

Caracterização morfológica e mobilização de reservas durante os estádios iniciais de desenvolvimento de plântulas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp

Morphologic characterization and mobilization of stored seed reserves during initial development of *Vigna unguiculata* (L.) Walp seedlings

Marlos Alves Bezerra¹, José Donizeti Alves², Luiz Edson Mota de Oliveira² e José Tarquínio Prisco³

RESUMO

Sementes de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) foram postas para germinar e, em decorrência das mudanças morfológicas que ocorreram durante o processo de germinação e estabelecimento das plântulas, determinaram-se oito estádios de desenvolvimento, dos quais elegeram-se quatro estádios, nos quais os cotilédones apresentavam-se ainda fechados, para o estudo de mobilização das reservas. Ao atingirem os estádios de desenvolvimento I, II, III e IV, as sementes e as plântulas dos cultivares Vita 3 e Vita 5 foram separadas em eixo e cotilédones, para observação das mudanças bioquímicas. Ao longo dos estádios de desenvolvimento, o teor de proteínas solúveis totais decresceu nos eixos do cultivar Vita 3 e nos cotilédones do cultivar Vita 5. Os teores de aminoácidos nos eixos embrionários dos dois cultivares mostraram, inicialmente, aumento, seguido de decréscimo. Quanto aos teores de açúcares, para os dois cultivares, houve decréscimo do amido nos cotilédones a partir do estágio II, acompanhado de aumento, tanto dos açúcares solúveis totais quanto dos açúcares redutores, nos eixos embrionários do estágio IV.

Termos para indexação: feijão-de-corda, mobilização de proteínas, mobilização de carboidratos.

ABSTRACT

Seeds of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) were sown and in result of morphologic changes that had occurred during the germination process and seedlings establishment was determined eight development stages. Four stages, in which the cotyledons still closed, were chosen for the study of mobilization of stored seed reserves. When reaching the development stages I, II, III and IV, the seeds and seedlings of Vita 3 and Vita 5 cultivars were separate in axis and cotyledons for the observation of biochemical changes. Along the development stages the total soluble proteins contents decreased in the axis of Vita 3 and in the cotyledons of Vita 5. Amino acids contents in the embryonic axis of two cultivars showed initially an increase, followed by a decrease. With regard to the sugars contents, for two cultivars there was decrease of starch in the cotyledons from stage II, accompanied of an increase in such total soluble sugars and reducing sugars in the embryonic axis of stage IV.

Index terms: cowpea, protein mobilization, carbohydrate mobilization.

¹ Eng. Agrônomo, D.Sc., Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Caixa Postal 1761, CEP 60511-110 Fortaleza, CE. E-mail: marlos@cnpat.embrapa.br

² Eng. Agrônomo, D.Sc., Professor do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

³ Eng. Agrônomo, Ph.D., Professor do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

Introdução

O processo de germinação e estabelecimento das plântulas, etapa mais crítica dentre as fases de desenvolvimento vegetal, inicia-se com a embebição de água pelas sementes. Em seguida, o metabolismo é rapidamente retomado, resultando na utilização das reservas, constituídas, predominantemente, por carboidratos, proteínas e lipídios, que se encontram armazenados nos órgãos de reserva (Karunagaran e Rao, 1991; Bewley e Black, 1994). Os produtos da hidrólise serão então utilizados pelo eixo embrionário para a síntese de protoplasma e de componentes estruturais, os quais irão promover o seu subsequente crescimento (Ashton, 1976; Karunagaran e Rao, 1991; Callis, 1995).

Na germinação do feijão-de-corda, leguminosa comestível com alto teor protéico e que se apresenta como a mais importante cultura de subsistência do Semi-Árido nordestino e de outras áreas isoladas da Amazônia (Araujo e Watt, 1988), ocorre, inicialmente, nos cotilédones, degradação de amido seguido de aumento dos açúcares solúveis (Prisco et al., 1981). Entretanto, faz-se necessário um aprofundamento no estudo dos eventos metabólicos que ocorrem nas sementes e plântulas dessa espécie durante as fases iniciais de desenvolvimento, etapas fundamentais para o desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, importantes para os programas de melhoria que objetivam o desenvolvimento de cultivares mais produtivos e, principalmente, mais tolerantes aos diversos tipos de estresses. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar morfofisiologicamente o processo de germinação e estabelecimento de plântulas de feijão-de-corda, com base nas alterações físicas e bioquímicas.

Material e Métodos

Caracterização morfológica dos estádios de desenvolvimento

A germinação das sementes e o estabelecimento das plântulas de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) cv. Pitiúba, ocorreram em bandejas plásticas contendo como substrato vermiculita e água na proporção de 2:1 (v:v). A semeadura foi feita à profundidade de 2,0cm com o auxílio de um marcador de covas. Após a semeadura, as bandejas contendo as sementes foram mantidas em câmara de crescimento programada para 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12h. Para compensar as perdas

evaporativas, as bandejas foram pesadas diariamente e a água evaporada, repostada. A semeadura foi realizada diariamente, de modo que por ocasião da colheita foram obtidas plântulas com 6, 5, 4, 3, 2 e 1 dias após a semeadura. O índice de desenvolvimento foi calculado segundo a fórmula $ID = \sum (E_i \times n_i) / \sum n_i$, em que E_i = Estádio de desenvolvimento, n_i = número total de sementes ou plântulas com a característica do estádio E_i (Prisco, 1988). Em seguida, as sementes e as plântulas foram colhidas e separadas para as caracterizações morfológicas. Foram utilizadas seis repetições para cada dia de semeadura.

Quantificação dos carboidratos, aminoácidos e proteínas de reserva

Sementes de feijão-de-corda cvs. Vita 3 e Vita 5, respectivamente tolerante e susceptível ao estresse hídrico (Guimarães et al., 1982), foram colocadas para germinar como descrito anteriormente. Dos oito estádios de desenvolvimento determinados (descritos posteriormente), elegeu-se do I ao IV estádio de desenvolvimento, nos quais os cotilédones apresentavam-se ainda fechados, para o estudo de mobilização das reservas. Ao atingirem os estádios de desenvolvimento pré-estabelecidos, as sementes e plântulas foram separadas em eixos e cotilédones, para as determinações bioquímicas.

Para a quantificação das proteínas solúveis totais, os eixos embrionários e os cotilédones foram armazenados em nitrogênio líquido. Posteriormente, as proteínas foram extraídas, de acordo com Blackman et al. (1991), utilizando-se tampão 50 mM de Tris-HCl (pH 7,5) contendo 500 mM de NaCl, 5 mM de $MgCl_2$ e de 1 mM de PMSF e centrifugação a 16.000 g por 10 minutos, a 4 °C, recolhendo-se o sobrenadante. As proteínas solúveis totais foram quantificadas de acordo com Bradford (1976), utilizando-se o reagente de "coomassie blue G-250". Como padrão, foi utilizado soro albumina bovina (BSA).

Para a quantificação dos aminoácidos, açúcares e amido, o material vegetal foi colocado em etanol 80% fervente e armazenado em geladeira. Posteriormente, as amostras foram maceradas e centrifugadas a 2.000 g por 10 minutos, sendo o sobrenadante recolhido. O resíduo foi ressuspenso em etanol 80% fervente e novamente centrifugado, como descrito anteriormente. O volume final foi completado para 15 mL. A partir desse extrato, foram retiradas amostras para quantificação dos aminoácidos livres pelo método da ninhidrina (Cocking e Yemm, 1954), dos açúcares solúveis totais pela reação com antrona (Hodge e Hofreiter,

1962) e dos açúcares redutores pelo método do dinitrosalicilato (DNS) (Miller, 1959). Na determinação dos aminoácidos livres, utilizou-se glicina como padrão, enquanto que na determinação de ambos os açúcares, o padrão empregado foi a glicose.

O precipitado foi ressuspenso com etanol 10%. Após nova centrifugação, a 2.000 g por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e o novo precipitado foi novamente ressuspenso com ácido perclórico 30%, centrifugado a 2.000 g por 20 minutos e o sobrenadante recolhido para quantificação do amido pelo método da antrona (Hodge e Hofreiter, 1962).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições de 20 sementes/plântulas para cada tratamento, em cada estágio de desenvolvimento.

Resultados e Discussão

Caracterização morfológica dos estádios de desenvolvimento

Os diversos estádios de desenvolvimento encontram-se representados na Figura 1. No estágio 0 enquadram-se as sementes quiescentes, ou seja, sementes que ainda não absorveram água do solo. Como resultado da absorção de água, as sementes atingiram o estágio I, caracterizado pelo intumescimento das mesmas, sem a emergência da radícula. Com a ativação do metabolismo das sementes, pela embebição de água, o embrião se desenvolveu, provocando a emergência da radícula, fato que caracterizou o início do estágio II que se estendeu até a radícula atingir 2,0 cm de comprimento, porém sem emergir do solo. O estágio III se caracterizou por apresentar plântulas com radícula maior que 2,0 cm, sendo o limite superior evidenciado pela emergência dos cotilédones do solo. No estágio IV, o hipocótilo primeiramente se encontrava na forma de gancho, passando para a posição horizontal até atingir a posição vertical, isso tudo ocorreu com as folhas ainda dentro dos cotilédones. Com a continuação do processo de desenvolvimento da plântula, as folhas foram lançadas para fora dos cotilédones, ainda enroladas e na posição vertical ou inclinada (estádio V). As plântulas atingiram o estágio VI quando suas folhas cordiformes primárias apresentavam-se na posição horizontal e não abertas. Com o processo de desenvolvimento, elas se abriram de forma a permitir a máxima interceptação de energia radiante (estádio VII), completando, assim, o seu estabelecimento.

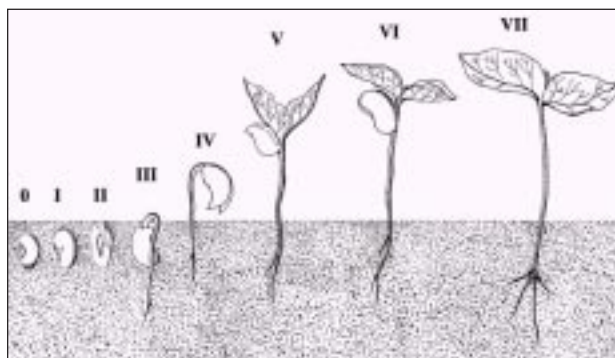


Figura 1 - Sementes e plântulas de feijão-de-corda em vários estádios de desenvolvimento.

Os IDs, baseados no tempo e nos estádios de desenvolvimento das plântulas, são apresentados na Tabela 1. Pode-se observar, por exemplo, que com três dias de semeadura o ID foi de 2,34, indicando que 66% das plântulas se encontravam no estágio II e 34% no estágio III.

Tabela 1 - Índice de desenvolvimento (ID) de sementes e plântulas de feijão-de-corda, em função do tempo de germinação e dos estádios de desenvolvimento. Fortaleza, 2003.

Dias após a semeadura	% dos estádios de desenvolvimento							Índice de desenv.	
	0	I	II	III	IV	V	VI		VII
0	100								0,00
1		100							1,00
2		66	34						1,34
3			66	34					2,34
4				25	75				3,75
5						56	44		5,44
6							94	6	6,06

Mobilização de proteínas e aminoácidos

No estágio I, o processo de embebição de água levou à síntese de proteínas nos eixos embrionários dos dois cultivares (Figuras 2A e 2B), fato comprovado ao se observar que a proporção de proteínas entre os cotilédones e o eixo foi de 1:1, enquanto nas sementes quiescentes essa proporção foi de pouco menos de 2:1 (Ainouz et al., 1981).

Analisando-se o cultivar Vita 3, entre os estádios de desenvolvimento I e II, observou-se diminuição do teor de proteínas no eixo embrionário (Figura 2A), com um concomitante aumento do teor de aminoácidos (Figura 2C), resultado de uma taxa de degradação da proteína maior que a de síntese. Nos cotilédones, tanto os teores de proteínas quanto de aminoácidos livres mantiveram-se estáveis. Na

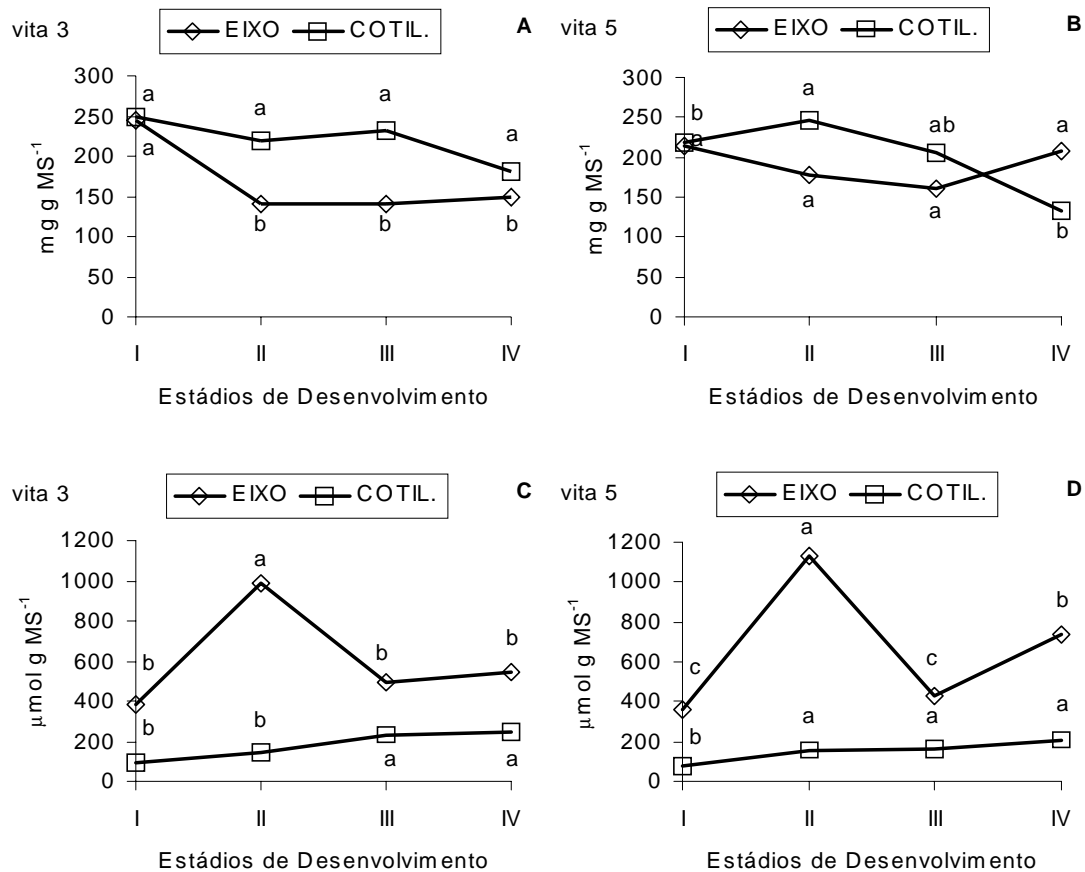


Figura 2 - Teores de Proteínas solúveis totais (A e B) e de aminoácidos (C e D) de sementes e plântulas de feijão-de-corda, em quatro estádios de desenvolvimento (I, II, III e IV). Médias seguidas por letras distintas, dentro de cada órgão, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

passagem do estágio II para o estágio III, o teor de proteínas continuou o mesmo nos cotilédones e no eixo (Figura 2A). No entanto, ocorreu diminuição no teor de aminoácidos dos eixos e aumento nos cotilédones (Figura 2C). Os resultados levam a se supor que, a exemplo de pepino (Bergareche et al., 1994), mostarda (Rajasekhar e Mohr, 1986) e abóbora (Rajasekhar et al., 1988), nos cotilédones das plântulas do estágio III, ocorreu síntese de aminoácidos, resultado, provavelmente, de atividades enzimáticas, enquanto que no eixo, aparentemente, ocorreu incorporação de aminoácidos em moléculas estruturais, responsáveis pelo seu crescimento (Dunaevsky e Belozersky, 1993; Ashton, 1976). Finalmente, quando se realizaram as análises entre os estádios III e IV, verificou-se que não ocorreram diferenças significativas para os teores de proteínas (Figura 2A) e para os teores de aminoácidos (Figura 2C) nos eixos e cotilédones, sugerindo que entre esses estádios, o padrão de hidrólise e a mobilização das moléculas analisadas seja semelhante.

Para o cultivar Vita 5, entre os estádios I e II, não foram observadas diferenças entre os teores de proteínas no eixo. Por outro lado, foi observado aumento nos cotilédones (Figura 2B). O teor de aminoácidos aumentou tanto no eixo quanto nos cotilédones, sendo este aumento mais conspícuo no eixo (Figura 2D), o que pode ser atribuído à liberação de proteínas solúveis que se encontravam dentro de corpos protéicos pré-existentes (Melo, 1994) que foram degradados. Os dados apresentados pelas análises das proteínas e aminoácidos na passagem do estágio II para o estágio III mostraram-se semelhantes aos do cultivar Vita 3, exceto o teor de aminoácidos dos cotilédones, que não teve aumento (Figuras 2B e 2D). Semelhantemente ao cultivar Vita 3, quando se realizaram as análises entre os estádios III e IV, verificou-se que não ocorreram diferenças significativas para os teores de proteínas e de aminoácidos nos eixos e cotilédones, exceto o teor de aminoácidos no eixo, que apresentou aumento, resultado de uma leve diminuição do teor de proteínas nos cotilédones da variedade mencionada (Figuras 2B e 2D).

Mobilização de amido, açúcares solúveis totais e açúcares redutores

Após o período de embebição a que as sementes do estágio I foram submetidas, nos eixos embrionários dos dois cultivares foram observadas moléculas de amido (Figuras 3A e 3B), resultado da translocação dos produtos da hidrólise do amido que se encontrava armazenado nos cotilédones e da sín-

tese de amido nesses eixos, como sugerido por Swain e Dekker, citados por Prisco et al. (1981), uma vez que não existe amido nos eixos embrionários de sementes quiescentes (Xavier Filho, 1988). Ao se comparar os teores de carboidratos entre os estádios I e II, verificou-se no cultivar Vita 3, uma diminuição do teor de amido, apenas no eixo (Figura 3A), sem haver aumento no teor de açúcares solúveis totais (AST)

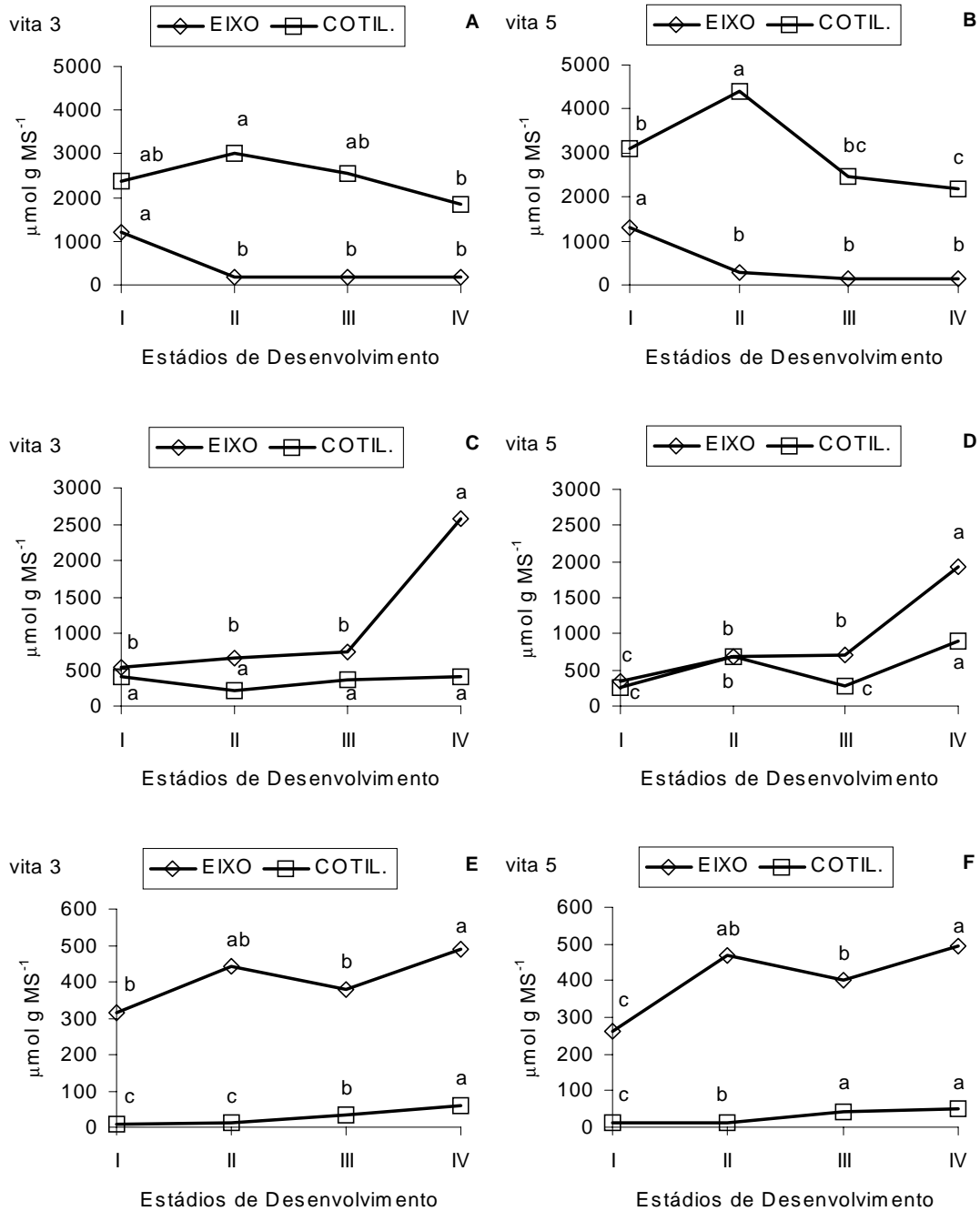


Figura 3 - Teores de amido (A e B), açúcares solúveis totais (C e D) e açúcares redutores (E e F) de de sementes e plântulas de feijão-de-corda, em quatro estádios de desenvolvimento (I, II, III e IV). Médias seguidas por letras distintas, dentro de cada órgão, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(Figura 3C) e, ainda, um pequeno aumento no teor de açúcares redutores (Figura 3E), resultado da degradação do amido no eixo do estádio II, com grande parte dos produtos de hidrólise possivelmente utilizados na respiração, fato esse comprovado pelo não aumento do teor de AST. Essa degradação inicial lenta do amido está de acordo com Bewley e Black (1994) que diz não existir atividade hidrolítica das substâncias de reservas em cotilédones intactos, antes da emergência da radícula. Quando foram comparados os estádios II e III, verificou-se que o teor de amido não se modificou no eixo e diminuiu levemente nos cotilédones (Figura 3A), resultado da hidrólise do amido, comprovado pelo aumento do teor de AR nos cotilédones (Figura 3E), ocorrendo, ainda, translocação de açúcares não redutores para o eixo, onde foram utilizados na respiração, já que o teor de AST permaneceu constante tanto no eixo quanto nos cotilédones (Figura 3C). Nesses estádios iniciais, a respiração mitocondrial é intensa, uma vez que os níveis de açúcares totais dentro dos embriões são elevados, não havendo limitação pelo substrato (Rolletschek et al., 2003). Em sementes de *Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Karunagaran e Rao (1991), encontraram resultados semelhantes. As análises dos estádios III e IV mostraram que para os teores de amido, só foram encontradas modificações nos cotilédones, com uma leve diminuição (Figura 3A), fato suficiente para elevar o teor de AST no eixo (Figura 3C) e o teor de AR, tanto no eixo quanto nos cotilédones (Figura 3E).

Entre os estádios I e II, um padrão de translocação dos produtos da degradação do amido semelhante ao do cultivar Vita 3 (Figura 3A) foi encontrado para o cultivar Vita 5 (Figura 3B). No entanto, para essa variedade, os produtos da degradação do amido ficaram armazenados na forma de oligossacarídeos solúveis, visto que os AST aumentaram tanto no eixo quanto nos cotilédones (Figura 3D), enquanto os AR aumentaram apenas no eixo (Figura 3F), sugerindo que até o estádio II, as plântulas desse cultivar devem apresentar baixas taxas respiratórias. Comparando-se os estádios II e III, pôde-se concluir que o teor de amido não se modificou no eixo e diminuiu acentuadamente nos cotilédones (Figura 3B), além de, diferentemente do cultivar Vita 3, ocorrer diminuição dos açúcares solúveis nos cotilédones (Figura 3D), o que sugere que esse cultivar, entre os estádios mencionados, apresentou elevação de sua taxa respiratória, correspondendo, provavelmente, à passagem da segunda para a terceira fase do processo de consumo

de O₂ pelas sementes germinando (padrão de respiração de sementes germinando). Com base nas análises dos estádios III e IV, observa-se que os teores de amido nos eixos foram os mesmos, diminuindo um pouco nos cotilédones (Figura 3B), enquanto que o teor de AST aumentou, tanto no eixo quanto nos cotilédones (Figura 3D), sendo uma parcela desses açúcares na forma de açúcares redutores (Figura 3F). Parte desse aumento nos açúcares solúveis totais pode ser decorrente da incorporação de carbono, via fotossíntese embriogênica (Rolletschek et al., 2003), embora em canola (Asokanthan et al., 1997) e soja (Saito et al., 1989), a taxa fotossintética dos embriões foi baixa, não contribuindo para a produção de fotoassimilados.

No estádio IV, os dois cultivares apresentaram altos níveis de amido (Figuras 3A e 3B), o que está de acordo com Monerri et al. (1986) e Juliano e Varner (1969), os quais, trabalhando com sementes de ervilha, encontraram baixa taxa de degradação de amido nos primeiros dias de germinação.

Conclusões

- Foram observados oito estádios de desenvolvimento durante a germinação e o estabelecimento das plântulas de feijão-de-corda, dos quais quatro foram caracterizados metabolicamente.
- Existiram poucas diferenças entre os dois cultivares, com relação aos teores dos macroconstituintes analisados, conseqüência da baixa demanda por energia metabólica, resultante do pequeno crescimento do eixo embrionário das plântulas nos estádios analisados.

Referências Bibliográficas

- AINOUZ, I.L.; BENEVIDES, N.M.B.; FREITAS, A.L.P. Proteolytic activities in seeds of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Biologia Plantarum**, Vodickova, v.23, p.133-140, 1981.
- ARAUJO, J.P.P.; WATT, E.E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA/EMBRAPA, 1988. 722p.
- ASHTON, F.M. Mobilization of storage protein of seeds. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.27, p.95-117, 1976.
- ASOKANTHAN, P.; JOHNSON, R.W.; GRIFFITH, M.; KROL, M. The photosynthetic potential of canola

- embryos. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.101, p.353-360, 1997.
- BERGARECHE, C.; AYUSO, R.; MASGRAU, C.; SIMON, E. Nitrate reductase in cotyledons of cucumber seedlings as affected by nitrate, phytochrome and calcium. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.91, p.257-262, 1994.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BLACKMAN, S.A.; WETTLAUFER, S.H.; OBENDORF, R.L.; LEOPOLD, A.C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v.96, p.868-874, 1991.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, p.248-254, 1976.
- CALLIS, J. Regulation of protein degradation. **The Plant Cell**, Rockville, v.7, p.845-857, 1995.
- COCKING, E.C.; YEMM, E.W. Estimation of amino acids by ninhidrin. **The Biochemical Journal**, London, v.58, p.12-13, 1954.
- DUNAEVSKY, Y.E.; BELOZERSKY, M.A. Effects of the embryonic axis and phytohormones on proteolysis of the storage protein in buckwheat seed. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.88, p.60-64, 1993.
- GUIMARÃES, C. M. Melhoramento e práticas culturais em caupi visando incrementar a resistência à seca. In: ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA/EMBRAPA, 1988. cap.9, p.287-302.
- HODGE, J.E.; HOFREITER, B.R. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: WILSTER, R.L.; WOLFROM, M.L. (eds.). **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic Press, 1962. v.1, p.380-394.
- JULIANO, B.O.; VARNER, J.E. Enzymic degradation of starch granules in the cotyledons of germinating peas. **Plant Physiology**, Rockville, v.44, p.886-892, 1969.
- KARUNAGARAN, D.; RAO, P.R. Mode and control of starch mobilization during germination of seeds of horse gram. **Plant Science**, Ireland, v.73, p.155-159, 1991.
- MELO, G.A. **Mobilização de reservas e crescimento inicial da planta de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) durante a propagação vegetativa**. 1994. 49f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.
- MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic and reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, p.426-428, 1959.
- MONERRI, C.; GARCIA-LUIS, A.; GUARDIOLA, J.L. Sugar and starch changes in pea cotyledons during germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.67, p.49-54, 1986.
- PRISCO, J.T. Effect of salinity on seed germination and seedling establishment. **Tagungsband Deutsche Botanische Gesellschaft Vereinigung für Angewandte Botanik**, Giesen Bundesrepublik Deutschland, 1988. p.30. (Abst.).
- PRISCO, J.T.; ENEAS FILHO, J.; GOMES FILHO, E. Effect of NaCl salinity on cotyledon starch mobilization during germination of *Vigna unguiculata* (L.) Walp seeds. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.4, p.63-71, 1981.
- RAJASEKHAR, V.K.; GOWRI, G.; CAMPBELL, W.H. Phytochrome-mediated light regulation of nitrate reductase expression in squash cotyledons. **Plant Physiology**, Rockville, v.88, p.242-244, 1988.
- RAJASEKHAR, V.K.; MOHR, H. Appearance of nitrite reductase in cotyledons of the mustard (*Sinapis alba* L.) seedling as affected by nitrate, phytochrome and photooxidative damage of plastids. **Planta**, New York, v.168, p.369-376, 1986.
- ROLLETSCHEK, H.; WEBER, H.; BORISJUK, L. Energy status and its control on embryogenesis of legumes. Embryo photosynthesis contributes to oxygen supply and is coupled to biosynthetic fluxes. **Plant Physiology**, Rockville, v.132, p.1196-1206, 2003.
- SAITO, G.Y.; CHANG, Y.C.; WALLING, L.L.; THOMPSON, W.W. A correlation in plastid development and cytoplasmic ultrastructure with nuclear gene expression during seed ripening in soybean. **New Phytologist**, v.113, p.459-469, 1989.
- XAVIER FILHO, J. Estudos bioquímicos desenvolvidos com caupi. In: ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA/EMBRAPA, 1988. cap.23, p.679-693.