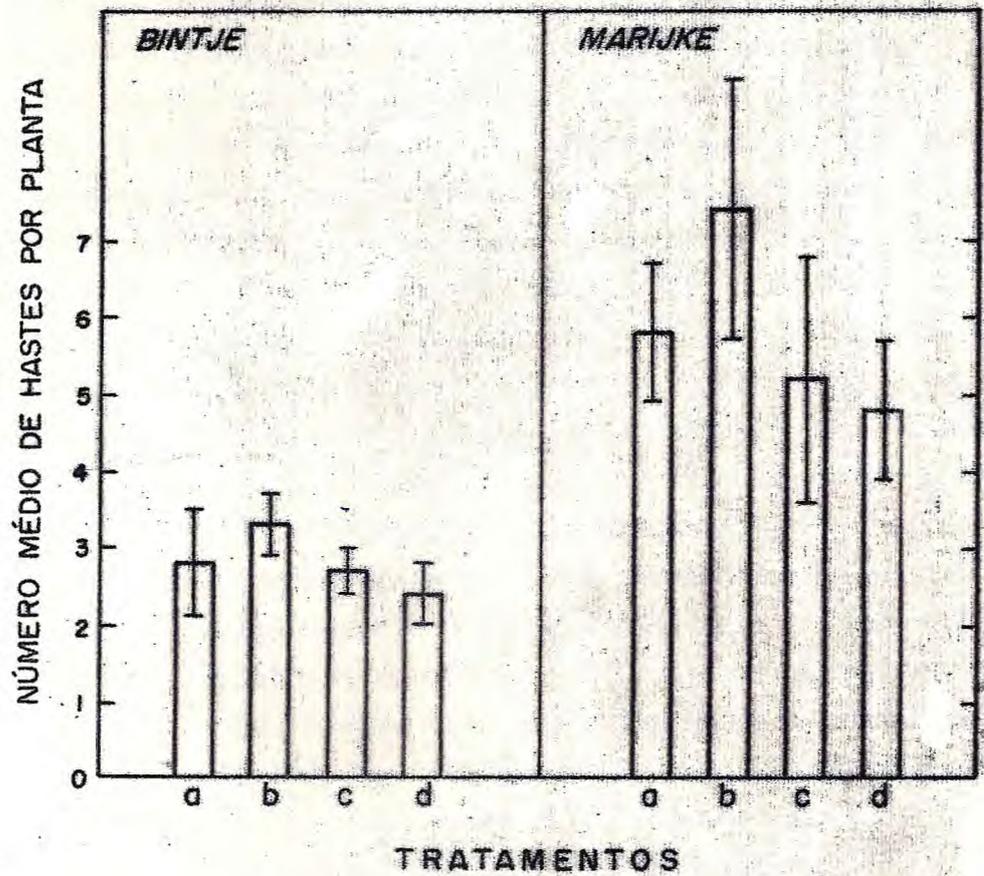


Figura 13 - Número médio de hastes das plantas originadas de tubérculos-semente de batata (*Solanum tuberosum* L.) das cultivares Bintje e Marijke. GA₃ a 5 ppm (a); GA₃ a 10 ppm (b); temperatura alta (c); temperatura baixa (d); desvio padrão ([).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os tratamentos químicos (ácido giberélico) e físicos (temperatura) utilizados para quebrar a dormência, apresentaram diferentes efeitos sobre a atividade amilásica em tubérculos de batata. Ao analisar a atividade α -amilásica em extratos obtidos de tubérculos tratados quimicamente, observou-se um aumento em relação ao controle, nas três cultivares estudadas (Tabela I e Figura 2). Este resultado é coerente com o obtido por CHEN & CHANG (1972), trabalhando com Avens fatua, os quais observaram um incremento na atividade amilásica após aplicação deste hormônio. Resultados também concordantes foram obtidos em tubérculos de batata (Solanum tuberosum L.), nos quais a atividade α -amilásica foi aumentada, 20 horas após a aplicação de GA_3 a 10^{-4} M (CLEGG & RAPPAPORT, 1970). A aplicação de GA_3 a 5 ppm, proporcionou um maior incremento na atividade α -amilásica em relação ao controle, do que a aplicação de GA_3 a 10 ppm (Tabela I e Figura 2). Este decréscimo na atividade α -amilásica, induzido por uma maior concentração deste hormônio, também foi observado em eixos embrionários de ervilha, tratados com GA_3 (LOCKER & ILAN, 1975). Os tratamentos físicos foram menos eficientes do que os químicos, no que diz respeito ao incremento na atividade α -amilásica (Tabela I e Figura 2).

Em termos médios podemos afirmar que, os tratamentos que apresentaram um estímulo da atividade α -amilásica, ou não tiveram um efeito sobre a atividade β -amilásica ou a diminuíram (Tabela I e Figuras 2, 3). Como decorrência disto, os tratamentos químicos aumentaram ou não tiveram nenhum efeito na atividade amilásica total, em relação ao controle. Considerando os tratamentos físicos, observou-se que eles aumentaram ou diminuíram a atividade amilásica total, em relação ao controle (Tabela I e Figura 4). Estes resultados sugerem que, provavelmente, o aumento em atividade amilásica não é a causa do proces

so de brotação, mas o seu efeito. Esta conclusão nos parece válida, pois CHEN & CHANG (1972) estudando os efeitos do GA_3 na quebra de dormência de sementes de Avena fatua, observaram que a germinação precedeu ao aumento em atividade amilásica. Resultados também concordantes foram obtidos por DENNY, MILLER & GUTHRIE, 1930; DENNY, 1931, 1932; MILLER, 1931, citados por HEMBERG (1965), os quais observaram que em tubérculos de batatas dormentes, após a aplicação de cloridrato de etilênica a atividade amilásica foi aumentada, entretanto, este aumento foi consequência indireta desta substância, visto que, ela não teve efeito sobre a atividade desta enzima "in vitro".

O aumento no teor de açúcares livres, proporcionado pelo tratamento químico em relação ao controle (Tabela II e Figuras 5, 6), parece ser consequência de aumento na atividade α -amilásica (Tabela I e Figura 2). Estes resultados concordam com aqueles obtidos por CLEGG & RAPPAPORT (1970) em tubérculos de batata. Eles observaram que 20 horas após a aplicação de GA_3 havia um aumento na atividade α -amilásica, que veio acompanhado por um acréscimo no teor de açúcares reductores. Observaram ainda que este teor aumentou proporcionalmente ao logaritmo da concentração de GA_3 , no intervalo de 10^{-8} a 10^{-4} M e decresceu ligeiramente quando a concentração desta substância foi aumentada para 10^{-3} M.

Os tratamentos com as temperaturas alta e baixa, proporcionaram um acréscimo no teor de açúcares livres e decréscimo no teor de amido, em relação ao controle, sendo mais acentuado no tratamento à temperatura baixa (Tabela II e Figuras 5, 6). Este aumento induzido pela alta temperatura, parece ser consequência de um incremento na atividade β -amilásica, uma vez que a atividade α -amilásica ou permaneceu inalterada ou aumentou ligeiramente, em relação ao controle (Tabela I e Figuras 2, 3). Já o aumento no teor de açúcares livres proporcionado pelo tratamento à temperatura baixa, não se fez acompanhar

de incremento em atividade amilásica (Tabelas I, II e Figura 4). Resultados semelhantes foram obtidos por OHAD *et al.* (1971), que observaram, além do descrito acima, um decréscimo no teor de amido e mudanças nas propriedades e composição das membranas dos amiloplastos. Segundo estes autores, estas mudanças na membrana do amiloplasto, exercem influência na degradação do amido, possivelmente permitindo o seu contato com as enzimas degradativas. Deste modo, o aumento no teor de açúcares livres pode ser melhor explicado pelos efeitos exercidos pela baixa temperatura sobre a membrana dos amiloplastos, do que por um aumento na atividade amilásica.

A grande variação no teor de açúcares livres induzida pelos diferentes tratamentos, parece mostrar que não é um fator primário no processo de quebra de dormência. O aumento seria consequência de um incremento na atividade enzimática ou de mudanças morfológicas nas membranas do amiloplasto. Comparando-se os teores de açúcares livres com as taxas de assimilação líquida e de crescimento relativo (Tabelas II e III), observou-se que não há qualquer relação de proporcionalidade. Idêntica conclusão se obteve, quando comparou-se os teores de açúcares livres com os obtidos para o peso seco da parte aérea, das raízes e estôlons, altura e número de hastes (Tabelas II, V e VII).

Pelo exposto acima e pelas observações visuais da brotação, verificou-se que o crescimento vegetativo, provavelmente estaria na dependência das características físicas dos brotos, principalmente número e tamanho. Deste modo, o tratamento dos tubérculos com GA_3 , talvez por induzir uma maior divisão e alongamento celulares, produziu brotos maiores e em maior número. Resultados semelhantes foram obtidos por BRUINSMA & SWART (1970) que observaram estes aumentos em tubérculos de primeira colheita, isto é, após os tubérculos da planta mãe serem tratados com GA_3 . As plantas provenientes dos tubérculos com brotos maiores emergiram mais cedo e conseqüentemente passaram a

fotossintetizar antes das plantas dos demais tratamentos, conforme verificado por HARTMAN (1934). Esta observação foi confirmada quando se analisou o peso seco da parte aérea, o das raízes e estôlons, e a altura e o número de hastes. As plantas originadas dos tubérculos tratados quimicamente, apresentaram valores de peso seco da parte aérea, das raízes e estôlons e de número e altura das hastes, maiores do que os das provenientes de tubérculos submetidos a tratamentos físicos (Tabelas VI e VIII). Tendo em vista que, de cada haste forma-se um sistema radicular individual, um maior número de hastes proporcionaria uma maior formação de raízes. Isto foi confirmado pela análise estatística e pelo alto coeficiente de correlação (0,99) entre os valores obtidos para o peso seco das raízes e estôlons e, o número de hastes, proporcionado pelo tratamento químico dos tubérculos (Tabelas V e VII). Entre os valores do peso seco da parte aérea e os das raízes e estôlons, os coeficientes de correlação foram de 0,95 para o tratamento químico e de 0,66 para o físico (Tabela V). Esta alta correlação proporcionada pelo tratamento químico, está em concordância com os resultados obtidos por GRECHUSNIKOV *et al.* (1964, citado por SMITH, 1968), que mostraram uma correlação positiva entre o tratamento de tubérculos de batata com GA_3 e, a capacidade de absorção do sistema radicular e a taxa de fotossíntese.

Para o peso seco da parte aérea e das raízes e estôlons, a interação entre os tratamentos e as cultivares, mostrou-se significativa entre os tratamentos químicos e os físicos, e entre as temperaturas alta e baixa. Entretanto, não foi observada entre as concentrações de GA_3 (Tabela VI). Idêntico resultado foi obtido para a altura das hastes, o mesmo não acontecendo para o número de hastes, cuja interação não foi significativa (Tabela VIII). A interação significativa é consequência das diferentes respostas das cultivares aos tratamentos físicos. As plantas da cultivar Bintje apresentaram maiores valores para o peso seco da parte aérea, das raízes e estôlons e para

a altura das hastes, para o tratamento dos tubérculos à temperatura alta. Entretanto, as plantas da cultivar Marijke proporcionaram maiores valores para as mesmas variáveis, para o tratamento à temperatura baixa. Por outro lado, as plantas provenientes dos tratamentos químicos, mostraram a mesma resposta para as variáveis citadas, dentro das duas cultivares, ou seja, em ambas as cultivares a aplicação de GA_3 nas duas concentrações usadas, proporcionou resposta semelhante (Tabelas V e VII).

Do exposto acima, podemos afirmar que os tratamentos químicos foram superiores aos tratamentos físicos, em proporcionar às plantas formadas, uma maior utilização das reservas do tubérculo. Esta superioridade pode ser evidenciada pelas seguintes razões:

- . pouco tempo requerido para a aplicação do GA_3 ;
- . a brotação alcançada em poucos dias;
- . facilidade de execução, em relação aos tratamentos de temperatura;
- . a mesma resposta para o crescimento vegetativo em ambas as cultivares;
- . os maiores valores para as variáveis da produtividade biológica.

Entretanto, esta superioridade dependerá dos objetivos da cultura, pois os tratamentos químicos ao induzirem a formação de um maior número de hastes proporcionaria um maior número de tubérculos por planta, com um menor peso médio (AKIYAMA, 1963, citado por SMITH, 1968), SMELTZER & MACKAY, 1963, HOLMES et al., 1970, PERENNEC & CROSNIER, 1971).

Das cultivares estudadas, a que apresentou melhor desempenho no que diz respeito à produtividade biológica, foi a Marijke. Isto pode ser atribuído ao maior peso médio dos tubérculos da cultivar Marijke (75 g), para um menor peso médio (54 g) da cultivar Bintje. Os tubérculos com um maior peso proporcionam um maior desenvolvimento da planta, conforme observado por ROZIER-VINOT, (1971). Entretanto, dentro de cada cultivar as variações nos pesos dos tubérculos foram mínimas, desprezando-se inclusive a análise da covariância.

RESUMO

No presente trabalho foram estudados os efeitos dos tratamentos químicos (GA_3 a 5 e a 10 ppm) e físicos (temperaturas alta e baixa), na quebra de dormência, na atividade amilásica, nos teores de açúcares livres, de amido e na produtividade biológica de tubérculos de batata (Solanum tuberosum L.).

Nas análises químicas foram utilizados tubérculos-semente das cultivares Bintje, Achat e Marijke. As extrações para o ensaio das atividades enzimáticas e determinação dos teores de açúcares livres e de amido, foram feitas de tubérculos dormentes não tratados (controle) e, 48 e 65 horas, respectivamente, após os tratamentos. Os resultados obtidos mostraram que os tratamentos físicos foram menos eficientes do que os químicos, no que diz respeito ao incremento na atividade α -amilásica. Os tratamentos que apresentaram um estímulo da atividade α -amilásica, ou não tiveram um efeito sobre a atividade β -amilásica, ou a diminuíram. Os tratamentos físicos aumentaram ou diminuíram a atividade amilásica total, em relação ao controle. Estes resultados sugerem que, provavelmente, o aumento em atividade amilásica não é a causa do processo da brotação, mas o seu efeito. Os tubérculos provenientes dos tratamentos químicos, apresentaram aumento no teor de açúcares livres em relação ao controle, o que parece ser consequência de um aumento na atividade α -amilásica. Os tratamentos físicos também proporcionaram acréscimo no teor de açúcares livres, sendo que, o induzido pela baixa temperatura não se fez acompanhar por um aumento na atividade amilásica. Este aumento no teor de açúcares livres, foi interpretado como sendo devido aos efeitos da baixa temperatura nas propriedades e composição das membranas dos amiloplastos, possibilitando assim, o contato do amido com as enzimas hidrolíticas.

Na análise da produtividade biológica foram utilizados tubérculos-semente das cultivares Bintje e Marijke, que foram cultivados em vasos contendo vermiculite. Foram determinadas as seguintes variáveis: taxa de assimilação líquida, taxa de crescimento relativo, peso seco da parte aérea, das raízes e estôlons, altura total média e número médio de hastes. Observou-se que não há qualquer relação de proporcionalidade entre os teores de açúcares livres e a produtividade biológica. O crescimento vegetativo parece estar na dependência das características físicas dos brotos, principalmente, número e tamanho.

Os tratamentos químicos foram superiores aos físicos, em proporcionar às plantas formadas, uma maior utilização das reservas do tubérculo. Todavia, esta superioridade dependerá dos objetivos da cultura, pois os tratamentos químicos ao induzirem um maior número de hastes, proporcionariam um maior número de tubérculos por planta, com um menor peso médio.

A cultivar Marijke apresentou um melhor desempenho no que diz respeito à produtividade biológica, em relação a cultivar Bintje, que foi interpretado como sendo devido ao maior peso médio dos tubérculos da cultivar Marijke.

LITERATURA CITADA

- BENNET-CLARK, T. A. & KEFFORD, N. P. 1953. Chromatography of the growth substances in plant extracts. Nature, 171 : 645 - 647.
- BOO, L. 1961. The effect of gibberellic acid on the inhibitor β complex in resting potato. Physiol. Plant., 14 : 676 - 681.
- BOOCK, O. J. 1975. Instruções para a cultura da Batatinha. Instituto Agrônomo de Campinas, Boletim nº 128, 80 pp.
- BOOCK, O. J. & NÓBREGA, S. A. 1963. Ambiente de armazenamento das batatas-semente e reflexo sobre a cultura. Bragantia, 22 : 623 - 634.
- BROWLEE, K. A. 1965. Statistical Theory and Methodology in Science and Engineering, John Wiley, New York, U.S.A., 590 pp.
- BRUINSMA, J. 1962. A survey of recent Japanese research on dormancy in potato tubers. Eur. Potato J., 5 : 195 - 203.
- BRUINSMA, J. & SWART, J. 1970. Estimation of the course of dormancy of potato tubers during growth and storage, with the aid of gibberellic acid. Potato Research, 13 : 29 - 40.
- CHEN, S. S. C. & CHANG, J. L. L. 1972. Does gibberellic acid stimulate seed germination via amylase synthesis? Plant Physiol., 49 : 441 - 442.
- CLEGG, M. D. & RAPPAPORT, L. 1970. Regulation of bud rest in tubers of potato, *Solanum tuberosum* L. VI. Biochemical changes induced in excised potato buds by gibberellic acid. Plant Physiol., 45 : 8 - 13.

- DAVIS, E. N. 1949. Growing potatoes in California. California Agric. Ext. Serv., Circular 154, 22 pp.
- GALSTON, A. W. & DAVIES, P. J. 1972. Mecanismos de Controle no Desenvolvimento Vegetal. Tradução, Marico Meguro. São Paulo, Edgard Blucher, Ed. da Universidade de São Paulo, 171 pp.
- HARTMAN, J. D. 1934. Studies of the effects of storage temperature on the propagation value of potato tubers. Agric. Exper. Sta., Cornell University, Ithaca, New York, U.S.A., 39 pp.
- _____ 1958. The significance of the inhibitor β complex in the rest period of the potato tuber. Physiol. Plant., 14 : 615 - 626.
- _____ 1965. The significance of inhibitors and other factors of plant origin in the induction and breaking of rest periods. Encyclopedia of Plant Physiology, 15 : 669 - 698.
- HEMBERG, T. & LARSSON, I. 1961. The inhibitor β complex from resting potato tubers as an inhibitor of α -amylase. Physiol. Plant., 14 : 861 - 867.
- HOLMES, J. C., LANG, R. W. & SINGH, A. K. 1970. The effect of five growth regulators on apical dominance in potato seed tubers and on subsequent tuber production. Potato Research, 13 : 342 - 352.
- JONES, R. L. 1973. Gibberellins: their physiological role. Ann. Rev. Plant Physiol., 24 : 571 - 598.
- LOCKER, A. & ILAN, I. 1975. On the nature of hormonal regulation of amylase activity in cotyledons of germinating peas. Plant and Cell Physiol., 16 : 449 - 454.

- MARINOS, N. G. & HEMBERG, T. 1960. The growth of the potato. Physiol. Plant., 24 : 135 - 148.
- MCCREADY, R. M., GUGGOLZ, J., SILVEIRA, V. & OWENS, H. S. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. Anal. Chem., 22 : 1.156 - 1.158.
- OHAD, I., FRIEDBERG, I., NE'EMAN, ZVI & SCHRAMM, M. 1971. Biogenesis and degradation of starch. I. The fate of the amyloplast membranes during maturation and storage of potato tubers. Plant Physiol., 47 : 465 - 477.
- PERENNEC, P. & CROSNIER, J. 1971. Effect of treating potato plants with GA on yields and distribution of the crop into tubers of various sizes. La Pomme de Terre Française, 33 : 21 - 35. Station D'Amélioration de La Pomme de Terre, INRA, 29, Lan derneau, France.
- RADFORD, P. J. 1967. Growth analysis formulae. Their use and abuse. Crop Science, 7 : 171 - 175.
- RAPPAPORT, L. & WOLF, N. 1968. Regulation of bud rest in tubers of potato, Solanum tuberosum L. IV. Gibberellins and nucleic acid synthesis in excised buds. Proc. Int. Symp. Plant Biochem. Reg. Viral and other Diseases or Injury, Tokyo, Japan, p. 203 - 211.
- ROSS, C. W. 1974. Plant Physiology Laboratory Manual. Wadsworth Publishing Company, Inc. Belmont, California, U.S.A., 200 pp.
- ROZIER-VINOT, C. 1971. Certain aspects of the influence of the seed tuber and number of stems of the growth of the potato plant. Potato Research, 14 : 219 - 231.

- SHIH, C. Y. & RAPPAPORT, L. 1970. Regulation of bud rest in tubers of potato, *Solanum tuberosum* L. VII. Effect of abscisic and gibberellic acids on nucleic acid synthesis in excised buds. Plant Physiol., 45 : 33 - 36.
- SMELTZER, G. G. & MACKAY, D. C. 1963. The influence of gibberellic acid seed treatment and seed spacing on yield and tuber size of potatoes. Am. Potato J., 40 : 337 - 380.
- SMITH, O. E. 1968. Potatoes: Production, Storing, Processing. The Avi Publ. Comp. Inc., New York, U.S.A., p. 16 - 57.
- STUART, W. & MILSTEAD, E. H. 1934. Shortening the rest period of the potato. U.S.D.A., Technical Bulletin, N^o 415, Washington, D.C., U.S.A., 31 pp.
- SWAIN, R. R. & DEKKER, E. E. 1966. Seed germination studies. I. Purification and properties of an α -amylase from the cotyledons of germinating peas. Biochim. Biophys. Acta, 122 : 75 - 86.
- TUAN, D. Y. H. & BONNER, J. 1964. Dormancy associated with repression of genetic material. Plant Physiol. 39 : 768 - 772.
- WRIGTH, R. C. & PEACOCK, W. M. 1934. Influence of storage temperatures on the rest period and dormancy of potatoes. U.S.D.A., Technical Bulletin, N^o 424, Washington, D.C., U.S.A., 21 pp.