

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INTERAÇÃO ESTRESSE SALINO E APLICAÇÃO  
EXÓGENA DE ESPERMIDINA NOS TEORES DE  
GLICINA BETAÍNA DE GUANDU**

**Moacir Vinícius Pereira Destro**

**Orientadora: Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL  
Novembro – 2006**

Destro, Moacir Vinícius Pereira  
D477i Interação estresse salino e aplicação exógena de espermidina  
nos teores de glicina betaína de guandu / Moacir Vinícius Pereira  
Destro. – – Jaboticabal, 2006  
x, 69 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006  
Orientador: Durvalina Maria Mathias dos Santos  
Banca examinadora: João Suzuki, Sônia Cristina J. G. de A.

Perez  
Bibliografia

1. *Cajanus cajan*. 2. Poliaminas. 3. Salinidade. I. Título. II.  
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.3:632.122.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MOACIR VINÍCIUS PEREIRA DESTRO** – nascido no município de São José do Rio Preto, São Paulo em 30 de julho de 1981, Biólogo, graduado em licenciatura e bacharelado pelo Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP), em dezembro de 2003. No período de janeiro a fevereiro de 2002, participou do "Diagnóstico Ambiental-Flora", realizado pela empresa "OKM geologia, engenharia e meio ambiente", no estabelecimento da Modern Continental Parque do Brasil, no município de Ibirá. Realizou estágio de Iniciação Científica no Núcleo de Estudos Ambientais (NEA/UNIRP), participando de pesquisas na área de Levantamento Florístico no período de 2002 a 2003. No segundo semestre de 2003 atuou como Educador Universitário no Programa Escola da Família, exercendo a função de Professor de Biologia no Curso Pré-Vestibular e atividades relacionadas à Ciência e a Cultura. No primeiro semestre de 2004, realizou estágio extracurricular no Laboratório de Fisiologia Vegetal no Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, FCAV-Unesp. No período de 2004 a 2005, exerceu o cargo de Educador Profissional no Programa Escola da Família, atuando na preparação, organização e coordenação de atividades educacionais, culturais e esportivas na "E.E. Profa. Lucília Ferrari" CEFAM, promovido pelo Governo do Estado de São Paulo em parceria com a UNESCO (Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura). Atuou como Professor de Biologia, exercendo trabalho voluntário no Cursinho Unificado Popular em Jaboticabal, no ano de 2005 e início de 2006. Em agosto de 2004 iniciou o Curso de Mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Unesp/Jaboticabal).

*“Precisamos ser a mudança que queremos para o mundo”*

Mahatma Ghandi (\*1869 - †1948)

*A minha inesquecível e querida avó Zilda da Silva Pereira (in memoriam) e ao meu querido avô Antônio Marques Pereira, exemplos de caráter, honestidade e determinação. Obrigado pelo amor, carinho e toda atenção dedicada nos melhores momentos de minha vida.*

*Agradeço por me ensinarem os valores corretos da vida.*

*HOMENAGEIO*

*A minha querida mãe, Maria Aparecida Pereira.*

*Uma mulher lutadora, cuja presença e dedicação foram imprescindíveis para o meu sucesso acadêmico. Minha eterna gratidão.*

*Ao meu irmão, Marlon Alberto Pereira Destro.*

*Pela amizade, companheirismo e agradáveis momentos que passamos juntos.*

*A minha tia, Maria José da Silva (ZeZé).*

*Por todo apoio, incentivo e atenção dedicados nesta difícil etapa de minha vida.*

*Ao meu amor Gisele Cristina Dedemo.*

*Por sempre estar ao meu lado nos momentos agradáveis e de dificuldades que tenho passado. Fica aqui a certeza de dias melhores pra sempre.*

*DEDICO*

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, por permitir esta conquista e pelas dificuldades da vida.

À minha orientadora, Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos, uma profissional exemplar, obrigado pela orientação, amizade e confiança, fundamental para a minha formação profissional e crescimento pessoal.

Ao amigo Adão Marin, pela valiosa amizade e importante contribuição em minha formação acadêmica.

À Profa. Dra. Valéria Stranghetti, pela amizade, confiança e contribuição em minha formação científico-acadêmica.

Ao amigo Prof. Dr. Irlan Leite de Abreu, por acreditar no meu potencial e me proporcionar esta conquista.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação (Genética e Melhoramento de Plantas) Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula por toda a atenção dispensada sempre que precisei e aos professores da Unesp-FCAV que contribuíram na minha formação acadêmica.

À Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério Sena, pela amizade e por permitir a utilização da sala de crescimento para a realização do experimento.

Ao Pesq. Dr. Paulo Henrique Alves da Costa, do CENARGEM/EMBRAPA, pelas valiosas sugestões para as análises de glicina betaína.

Aos Profs. Componentes da banca de qualificação: Dr. David Arioaldo Banzatto e Dr. Jairo Osvaldo Cazetta, pela disponibilidade em participar da banca de qualificação e

pelas importantes sugestões que muito contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho e de minha formação.

Aos Profs. Componentes da comissão examinadora: Dra. Sônia Cristina J. G. de A. Perez e Dr. João Suzuki, pela disponibilidade em participar da banca visando o aperfeiçoamento deste trabalho e de minha formação.

À amiga Vanessa Cristiane Vollet, pela amizade e agradável convivência na realização deste trabalho.

Aos amigos de Jaboticabal: Adriano, Andressa, Ângela, Bruno, Cléia, Eduardo, Eric, Flávia, Frauzio, Gisele Bonacin, Giuliana, Juliana, Leandro, Leonardo (Léo), Maionese, Marco (Mano), Mariana, Marisa, Miguel, Neto, Nilce, Rachel, Rafaela, Reginaldo, Rodrigo (Bolaxão), Samira, Roberta, Tehuni e Tonhão.

À técnica do laboratório Sônia Maria Raymundo Carregari, pelos agradáveis momentos, amizade e valioso auxílio nestes anos.

Aos funcionários Aldo Antônio de Souza, Jamil Aparecido Ferraz e Maria Lucina de Oliveira Moraes da Silva, pela valiosa amizade e momentos agradáveis.

Aos meus familiares que torcem pelo meu sucesso profissional e pessoal.

Ao Centro Espírita Universal (C.E.U.) e ao grupo de Auxílio aos Moradores de Rua (A.MO.R.), essenciais para o meu crescimento espiritual e por me ensinarem a simplicidade da vida.

À FUNDUNESP, pelo auxílio financeiro e a CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.



## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ix
SUMMARY .....	x
I. INTRODUÇÃO .....	1
II. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
1. Estresse salino .....	4
2. Poliaminas.....	5
3. Guandu - <i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp. ....	8
4. Crescimento vegetal.....	10
5. Glicina betaína.....	11
III. MATERIAL E MÉTODOS .....	15
1. Descrição dos genótipos de guandu: IAC Fava Larga e Caqui .....	15
2. Montagem experimental .....	15
2.1. Plântulas submetidas ao estresse salino.....	18
2.2. Plântulas submetidas ao estresse salino e 0,5 mM de poliamina .....	19
3. Crescimento inicial e teores de glicina betaína.....	19
3.1. Crescimento da parte aérea .....	19
3.2. Quantificação de glicina betaína .....	21
4. Análise estatística.....	22
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
V. CONCLUSÕES.....	51
VI. REFERÊNCIAS .....	52
APÊNDICE.....	65

## INTERAÇÃO ESTRESSE SALINO E APLICAÇÃO EXÓGENA DE ESPERMIDINA NOS TEORES DE GLICINA BETAÍNA DE GUANDU

**RESUMO** - No presente trabalho foi verificado o efeito do estresse salino associado à aplicação exógena de espermidina (Spd) nos teores de glicina betaína da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, visando: (a) a utilização da glicina betaína como marcador bioquímico-fisiológico da salinidade; (b) verificar se a aplicação exógena de Spd atenua os efeitos do estresse salino e (c) avaliar o crescimento inicial do guandu sob estresse salino. O experimento foi conduzido em sala de crescimento, com irradiância de  $190 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 12 horas, temperatura de 25°C e U.R. de 40%. A semeadura foi realizada em areia estéril, com adequado suprimento hídrico. Após 10 dias, as plântulas foram transferidas para solução nutritiva durante 20 dias para aclimatação. A seguir, as plântulas foram alocadas nos tratamentos, sendo utilizado o delineamento experimental em blocos casualizados em esquema fatorial 2x2x4 com os fatores genótipos (IAC Fava Larga e Caqui), Spd (0,0 e 0,5 mM) e estresse salino (0, 20, 60 e 80 mM de NaCl). Após 20 dias sob estresse, foram determinados o crescimento inicial e os teores de glicina betaína da parte aérea de ambos genótipos. Os resultados evidenciaram que, a glicina betaína pode ser indicada como um marcador bioquímico-fisiológico do estresse salino somente para 'IAC Fava Larga'. O estresse salino provocou redução do crescimento inicial da parte aérea dos genótipos de guandu, 'IAC Fava Larga' e 'Caqui'. A aplicação exógena de Spd não atenuou os efeitos do estresse salino no crescimento, mas induziu o acúmulo de glicina betaína no genótipo IAC Fava Larga sob menores níveis de NaCl.

**Palavras-Chave:** ajustamento osmótico, *Cajanus cajan*, forrageira, poliaminas, salinidade

## INTERACTION SALT STRESS AND EXOGENOUS SPERMIDINE APPLICATION ON THE LEVEL OF GLYCINE BETAINE OF PIGEONPEA

**SUMMARY** – In this work was undertaken to evaluate the effect of salt stress associated to exogenous spermidine (Spd) application on the level of glycine betaine in shoots of pigeonpea, genotypes IAC Fava Larga and Caqui (a) propose the use of this compatible osmolyte as a biochemical-physiological indicator of salinity; (b) to verify if the application exogenous of spermidine decreased the effects of salt stress and (c) to evaluate the initial growth of pigeonpea under salt stress. The experiment was carried in a grow room with irradiance of  $190 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , photoperiod of 12 hours, with the temperature set to  $25^{\circ}\text{C}$  and the RH to 40%. Seeds were showed in sterile sand with adequate water supply. After ten days, seedlings were transferred to nutritive solution for twenty days for acclimation. The experiment was then arranged in randomized block design in a  $2 \times 2 \times 4$  factorial, corresponding to the genotypes (IAC Fava Larga and Caqui), Spd rates (control and 0.5 mM) and salt stress (0, 20, 60 and 80 mM NaCl). After 20 days under stress, was verified the effect of these treatments in the initial growth and determined the content of glycine betaine. The results showed that glycine betaine can be used as a biochemical-physiological marker of salt stress in 'IAC Fava Larga'. The salt stress reduced initial growth of the both genotypes, IAC Fava Larga and Caqui. Exogenous Spd application did not attenuate the effects of salt stress on initial growth, but induced glycine betaine accumulation only in IAC Fava Larga under low NaCl levels.

**Keywords:** osmotic adjustment, *Cajanus cajan*, forage, polyamine, salinity

## I. INTRODUÇÃO

A salinidade dos solos é considerada como um dos principais estresses abióticos, causando danos no metabolismo vegetal, reduzindo drasticamente a produtividade agrícola e provocando efeitos deletérios em muitos processos fisiológicos (JUAN et al., 2005). Esta salinidade, muitas vezes, é decorrente do manejo inadequado do solo e da água, conduzindo ao abandono de importantes áreas para a agricultura, por torná-las inviáveis à exploração agrícola (FLOWERS, 2004; YAMAGUCHI & BLUMWALD, 2005).

No mundo, estima-se que, cerca de 800 milhões de ha são salinizados, correspondendo a mais de 6% do total dos solos (MUNNS, 2005). No Brasil, cerca de 4 milhões de ha de solos estão sob efeito de sais, os quais apresentam baixa produtividade agrícola ou, mesmo, encontram-se excluídos do sistema produtivo (SZABOLCS, 1989). A região Nordeste apresenta uma área potencial de irrigação estimada em 6 milhões de ha, dos quais 25% dos perímetros irrigados estão salinizados (HOLANDA, 1996). Como é uma região semi-árida, isto é, dependente da irrigação para um suprimento adequado de água às culturas (THIRUMENI et al., 2001), os solos dessa região brasileira são caracteristicamente salinos (AZEVEDO NETO et al., 2004).

As poliaminas são encontradas em todas as células, quer seja vegetal ou animal, porém a função destas substâncias na atividade metabólica das células vegetais passou a ser investigada recentemente (COLLI, 2004). Apesar de ainda não ser compreendido o preciso modo de ação das poliaminas, as pesquisas sustentam sua função na modulação de uma variedade de processos fisiológicos nas plantas, desde o crescimento e diferenciação celular até respostas aos estresses abióticos (MARTIN-TANGUY, 2001), tal como a salinidade (ZHAO & QIN, 2004).

As plantas, quando expostas ao estresse salino, apresentam um aumento significativo na síntese de poliaminas, indicando uma possível defesa do vegetal sob estas condições adversas (TESTER & DAVENPORT, 2003). Ainda, quando aplicadas

exogenamente na planta, as poliaminas podem causar acentuada redução dos efeitos deletérios do estresse salino (CHATTOPADHAYAY et al., 2002).

Nos últimos anos houve um significativo incremento nas pesquisas para verificar a tolerância das leguminosas forrageiras ao estresse salino (BAYUELO-JIMÉNEZ et al., 2002). Dentre as forrageiras destaca-se o guandu como uma das principais culturas nos trópicos e subtropicais (NENE et al., 1990). Apesar de ocupar o 6º lugar no mundo em área e produção de grãos em comparação com outras leguminosas, apresenta maior amplitude na utilização tanto para a alimentação animal quanto para a humana (BHARDWAJ et al., 1999). Além disso, para o produtor rural, o guandu proporciona baixo custo de produção e, conseqüentemente, um maior lucro da atividade pecuária e melhoria na fertilidade do solo, decorrentes da habilidade que esta forrageira apresenta para a fixação simbiótica de nitrogênio no solo (PONS, 2002). No Brasil, a principal utilização do guandu é na forragicultura, pois devido ao elevado potencial de produção de forragem e alto valor nutritivo é um excelente suplemento protéico para ruminantes, além de ser utilizado sob a forma de grãos ou farinha para aves e suínos (COSTA et al., 2001a).

Considerando que a influência do estresse salino no crescimento e desenvolvimento vegetal depende da espécie, do genótipo, do estágio de desenvolvimento, da composição salina e intensidade e duração do estresse (BRAY et al., 2000), os efeitos da salinidade na inibição do crescimento vegetal, constituem-se, atualmente, uma das muitas preocupações para a agricultura, fomentando a realização de pesquisas em busca de compostos que possam atenuar os drásticos efeitos que induzem ao acentuado declínio da produtividade (MUNNS, 2002).

Os vegetais quando estão sob estresses ambientais se utilizam de mecanismos complexos que contribuem para tolerar curtos períodos sob tais condições adversas. Dentre estes mecanismos, destaca-se o ajustamento osmótico o qual capacita a célula a acumular substâncias denominadas “osmólitos compatíveis” que atuam na proteção de macromoléculas e na manutenção do turgor celular (BRAY et al., 2000), preservando a integridade das células para as atividades vitais do crescimento e desenvolvimento vegetal (MUNNS, 2002). Entre estas substâncias encontra-se a glicina betaína, que

estabiliza a estrutura e atividade de enzimas, complexos protéicos e mantém a integridade de membranas contra os efeitos deletérios da salinidade (SAKAMOTO & MURATA, 2002).

No presente trabalho foi verificado o efeito do estresse salino associado à aplicação exógena de espermidina nos teores de glicina betaína da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, visando: **(a)** a utilização da glicina betaína como marcador bioquímico-fisiológico da salinidade; **(b)** verificar se a aplicação exógena de espermidina atenua os efeitos do estresse salino e **(c)** avaliar o crescimento inicial dos genótipos de guandu com o intuito de se obter genótipos forrageiros tolerantes às áreas que estejam sob influência da salinização.

## II. REVISÃO DE LITERATURA

### 1. Estresse salino

O estresse é considerado um fator externo, que exerce influência desvantajosa sobre a planta e induz mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo. Em condições naturais e agricultáveis, as plantas estão freqüentemente expostas ao estresse ambiental, os quais limitarão o desenvolvimento e as chances de sobrevivência (ALEXIEVA et al., 2003; TAIZ & ZEIGER, 2004). Dentre os estresses ambientais que reduzem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, a salinidade é considerada uma das mais importantes limitações para a produção de alimentos em solos irrigados das regiões áridas e semi-áridas em todo o mundo (MUNNS, 2002; HUMMEL et al., 2004).

Em estudos sobre os efeitos dos sais no solo, estabelece-se a distinção entre altas concentrações de  $\text{Na}^+$ , identificadas como sodicidade, e altas concentrações de sais totais, referidas como salinidade (TAIZ & ZEIGER, 2004). Ambos conceitos estão muitas vezes relacionados, porém em alguns solos,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{NaCl}$  podem contribuir substancialmente para a salinidade (MUNNS, 2005). Contudo, os solos salinizados são geralmente constituídos pelos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  que, normalmente, excedem as necessidades da planta (LACERDA et al., 2003; KERBAUY, 2004).

Em todo o mundo, os solos salinos e sódicos são representados por 397 e 434 milhões de ha, respectivamente, decorrentes principalmente das condições naturais, como a entrada de água do mar durante ciclones em áreas costeiras, acúmulo de sal na região radicular em regiões áridas e semi-áridas devido à alta demanda evaporativa e insuficiente lixiviação de íons sob baixa pluviosidade (MUNNS, 2005).

No entanto, um agravante muito maior na agricultura é a acumulação de sais provenientes da água de irrigação devido à baixa qualidade desta água e um manejo inadequado do sistema de irrigação (VEATCH et al., 2004). A evaporação e a transpiração removem água pura (sob forma de vapor) do solo e esta perda de água

concentra solutos no solo, quando a água de irrigação contém uma alta concentração de solutos e, se não há possibilidade de descarregar os sais acumulados para um sistema de drenagem, eles podem rapidamente alcançar níveis prejudiciais às espécies sensíveis ao sal (TAIZ & ZEIGER, 2004).

De fato, o impacto da salinidade do solo sobre a produtividade agrícola é um sério problema em regiões áridas e semi-áridas, que dependem da irrigação para garantir um adequado suprimento de água para as culturas (Goyal et al., 2000 citados por SOPORY, 2004). Atualmente, estima-se que, do total de 230 milhões de ha de terras irrigadas, 45 milhões de ha são afetados pela salinidade, ou seja, cerca de 20% do total (MUNNS, 2005). Ainda, o aumento da salinização nos solos cultiváveis, resultará em perdas de 30% de solos nos próximos 25 anos e acima de 50% após 2050 (MUNNS, 2002; WANG et al., 2003).

A salinidade da água do solo, da água de irrigação e da solução nutritiva é medida quanto à sua condutividade elétrica (COSTA et al., 2001b; TAIZ & ZEIGER, 2004). A água pura é um condutor de corrente elétrica muito pobre; os valores de condutividade de uma amostra são proporcionais à concentração dos íons dissolvidos em solução (COSTA et al., 2001b). Quanto mais alta a concentração salina na água tanto maior são os valores de condutividade elétrica, conduzindo à redução do potencial osmótico ( $\Psi_{\pi}$ ), o que altera a absorção de água e nutrientes pelas plantas, interferindo no metabolismo e, conseqüentemente, na produção vegetal (COSTA et al., 2001b; TAIZ & ZEIGER, 2004).

Algumas culturas possuem rendimentos aceitáveis em condições de elevado estresse, enquanto outras são sensíveis em níveis relativamente baixos de estresse (ALEXIEVA et al., 2003). A demanda por genótipos tolerantes ao estresse salino tem gerado interesse na investigação dos mecanismos fisiológicos utilizados pelas plantas em resposta aos estresses ambientais, tal como a salinidade.

## **2. Poliaminas**

Apesar das poliaminas estarem envolvidas em um grande número de processos



do desenvolvimento vegetal, a sua inclusão à classe dos hormônios vegetais ainda gera controvérsias entre a comunidade científica, pois atuam em concentrações superiores e são ativas no local de síntese, o que diverge do conceito de hormônio vegetal (RIBA, 2001; COLLI, 2004). No entanto, as poliaminas são consideradas hormônios vegetais, por alguns pesquisadores, uma vez que regulam o desenvolvimento vegetal (AZCON-BIETO & TALON, 1993; DAVIES, 1995; CROZIER et al. 2000).

As poliaminas são moléculas orgânicas polivalentes de baixo peso molecular, hidrofílicas, que apresentam como característica química básica, a presença de dois ou mais grupos de aminas, onde diferem, estruturalmente, entre si quanto ao número e posição das aminas (KUZNESTSOV et al., 2002), além de possíveis grupos imino central (CHATTOPADHAYAY et al., 2002).

Dentre a família das aminas, as de maior freqüência nos grupos vegetais são a diamina putrescina, a triamina espermidina e a tetramina espermina (CHATTOPADHAYAY et al., 1997; ASHRAF & HARRIS, 2004). Sobretudo, a espermidina (1,8-Diamino-4-azaoctane,  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ ) é considerada um regulador de crescimento de plantas atuando na divisão e diferenciação celular (GALSTON & KAUR-SAWHNEY, 1994).

Nos vegetais, a putrescina é convertida à espermidina por sucessivas transferências de um ou dois grupos aminopropil via S-adenosil metionina, AdoMet (BAIS & RAVISHANKAR, 2002). Tais substâncias estão presentes no vacúolo, citosol, cloroplastos, núcleo, mitocôndrias e, principalmente, associadas às paredes celulares, na forma livre ou conjugada com ácidos fenólicos (COLLI, 2004; COUÉE et al., 2004). Ainda, são essenciais para a viabilidade das células, pois as poliaminas estão envolvidas em processos celulares importantes como a divisão celular, síntese protéica, replicação do DNA e prevenção dos processos relacionados com a senescência (CHATTOPADHAYAY et al., 1997; AZIZ et al., 2001; ZEID, 2004).

A importância dessas substâncias em plantas pode ser corroborada em mutantes que perderam a habilidade de sintetizar poliaminas, o que ocasionou alterações fenotípicas no crescimento e desenvolvimento, porém, a aplicação exógena de poliaminas, restaura os padrões normais de crescimento, evidenciando a função

essencial destas substâncias no metabolismo celular (COLLI, 2004). Ademais, o aumento significativo nos níveis de poliaminas está relacionado com mecanismos de proteção das plantas contra os efeitos deletérios de vários estresses ambientais, incluindo o estresse salino (ZHAO & QIN, 2004). A função protetora das poliaminas é devida, principalmente, a sua natureza catiônica em pH celular (PASCHALIDIS & ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2005). Esta característica de cátion orgânico possibilita estabelecer ligações a proteínas, fosfolipídios, DNA, RNA e grupos aniônicos de membranas e da parede celular (UPADHYAYA et al., 2001; PEREZ-AMADOR et al., 2002; IMAI et al., 2004), sobretudo pelas pontes de hidrogênio que facilitam rápidas ligações e separações, economizando assim energia metabólica (RIBA, 2001). Tais ligações possibilitam a estabilização de estruturas celulares importantes como a molécula do DNA e as membranas dos tilacóides (BOUCHEREAU et al., 1999; ZEID, 2004). Também, as poliaminas podem atuar como eliminadoras de radicais livres (REA et al., 2004).

Durante o estresse salino, o conteúdo de poliaminas endógenas pode aumentar ou reduzir, dependendo do tecido, da espécie, teor de salinidade e duração do tratamento experimental (KASINATHAN & WINGLER, 2004). Geralmente, as plantas tolerantes ao estresse salino possuem ampla capacidade de aumentar a biossíntese de poliaminas em resposta ao estresse, elevando de duas a três vezes os níveis endógenos, o que sugere um envolvimento destas substâncias na proteção do metabolismo da célula vegetal (KASUKABE et al., 2004). A importância destas aminas na prevenção dos efeitos deletérios dos estresses ambientais tem sido demonstrada pela aplicação exógena de poliaminas, na qual tem mostrado proteger o tecido vegetal dos efeitos prejudiciais do estresse salino (ZHAO & QIN, 2004).

De fato, tendo em vista estes aspectos das poliaminas e apoiando a hipótese de que estas substâncias desempenham funções essenciais na tolerância das plantas aos estresses ambientais, atualmente existe maior interesse da comunidade científica em pesquisas que envolvam manipulação gênica da biossíntese, visando tornar as plantas mais tolerantes aos vários estresses abióticos, incluindo o estresse salino.

### 3. Guandu - *Cajanus cajan* (L.) Millsp.

O gênero *Cajanus* é frequentemente encontrado nas regiões tropicais e subtropicais, notadamente em países da Ásia, África e América Latina, apresentando duas espécies, *Cajanus cajan* (L.) Millsp., distribuída pantropicamente, e *Cajanus kerstingii* Hrams., endêmica nas savanas da África ocidental, porém, de ocorrência rara (WUTKE, 1987; NENE et al., 1990).

O guandu, *Cajanus cajan* (L.) Millsp., pertence à família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Cajaninae, com sinonímia de *Cajanus indicus* Spreng, *Cajanus flavus* D.C, *Cytipus cajanus* L. e *Cajanus cajan* (L.) Druce (WUTKE, 1987). Apesar do centro de origem do *Cajanus cajan* permanecer incerto, é provável que seja originário da Índia, onde é muito cultivado, ou nativo da África, de onde teria se deslocado para a Índia e, posteriormente, introduzido na América Central e do Sul, na época do descobrimento do continente pelos europeus (NENE et al., 1990). De um modo geral, as espécies da família Fabaceae (Leguminosae) possuem importante função, decorrente da associação simbiótica entre leguminosas e bactérias do gênero *Rhizobium*, resultando em melhorias ecológicas e econômicas, por causa do aumento da atividade microbiana, que conduz a uma maior fixação do nitrogênio atmosférico no solo, proporcionando significativos acréscimos na produtividade de culturas subseqüentes (DAKORA, 2003; LODWIG & POOLE, 2003).

O guandu é uma leguminosa arbustiva, anual ou perene de vida curta, crescendo normalmente até 4 m de altura (NENE et al., 1990; COSTA et al., 2001a). Esta espécie é considerada cultura de subsistência nos trópicos e sub-trópicos, sendo capaz de tolerar a seca durante períodos de estiagem (BEGUM & PRODHAN, 2003). A característica que o guandu apresenta de crescer em períodos adversos que limitam o crescimento de outras forrageiras, constitui-se em importante alternativa para a provisão de alimento de alta qualidade e redução de custos com colheita e armazenamento de forragem no período da entressafra (RAO et al., 2002).

Os países asiáticos são os maiores produtores mundiais de guandu, destacando-se a Índia com aproximadamente 90% da produção mundial (NENE et al., 1990). No

Brasil, trata-se de uma espécie amplamente difundida em pequenos estabelecimentos rurais, oferecendo a possibilidade tanto de consumo dos grãos como de comercialização em mercados locais; também, é uma planta adequada para integrar sistemas de produção de hortaliças com base agroecológica, devido à incorporação da biomassa proveniente de sua poda na fertilidade do solo (ALVES et al., 2004).

As plantas forrageiras ocupam uma área correspondente a  $\frac{3}{4}$  da área agrícola nacional (MARTHA JR. & CORSI, 2001), constituindo a principal forma de alimentação na pecuária brasileira, sendo o Brasil, atualmente, o país com maior rebanho bovino comercial do planeta (BATALHA, 2005). Considerando este aspecto, como forrageira, o guandu é utilizado na qualidade de feno, silagem, em pastejo direto no período de seca e para a formação de bancos de proteína (ALCÂNTARA & BUFARAH, 1988).

Por ser espécie rústica, atualmente tem sido também empregado em programas de recuperação de áreas degradadas, participando de projetos de reflorestamento de áreas com voçorocas, implantação de cordões de vegetação permanente e/ou paliçadas em regiões com princípios de erosão (COAN et al., 2004). O guandu apresenta valores satisfatórios em termos de cobertura. Quanto à biomassa seca, a estimativa de produção por ha é expressiva, provavelmente ao fato de esta espécie ser arbustiva, apresentando maior porcentagem de tecido lenhoso. Esta característica pode ser vantajosa em áreas intensamente compactadas, onde não há disponibilidade de matéria orgânica na superfície do substrato. A presença do material lenhoso proporciona maior resistência física ao escoamento superficial da água, minimizando os processos erosivos (LEME et al., 2005).

Ainda, o guandu promove maior fertilidade dos solos, seja pela incorporação de matéria orgânica com elevados teores de nitrogênio ou pela extração de fósforo em solos. Também, possui sistema radicular profundo e ramificado que, além de torná-lo capaz de resistir ao estresse hídrico, possibilita-o romper camadas adensadas de solos, como “pé de arado”, sendo chamado de arado biológico (NENE et al., 1990).

Devido à grande adaptação desta espécie em clima árido e solos inférteis, o guandu pode ser considerado uma cultura de grande potencial sócio-econômico para as regiões Norte e Nordeste do Brasil (VILELA, 1983).

#### 4. Crescimento vegetal

A produtividade e a distribuição geográfica dos vegetais, particularmente as espécies agrônômicas de grande importância comercial, são significativamente restritas pelos estresses ambientais (SAKAMOTO & MURATA, 2002), entre eles o estresse salino (SAIRAM & TYAGI, 2004). Assim, a variação fenotípica das plantas cultivadas é devido às combinações dos efeitos ambientais e genéticos sobre o crescimento vegetal, incluindo a integração de mecanismos fisiológicos que conferem tolerância à salinidade (ASHRAF & HARRIS, 2004).

O estresse salino causa uma série de respostas bioquímicas, fisiológicas e morfológicas nos vegetais, reguladas por eventos moleculares (XIONG & ZHU, 2002; CUARTERO et al., 2006). A redução do crescimento e da produção, como consequência do estresse salino, vem sendo estudada há vários anos, sendo que estes estudos visam, além de mensurar os efeitos da salinidade sobre a planta, elucidar mecanismos bioquímicos e fisiológicos vinculados à tolerância ou sensibilidade ao estresse (WILLADINO et al., 1999).

Os efeitos do estresse salino sobre o crescimento das plantas são consequências de fatores osmóticos e iônicos (TESTER & DAVENPORT, 2003; MUNNS, 2005). A componente osmótica resulta das elevadas concentrações de sais dissolvidos na solução do solo, os quais reduzem o potencial osmótico dessa solução, diminuindo, conseqüentemente, a disponibilidade de água para a planta (MUNNS, 2005). O fator iônico, mediante a acumulação excessiva de íons nos tecidos vegetais, pode ocasionar toxicidade iônica e/ou desequilíbrio na utilização de nutrientes essenciais para o metabolismo da planta (HASEGAWA et al., 2000; TESTER & DAVENPORT, 2003; MUNNS, 2005).

Na primeira fase, o crescimento da planta é afetado pelos efeitos dos sais que estão no exterior da mesma, causando um estresse osmótico. A segunda fase da resposta do crescimento é resultante dos efeitos tóxicos dos sais no interior da planta (MUNNS et al., 2006). A causa desta injúria é provavelmente em função da elevada quantidade de sal absorvida, a qual excede a capacidade das células de

compartimentalizá-lo no vacúolo, conseqüentemente, a concentração de sais aumenta rapidamente no citoplasma, inibindo as atividades enzimáticas. Alternativamente, os sais podem ser transportados para a parede celular, desidratando a célula (TESTER & DAVENPORT, 2003; MUNNS, 2005). Ademais, o excesso de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{Cl}^-$  no citoplasma, provocam distúrbios em relação ao balanço iônico (MAATHUIS, 2005), bem como o efeito específico dos íons sobre as enzimas e membranas (MUNNS et al., 2002). Entretanto, o crescimento vegetal pode ser retomado no caso de atenuação do estresse salino (PARIDA & DAS, 2005).

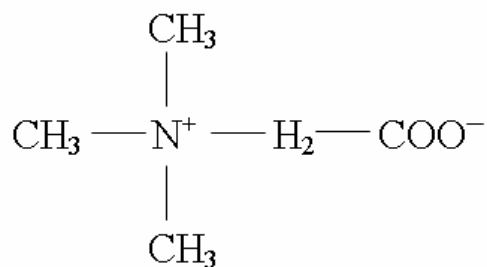
Muitas plantas tolerantes desenvolvem mecanismos para evitar os danos causados pela salinidade, como a capacidade de eliminar o excesso de sal e/ou tolerar a toxicidade nas células (PARIDA & DAS, 2005). Em plantas sensíveis, a tolerância a níveis moderados de sais no solo depende em parte da capacidade das raízes de impedir que íons prejudiciais alcancem as partes aéreas (TAIZ & ZEIGER, 2004; GARTHWAITE et al., 2005). O íon  $\text{Na}^+$  geralmente move-se passivamente para dentro das células; com o influxo de  $\text{Na}^+$ , o potencial de membrana dissipa-se, facilitando a entrada de  $\text{Cl}^-$ , reduzindo o gradiente químico (TESTER & DAVENPORT, 2003). O  $\text{Na}^+$  também pode entrar nas células por intermédio de carregadores de baixa afinidade e alta afinidade, comuns ao  $\text{K}^+$  (HASEGAWA et al., 2000).

Muitas espécies cultivadas são sensíveis à alta concentração de sal, causando um impacto negativo na produtividade agrícola (ZÖRB et al., 2004). Com isso, os estudos sobre o crescimento vegetal em relação à tolerância de alguns genótipos ao estresse salino permitem a seleção de culturas capazes de se adaptar e se desenvolver em ambientes salinizados, proporcionando, desta forma, produtividade com rendimentos economicamente aceitáveis (ASHRAT & HARRIS, 2005).

## **5. Glicina betaína**

Os osmólitos compatíveis, também conhecidos como solutos orgânicos, osmólitos ou osmorreguladores (BRAY et al., 2000), além de manterem a turgescência celular, também possuem funções associadas à estabilização de proteínas e

membranas celulares, pois estes solutos são hidrofílicos, o que sugere que possam substituir a água na superfície destas moléculas (HASEGAWA et al., 2000). Dentre os metabólitos que possuem função de osmólitos compatíveis encontra-se a glicina betaína, *N,N,N-trimetilglicina*, uma amina quaternária (QACs), anfótera, bipolar, com a propriedade de interagir com macromoléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, enzimas e complexos protéicos, além de ser extremamente solúvel em água (RHODES & HANSON, 1993; SAKAMOTO & MURATA, 2002).



Molécula de glicina betaína

Em plantas superiores, a biossíntese de glicina betaína, que ocorre no estroma dos cloroplastos, se dá através da oxidação do metabólito colina à betaína aldeído, pela enzima colina monooxigenase (CMO, EC 1.14.15.7). A conversão de betaína aldeído à glicina betaína é realizada pela enzima betaína aldeído desidrogenase (BADH, EC 1.2.1.8), uma desidrogenase dependente de  $\text{NAD}^+$  (KOTCHONI & BARTELS, 2003).

Não existem evidências de adaptação de enzimas na presença de sal, portanto, mecanismos de tolerância ao estresse salino em nível celular envolvem a manutenção de baixos níveis de sais no citoplasma, seqüestrando estes para o vacúolo celular (MUNNS et al., 2002). Deste modo, os íons inorgânicos, tais como  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  são seqüestrados nos vacúolos das células vegetais, enquanto o  $\text{K}^+$  e os osmólitos compatíveis são acumulados no citoplasma e no estroma das organelas, a fim de manter o balanço da pressão osmótica dos íons presentes no vacúolo (HASEGAWA et al., 2000; MUNNS et al., 2002). Este fenômeno é denominado ajustamento osmótico, o qual contribui para a manutenção da turgescência celular, permitindo a continuidade de

processos fisiológicos essenciais para o crescimento e desenvolvimento vegetal (SERRAJ & SINCLAIR, 2002; DI MARTINO et al., 2003).

Nem todas as plantas têm a capacidade de acumular o mesmo soluto orgânico, sendo que estes podem variar de acordo com a espécie vegetal (RATHINASABAPATHI, 2000; YOKOI, et al., 2002), além disso, as espécies podem se diferenciar quanto ao acúmulo de glicina betaína, sendo que algumas plantas possuem um acúmulo relativamente alto deste osmólito compatível, enquanto outras espécies não têm a capacidade de sintetizar este composto (SAKAMOTO & MURATA, 2002). Os principais osmólitos compatíveis que se acumulam sob condições de estresse salino são a prolina e a glicina betaína, embora outras moléculas estejam presentes em menores quantidades (MUNNS et al., 2002).

Algumas plantas acumulam altos teores de glicina betaína sob condições de salinidade, sendo que esta substância apresenta efetivo envolvimento na proteção das células vegetais, (RONTEIN et al., 2002; CHINNUSAMY et al., 2005), facilitando a manutenção do volume do cloroplasto e a capacidade fotossintética de folhas com baixo potencial hídrico (CHA-UM et al., 2006), agindo na estabilização tanto da estrutura quaternária das proteínas quanto da complexa estrutura de membrana celular, além de atuar na proteção da ribulose-1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco), no controle da emissão de oxigênio no Fotossistema II (GORHAM, 1995; PAPAGEORGIU & MURATA, 1995) e por funcionar como eliminadora de espécies reativas de oxigênio (CHA-UM et al., 2006).

Adicionalmente, a glicina betaína pode agir como uma molécula sinalizadora que induz a expressão de genes associados à tolerância ao estresse salino (TAKABE et al., 1998). A importância deste osmólito compatível tem intensificado-se em plantas transgênicas que adquiriram a capacidade de expressar genes da biossíntese deste osmoprotetor, pois estas plantas aumentaram o acúmulo de glicina betaína e conseqüentemente exibiram um aumento na tolerância a diferentes tipos de estresses, entre eles o salino (CHEN & MURATA, 2002).

Os estudos para a compreensão dos mecanismos fisiológicos relacionados com as vias sinalizadoras do estresse salino em torno dos osmólitos compatíveis são



determinantes para o avanço das pesquisas de engenharia genética (CHINNUSAMY et al., 2005) e melhoramento de plantas, visando o desenvolvimento de genótipos capazes de habitar ambientes salinizados, a fim de otimizar a produtividade agrícola. Desta forma, as pesquisas relacionadas aos teores de glicina betaína pode ser uma ferramenta importante na investigação da tolerância de genótipos de guandu ao referido estresse.

### **III. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **1. Descrição dos genótipos de guandu: IAC Fava Larga e Caqui**

O genótipo Caqui é uma planta perene, com forma de crescimento arbustiva, cultivada em todos os tipos de solo, desde que esteja bem drenado. As plantas deste genótipo possuem elevada tolerância à seca, com sistema radicular vigoroso e profundo (2,0 a 3,0 m), com tolerância moderada ao frio, sendo sensíveis à acidez do solo, devendo o pH ser corrigido antes do plantio. O início do florescimento ocorre aos 111 dias. A melhor época de plantio é na estação chuvosa. As plantas são muito utilizadas para adubação verde (10 a 12 t de massa seca ha/ano), no pastoreio direto devido à alta palatabilidade, fenação e ensilagem com milho e sorgo (GODOY et al., 2003; NATERRA, 2005).

As plantas de IAC Fava Larga resultaram da seleção massal efetuada em diversos cultivos no período 1982-1985, dentro de material introduzido na Seção de Leguminosas, em 1953 do Instituto Agrônomo de Campinas. A produtividade média de sementes observada no Centro Experimental de Campinas, para semeadura efetuada em fevereiro, foi da ordem de 1.683 kg ha<sup>-1</sup> na primeira colheita, o que é muito significativo, considerando a sua contribuição em grãos, verdes ou secos, para a alimentação humana, e o aumento do potencial de produção de sementes no Estado de São Paulo. O início do florescimento deste genótipo ocorre aos 127 dias. Em virtude do ciclo longo, possibilitando maior acúmulo de massa verde, o genótipo IAC Fava Larga pode ser utilizada como adubo verde, contribuindo para cobertura do solo, e como planta forrageira (IAC, 1989; GODOY et al., 2003).

#### **2. Montagem experimental**

O experimento foi realizado na Unesp - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Departamento de Biologia

Aplicada à Agropecuária (DBAA), Campus de Jaboticabal, SP, sendo conduzido no laboratório e na sala de crescimento, no período de outubro a novembro de 2005.

As sementes dos genótipos de guandu, IAC Fava larga e Caqui, utilizadas no experimento foram provenientes da empresa WOLF SEEDS DO BRASIL<sup>1</sup> do município de Ribeirão Preto, SP.

Para a obtenção das plântulas de guandu, foram utilizadas bandejas de plástico contendo areia lavada e esterilizada. Para tanto, a areia foi mantida em bacias de plástico contendo solução de HCl, 50 mL L<sup>-1</sup>, por aproximadamente 12 horas, e a seguir foi lavada em água corrente até completa eliminação do ácido. Foi utilizada como teste para verificar a presença do cloreto, a reação do cloreto com a prata (solução de AgNO<sub>3</sub> 0,1%), pois esta reação forma um precipitado branco (cloreto de prata), segundo a metodologia de VINCENT, 1970.

Após a lavagem, a areia foi submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar. Para cada genótipo de guandu, quatro bandejas foram utilizadas, as quais, após a semeadura foram deixadas em sala de crescimento sob luminária com irradiância média de 190  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo controlado de 12 horas, temperatura média de 25°C  $\pm$  2°C (ar condicionado, 10.000 BTUs) e umidade relativa média de 40%. Foram realizadas regas diárias para evitar qualquer carência hídrica.

Após 10 dias da semeadura, as plântulas de ambos genótipos foram aclimatadas à solução nutritiva de Hoagland e Arnon (SARRUGE, 1975), sendo posteriormente transferidas para frascos de vidro tipo SNAP CAP, com capacidade de 190 mL, os quais foram previamente revestidos com papel alumínio para impedir o crescimento de algas na solução nutritiva. Para a aclimação das plântulas foi utilizada solução nutritiva 50% (1/2 força) por cinco dias e em 100% (1/1 força) por mais 15 dias (Tabela 1), totalizando 20 dias de aclimação. Após este período as plântulas, com a idade de 30 DAS<sup>2</sup>, foram submetidas, simultaneamente, aos níveis de estresse salino com e sem aplicação de espermidina (Spd), como descrito a seguir:

---

<sup>1</sup> WOLF SEEDS DO BRASIL. FEIJÃO GUANDU. Disponível em: <[http://www.wolfseeds.com.br/\\_feijãoguandu.htm](http://www.wolfseeds.com.br/_feijãoguandu.htm)>

<sup>2</sup> Dias Após a Semeadura.

**Tabela 1.** Composição química da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (SARRUGE, 1975).

<b>SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS</b>	<b>CONCENTRAÇÃO</b> (em 1L de H <sub>2</sub> O destilada)	<b>SOLUÇÃO CONTROLE (1/1)</b> (mL/solução em 1 L de H <sub>2</sub> O destilada)
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1M	1
KNO <sub>3</sub>	1M	6
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1M	4
MgSO <sub>4</sub>	1M	2
Ferro-EDTA	0,5%	1
Micronutrientes	*	1

\*Solução de Micronutrientes: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 2,86g; MoCl<sub>2</sub>, 1,81g; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,22g; H<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0,02g; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0,08g. O pH da solução nutritiva 6,1 ± 0,1.

## 2.1. Plântulas submetidas ao estresse salino

Para verificar os efeitos de genótipos e estresse salino isento de 0,5 mM de Spd, as plântulas foram transferidas para solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1/1 força) com diferentes níveis de NaCl, 0; 20; 60 e 80 mM, de acordo com GONELA (1999). Estes níveis de NaCl correspondem, respectivamente, aos potenciais osmóticos ( $\psi_s$ ) de 0; -0,089; -0,267; -0,357 MPa, calculados de acordo com a equação de J.H. Van't Hoff (SALISBURY & ROSS, 1992):

$$\Psi = -i \cdot C \cdot R \cdot T$$

onde:

$\psi$  = potencial osmótico (MPa);

$i$  = coeficiente isotônico ( $i_{NaCl} = 1,8$ );

$C$  = concentração da solução (mol por litro - 0; 20; 60 e 80 mM);

$R$  = constante universal dos gases (0,00831 MPa L K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>);

$T$  = temperatura (K).

O pH da solução nutritiva foi monitorado utilizando-se de pHmetro Portátil Modelo PH206, Marca Lutron, sendo mantido em  $6,1 \pm 0,1$  utilizando-se solução de HCl 0,1N ou NaOH 0,1N. Também, foi realizado o monitoramento da condutividade elétrica (C.E.), utilizando-se Condutímetro Portátil Modelo CD 4303, visando verificar a variação de NaCl na solução nutritiva, pois esta variação da concentração pode ocorrer pela evaporação da solução e pela transpiração foliar. Salienta-se que, devido à ausência, na literatura pertinente, do valor padrão para a C.E. em solução nutritiva para o crescimento de plântulas de guandu, foi calculada a média de três leituras da C.E na solução nutritiva com NaCl (Tabela 2) a qual foi adotada como valor de referência para o monitoramento que foi realizado a cada três dias.

## **2.2. Plântulas submetidas ao estresse salino e 0,5 mM de poliamina**

Para verificar os efeitos de genótipos e estresse salino com aplicação de 0,5 mM de Spd, as plântulas foram aclimatadas, utilizando-se do mesmo procedimento acima citado. Assim, após 20 dias de aclimação, as plântulas com 30 DAS, foram colocadas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1/1 força) com os diferentes níveis de estresse salino, 0; 20; 60 e 80 mM de cloreto de sódio (NaCl), com aplicação de 0,5 mM da poliamina (Spd), Spermidine Free Base Molecular Biology Marca SIGMA S-0266.

O pH da solução nutritiva e a condutividade elétrica também foram monitorados, conforme a metodologia acima citada (Tabela 2). Salienta-se que a aplicação de 0,5 mM de Spd não causou alteração na condutividade elétrica.

As plântulas foram mantidas sob estresse salino com NaCl e mantidas ao estresse salino com NaCl + 0,5 mM de Spd, durante 20 dias, sendo ao final deste período (plântulas com 50 dias de idade) realizada a determinação dos teores de glicina betaína.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 2x2x4, com os fatores genótipos ( $G_1$  e  $G_2$ ), concentrações de espermidina ( $Spd_1$  e  $Spd_2$ ) e níveis de NaCl ( $ES_1$ ,  $ES_2$ ,  $ES_3$  e  $ES_4$ ). Foram realizadas cinco repetições, por tratamento.

## **3. Crescimento inicial e teores de glicina betaína**

### **3.1. Crescimento da parte aérea**

Após 20 dias de estresse, as plântulas de guandu foram cortadas na altura do colo, avaliando-se em seguida a altura (cm), o número de folhas (simples e compostas), massa seca da parte aérea (g) e área foliar ( $dm^2$ ) a qual foi determinada através do sistema de análise de imagens Delta-T Devices LTD pelo software Delta-T Image Analysis System. Para determinação da massa seca da parte aérea utilizou-se uma balança analítica Denver Instrument Company AA-200, com precisão de  $1 \times 10^{-8}$  g.

**Tabela 2.** Teste de Tukey da condutividade elétrica (C.E. em  $\text{mS cm}^{-1}$ ) na solução nutritiva com cloreto de sódio (NaCl) e com aplicação exógena de 0,5mM de espermidina (NaCl + Spd). Jaboticabal, SP. 2005-2006.

<b>Solução Nutritiva</b>	<b>Tratamentos (mM)</b>	<b>Teste de Tukey da C.E. (<math>\text{mS cm}^{-1}</math>)</b>
NaCl	0	2,14 <b>D</b>
NaCl + 0,5 Spd	0	2,20 <b>D</b>
NaCl	20	4,17 <b>C</b>
NaCl + 0,5 Spd	20	4,27 <b>C</b>
NaCl	60	8,01 <b>B</b>
NaCl + 0,5 Spd	60	8,06 <b>B</b>
NaCl	80	9,76 <b>A</b>
NaCl + 0,5 Spd	80	9,82 <b>A</b>
Desvio Padrão		0,0493
Erro Padrão da Média		0,0285
Coefficiente de Variação (%)		0,8100

Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); Média de três leituras utilizando-se Condutivímetro Portátil Modelo CD 4303

### 3.2. Quantificação de glicina betaína

A quantificação de glicina betaína foi realizada no laboratório de Fisiologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), em Jaboticabal.

Após 20 dias sob os diferentes tratamentos de salinidade e aplicação exógena de Spd (plântulas com idade de 50 dias), foi realizada a quantificação dos teores de glicina betaína da parte aérea dos genótipos de guandu, de acordo com a metodologia GRIEVE & GRATTAN (1983).

Para tanto, as folhas coletadas de cada tratamento foram acondicionadas em sacos de papel, previamente identificados, e levadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 80°C durante quatro dias e, em seguida, o material foi moído.

Os extratos foram preparados com adição de 10 mL de água deionizada para 0,25 g de material moído. Subseqüentemente os extratos permaneceram durante 24 horas sob agitação em temperatura de 25°C, após este período os extratos foram filtrados e armazenados a -17°C até a realização das análises.

Os extratos foram descongelados e misturados na proporção de 1:1 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N sendo em seguida mantido em água gelada durante 1 hora. Previamente, foi preparado o reagente KI-I<sub>2</sub>. Para tanto, foram diluídos 15,7g de iodo e 20g de KI em 100ml de água destilada, 0,2 mL deste reagente foi adicionado ao extrato e levemente agitado. Os tubos com os extratos foram mantidos à temperatura de 4°C durante 16 horas para terminar a reação, em seguida os tubos foram centrifugados a 11872 x g/15 minutos à 0°C. O sobrenadante foi cuidadosamente retirado com uma micropipeta permanecendo apenas os cristais de periodato, os quais foram dissolvidos em 9,0mL de 1,2-dicloroetano. Após 2 horas e 30 minutos, foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 365nm no espectrofotômetro Beckman DU 640.



#### 4. Análise estatística

Nos dados obtidos foi empregado o tratamento estatístico das características individuais (BANZATTO & KRONKA, 2006). Para tanto, foi empregada a análise de variância pelo teste F utilizando-se do teste de Tukey para a comparação entre médias dos fatores qualitativos, genótipos (G) e espermidina (Spd). Para o desdobramento dos graus de liberdade do fator quantitativo estresse salino (ES), foi utilizada a análise da regressão polinomial. Salienta-se que, para a avaliação do parâmetro fisiológico número de folhas, os dados foram, primeiramente, analisados quanto à homogeneidade pelo teste de Levene (SANTANA & RANAL, 2000) indicando transformação em  $\sqrt{x+1}$ .

#### IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância e os resultados do teste de Tukey das avaliações do crescimento inicial da parte aérea de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino associado à aplicação exógena de espermidina (Spd) em solução nutritiva (Tabela 3), evidenciam que a interação genótipos e Spd (G x Spd) não foram significativas para as avaliações efetuadas, indicando que o efeito da Spd para o crescimento inicial da parte aérea foi exatamente igual nos genótipos IAC Fava Larga e Caqui.

Todavia, verifica-se que houve diferenças significativas para o fator genótipos, para altura e área foliar, e para o fator Spd, em todos os parâmetros avaliados de crescimento (Tabela 3). Pela análise do teste de Tukey, verifica-se que o genótipo Caqui apresentou maior altura que o 'IAC Fava Larga', entretanto, o genótipo IAC Fava Larga exibiu maior área foliar que o 'Caqui'. Também, foi observado que a aplicação exógena de Spd reduziu, significativamente, o crescimento inicial da parte aérea de ambos genótipos (Tabela 3).

A interação genótipos e estresse salino (G x ES) não foi significativa nas avaliações de altura e massa seca da parte aérea (Tabela 3), demonstrando que, as concentrações de NaCl utilizadas neste estudo apresentaram o mesmo efeito em ambos genótipos de guandu.

Todavia, o fator estresse salino foi significativo para as referidas avaliações (Tabela 3), assim, no estudo da regressão polinomial para o efeito do estresse salino, observa-se resultados significativos, apresentando regressões lineares (Tabelas 4 e 5). Nota-se que, com o aumento das concentrações de NaCl na solução nutritiva, houve reduções gradativas da altura e da massa seca da parte aérea de ambos genótipos (Figuras 1 e 2). Quando as plantas estão sob estresse salino com NaCl, o excesso de íons conduz ao estresse hídrico, causando nas plantas a redução da taxa de absorção de água, que influencia os processos de divisão e alongamento celular (TESTER & DAVENPORT, 2003). Salienta-se que, a altura é um indicador potencial do vigor da

**Tabela 3.** Análise de variância e teste de Tukey de altura (cm), folhas (número), área foliar (dm<sup>2</sup>) e massa seca da parte aérea (g) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa Da Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Altura (cm)	Folhas <sup>1,2</sup> (número)	Área Foliar (dm <sup>2</sup> )	Massa Seca <sup>3</sup> (g)
Genótipos (G)	1	199,0805**	0,1177 <sup>ns</sup>	4453,4261*	0,0104 <sup>ns</sup>
Espermidina (Spd)	1	657,8045**	6,5247**	309711,1252**	0,6408**
Estresse salino (ES)	3	5191,5310**	35,8840**	1483087,8830**	1,6986**
Interação (GxSpd)	1	6,7280 <sup>ns</sup>	0,0008 <sup>ns</sup>	6,9969 <sup>ns</sup>	0,0033 <sup>ns</sup>
Interação (GxES)	3	3,2968 <sup>ns</sup>	0,1851*	17025,6807**	0,0040 <sup>ns</sup>
Interação (SpdxES)	3	281,2935**	0,6651**	46055,5718**	0,1291**
Interação (GxSpdxES)	3	12,6283 <sup>ns</sup>	0,0097 <sup>ns</sup>	4913,1799**	0,0010 <sup>ns</sup>
Blocos	4	19,8886 <sup>ns</sup>	0,0240 <sup>ns</sup>	3383,1460**	0,0021 <sup>ns</sup>
Resíduo	60	23,5154	0,0504	676,7194	0,0047
C. V. (%)		6,7827	3,8994	6,9125	11,7164
<b>Teste de Tukey<sup>4</sup></b>					
IAC Fava Larga		69,9175B	5,7949A	383,7929A	0,5741A
Caqui		73,0725A	5,7182A	368,8708B	0,5969A
Spd – 0,0 mM		74,3625A	6,0421A	438,5523A	0,6750A
Spd – 0,5 mM		68,6275B	5,4709B	314,1114B	0,4960B
DMS		2,1699	0,1004	11,6402	0,0307

<sup>ns</sup>: não significativo (P > 0,05); \*\*: significativo a 1% (P < 0,01); \*: significativo a 5% (P < 0,05); C.V.: Coeficiente de Variação; <sup>1</sup>Número de folhas simples e compostas; <sup>2</sup> Dados transformados em  $\sqrt{x+1}$ ; <sup>3</sup>Parte Aérea; <sup>4</sup>Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05). DMS: Diferença Mínima Significativa.

**Tabela 4.** Regressão polinomial da altura (cm) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

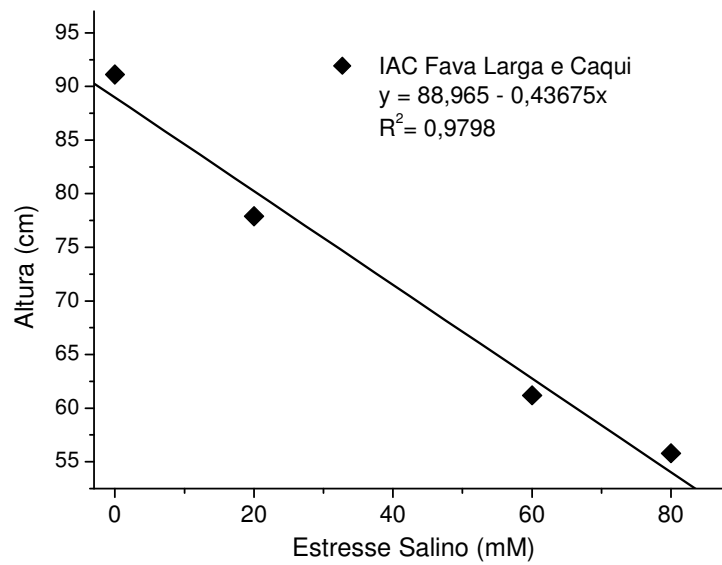
Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coeficiente de Determinação (R <sup>2</sup> )
		Altura (cm)	
R.L. para ES	1	15260,0450**	0,9798
R.Q. para ES	1	307,3280**	0,9995
R.C. para ES	1	7,2200 <sup>ns</sup>	1,0000
Residuo	60	23,5154	

<sup>ns</sup>: não significativo (P > 0,05); \*\*: significativo a 1% (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: Estresse Salino.

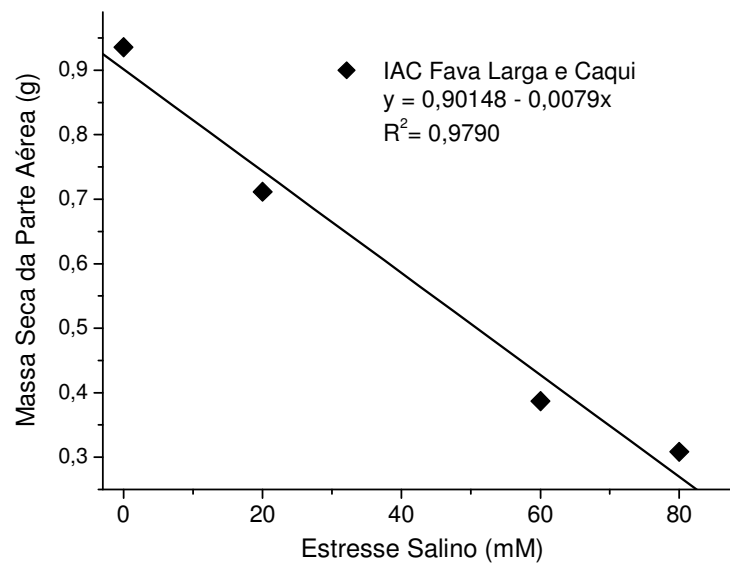
**Tabela 5.** Regressão polinomial da massa seca da parte aérea (g) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	Coeficiente de Determinação (R <sup>2</sup> )
		Massa Seca <sup>1</sup> (g)	
R.L. para ES	1	4,9896**	0,9790
R.Q. para ES	1	0,1063**	0,9998
R.C. para ES	1	0,0010 <sup>ns</sup>	1,0000
Residuo	60	0,0047	

<sup>1</sup>Parte Aérea; <sup>ns</sup>: não significativo (P > 0,05); \*\*: significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: Estresse Salino.



**Figura 1.** Altura (cm) de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.



**Figura 2.** Massa seca (g) da parte aérea de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

planta, e este parâmetro é muito sensível ao estresse hídrico devido à menor turgescência das células, a qual diminui a expansão celular e, conseqüentemente, o alongamento caulinar (NOBRE et al., 2003; Kramer, 1969 citado por MARIN 2003). Também, a redução do crescimento, para genótipos sensíveis, é causada pelos efeitos de toxicidade dos sais no interior das células, sendo este, um fator adicional para a redução do crescimento vegetal (MUNNS, 2005). Salienta-se que, a taxa de crescimento e a produção de biomassa são bons critérios para a avaliação do grau de estresse e da capacidade da planta de superar o estresse salino (FERREIRA, 2005). De fato, os efeitos do estresse salino na redução do crescimento da parte aérea de ambos genótipos de guandu, apresentados no presente trabalho, corroboram com os estudos de vários autores com diversas espécies vegetais, tal como beterraba, algodão, soja (MUNNS, 2002), milho (AZEVEDO NETO et al., 2004), grão-de-bico (GARG & SINGLA, 2004) e alfafa (VEATCH et al., 2004).

Com relação ao número de folhas e área foliar, houve efeito significativo na interação G x ES (Tabela 3). Deste modo, no estudo da regressão polinomial, verifica-se que ambos genótipos apresentaram regressões lineares tanto para o número de folhas quanto para a área foliar (Tabelas 6 e 7, respectivamente).

Os efeitos do NaCl evidenciaram acentuada redução no número de folhas e na área foliar de guandu (Figuras 3 e 4, respectivamente). O genótipo IAC Fava Larga apresentou maior número de folhas e área foliar no tratamento de 20 mM de NaCl, enquanto o genótipo Caqui apresentou plântulas com maior área foliar nos tratamentos de 60 mM e 80 mM de NaCl (*vide* Tabelas I e II do apêndice).

O estresse salino causa redução do número de folhas (Ghoulam et al., 2002 citados por FERREIRA, 2005), pois em folhas maduras, a redução da fotossíntese induzida pela salinidade, pode contribuir para o menor crescimento das folhas jovens (MUNNS, et al., 2002).

O cultivo de plantas em ambientes salinizados evidencia redução da área foliar e taxa de crescimento (Bernstein et al., 1993 citados por FERREIRA, 2005). Tal redução pode limitar a fixação de carbono e a produtividade vegetal sob estresse salino, pois há

**Tabela 6.** Regressão polinomial das folhas (número) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação (R <sup>2</sup> )
		Folhas (número) <sup>1,2</sup>		
R.L. para ES d. G1	1	60,3773**		0,9930
R.Q. para ES d. G1	1	0,0263 <sup>ns</sup>		0,9934
R.C. para ES d. G1	1	0,3992**		1,0000
R.L. para ES d. G2	1	46,9707**		0,9909
R.Q. para ES d. G2	1	0,3323*		0,9979
R.C. para ES d. G2	1	0,1014 <sup>ns</sup>		1,0000
Resíduo	60	0,0504		

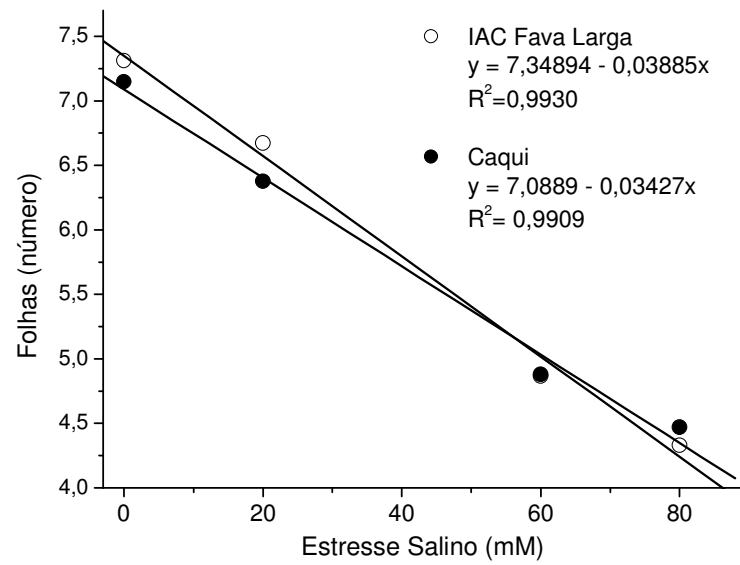
<sup>1</sup>Número de folhas simples e compostas; <sup>2</sup>Dados transformados em  $\sqrt{x+1}$ ; <sup>ns</sup>: não significativo (P > 0,05); \*: significativo (P < 0,05); \*\*: significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: estresse salino; G1: IAC Fava Larga; G2: Caqui.

**Tabela 7.** Regressão polinomial da área foliar ( $\text{dm}^2$ ) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

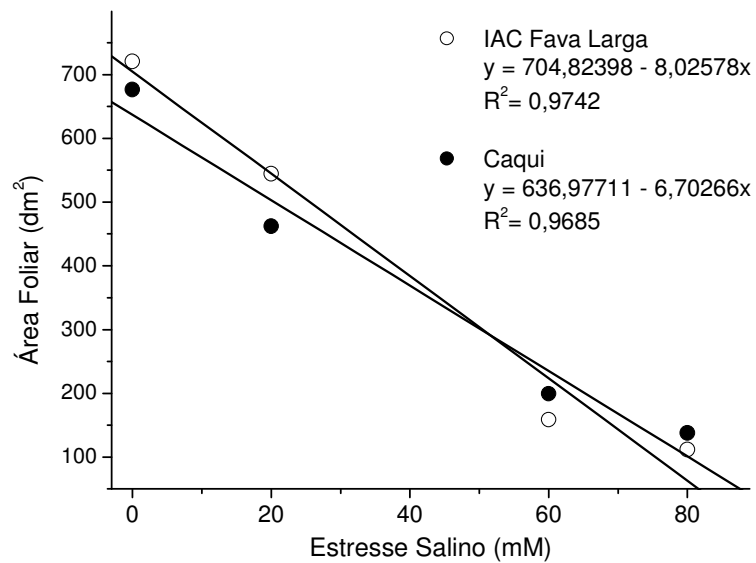
Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação ( $R^2$ )
		Área Foliar ( $\text{dm}^2$ )		
R.L. para ES d. G1	1	2576523,5371**		0,9742
R.Q. para ES d. G1	1	41804,9532**		0,9900
R.C. para ES d. G1	1	26501,7562**		1,0000
R.L. para ES d. G2	1	1797025,5068**		0,9685
R.Q. para ES d. G2	1	58326,6711**		0,9999
R.C. para ES d. G2	1	158,2665 <sup>ns</sup>		1,0000
Resíduo	60	676,7194		

<sup>ns</sup>: não significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: estresse salino; G1: IAC Fava Larga; G2: Caqui.





**Figura 3.** Folhas (número) de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.



**Figura 4.** Área foliar (dm²) de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

menor absorção de dióxido de carbono e, conseqüente diminuição da capacidade fotossintética (ZHU, 2001; GOMES et al., 2004).

Na interação espermidina e estresse salino (Spd x ES), houve efeito significativo para todas as avaliações do crescimento inicial da parte aérea (Tabela 3). Assim, no estudo da regressão polinomial, observou-se que, nos tratamentos isento de Spd e com aplicação exógena de 0,5 mM de Spd houve regressão linear para altura (Tabela 8 e Figura 5), número de folhas (Tabela 9 e Figura 6), área foliar (Tabela 10 e Figura 7) e massa seca da parte aérea (Tabela 11 e Figura 8). Nota-se, de modo geral, que o aumento das concentrações de NaCl causaram acentuada redução do crescimento das plântulas de guandu, entretanto, a presença de Spd causou efeito deletério, intensificando a redução da altura no tratamento de 20 mM de NaCl, do número de folhas, da área foliar e da massa seca da parte aérea nos tratamentos de 20 mM e 60 mM de NaCl, não apresentando qualquer influência na atenuação dos efeitos da toxicidade do estresse salino (*vide* Tabelas III, IV, V e VI do apêndice).

Salienta-se que, as poliaminas putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm) estão presentes nos vegetais e os níveis podem variar de acordo com as espécies estudadas e diferentes condições ambientais (CHATTOPADHAYAY et al., 2002). Em plantas sob estresse salino, o conteúdo de poliaminas pode aumentar ou diminuir, dependendo do tecido, da espécie, da concentração salina e da duração deste estresse (MO & PUA, 2002). Na leguminosa forrageira *Lotus glaber* L., a salinidade promove redução de Spd e aumento de Spm (SANCHEZ et al., 2005). Ainda, em folhas de tomate submetidas a condições salinas, ocorre aumento no conteúdo de Spm e diaminopropano (produto da degradação de espermidina e espermina) e redução no conteúdo de Put e Spd (MO & PUA, 2002). Em arroz sob efeito da salinidade, ocorre aumento nos níveis de Put, Spd e Spm (KRISHNAMURTHY & BHAGWAT, 1989). Em calos de *Eucalyptus* sob condições salinas (NaCl) ocorre aumento nos teores de Put e decréscimo de Spd (LIMA et al., 2002). Portanto, o guandu sob condições de estresse salino pode ter a capacidade de acumular poliaminas, entretanto, não especificamente de Spd.

**Tabela 8.** Regressão polinomial da altura (cm) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

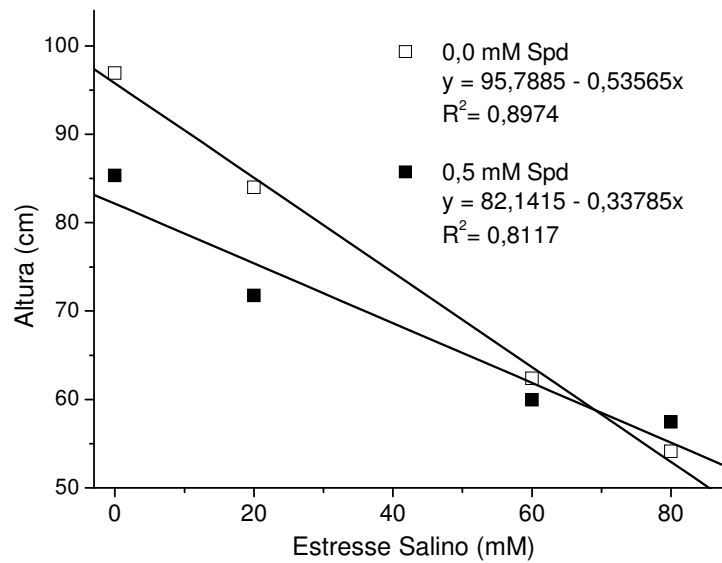
Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação (R <sup>2</sup> )
		Altura (cm)		
R.L. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	10348,5141**		0,8974
R.Q. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	843,8961**		0,9706
R.C. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	339,1606**		1,0000
R.L. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	3966,4945**		0,8117
R.Q. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	897,4256**		0,9953
R.C. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	22,9827 <sup>ns</sup>		1,0000
Resíduo	60	23,5154		

<sup>ns</sup>: não significativo (P > 0,05); \*\*: significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: Estresse Salino.

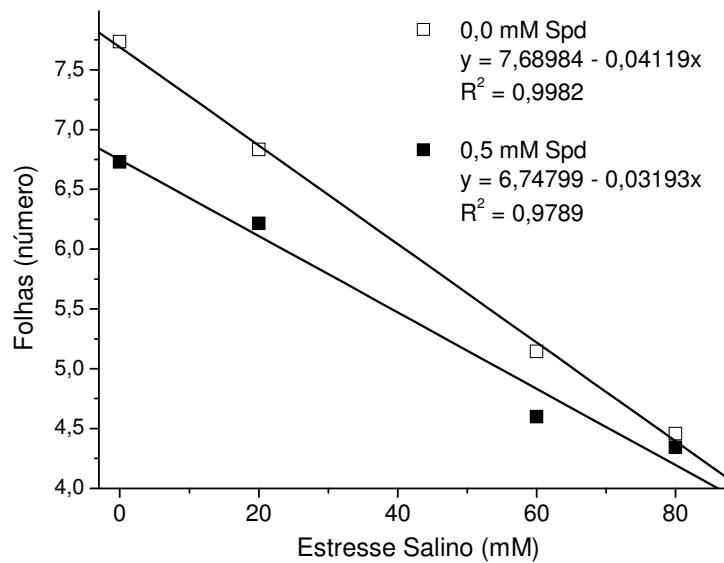
**Tabela 9.** Regressão polinomial das folhas (número) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação (R <sup>2</sup> )
		Folhas (número) <sup>1,2</sup>		
R.L. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	67,8747**	0,9982	
R.Q. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	0,1129 <sup>ns</sup>	0,9998	
R.C. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	0,0108 <sup>ns</sup>	1,0000	
R.L. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	40,7706**	0,9789	
R.Q. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	0,1621 <sup>ns</sup>	0,9828	
R.C. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	0,7161**	1,0000	
Resíduo	60	0,0504		

<sup>1</sup>Número de folhas simples e compostas; <sup>2</sup>Dados transformados em  $\sqrt{x+1}$  <sup>ns</sup>: não significativo (P > 0,05); \*\*; significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: Estresse Salino.



**Figura 5.** Altura (cm) de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.



**Figura 6.** Folhas (número) de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

**Tabela 10.** Regressão polinomial da área foliar ( $\text{dm}^2$ ) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

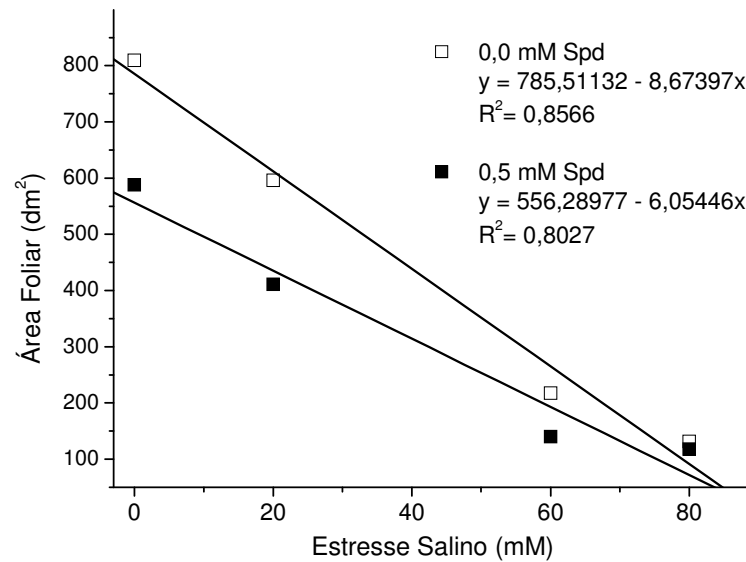
Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação ( $R^2$ )
		Área Foliar ( $\text{dm}^2$ )		
R.L. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	2618273,9747**		0,8566
R.Q. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	314570,3215**		0,9595
R.C. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	123635,7108**		1,0000
R.L. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	1228897,9777**		0,8027
R.Q. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	243892,3921**		0,9620
R.C. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	58159,9875**		1,0000
Resíduo	60	676,7194		

\*\* : significativo ( $P < 0,01$ ); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: Estresse Salino.

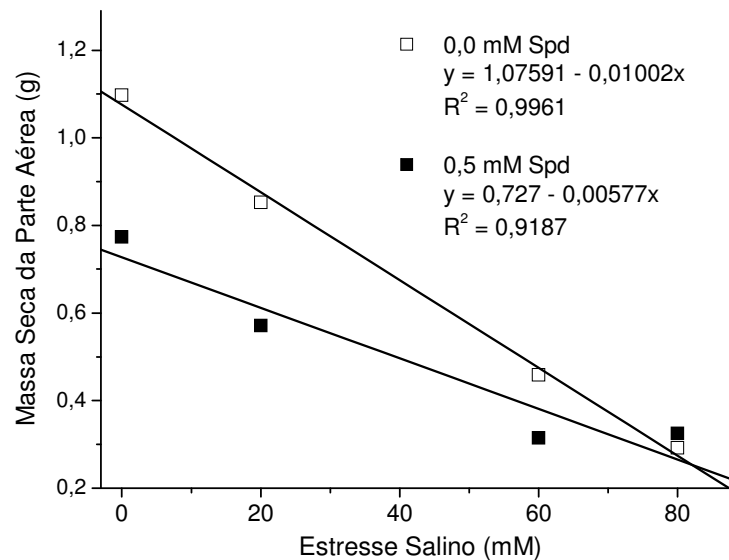
**Tabela 11.** Regressão polinomial da massa seca (g) da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação (R <sup>2</sup> )
		Massa Seca <sup>1</sup> (g)		
R.L. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	4,0176**		0,9961
R.Q. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	0,0152 <sup>ns</sup>		0,9999
R.C. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	0,0004 <sup>ns</sup>		1,0000
R.L. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	1,3331**		0,9187
R.Q. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	0,1140**		0,9972
R.C. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	0,0041 <sup>ns</sup>		1,0000
Resíduo	60	0,0047		

<sup>1</sup>Parte aérea; <sup>ns</sup>: não significativo (P > 0,05); \*\*: significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: Estresse Salino.



**Figura 7.** Área foliar (dm<sup>2</sup>) de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.



**Figura 8.** Massa seca da parte aérea (g) de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.



A análise de variância evidencia efeito significativo para a área foliar na interação tripla, G x Spd x ES (Tabela 3). O estudo da regressão polinomial apresentou regressão linear (Tabela 12), tanto em plântulas sob NaCl quanto em plântulas submetidas aos efeitos simultâneos de 0,5 mM de Spd e estresse salino, evidenciando significativa redução da área foliar conforme o aumento das concentrações de NaCl (Figura 9). Também, pode ser notado que, a aplicação de Spd intensificou a redução da área foliar nos genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui (Figura 9).

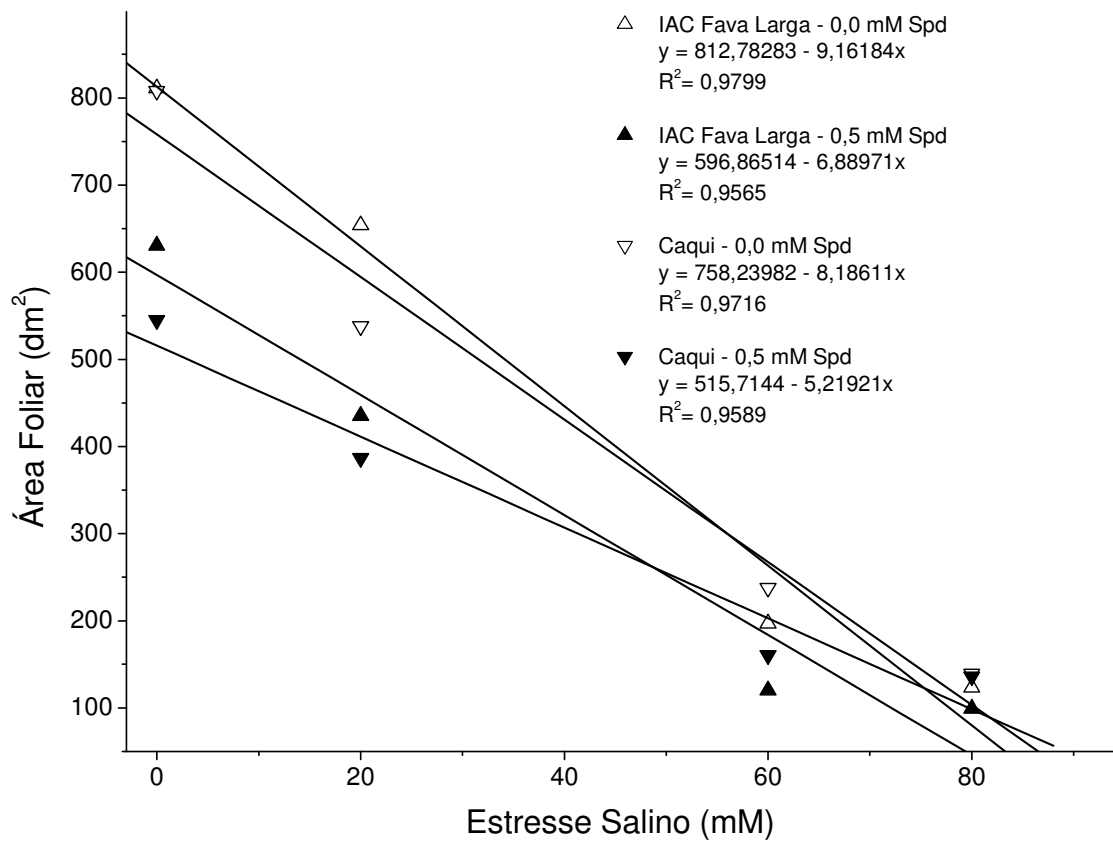
Quanto aos teores de glicina betaína da parte aérea de guandu sob estresse salino associado à aplicação exógena de Spd em solução nutritiva, a análise de variância e os resultados do teste de Tukey (Tabela 13) revelaram que, a interação genótipos e Spd (G x Spd) não foi significativa, indicando que o efeito de Spd nos teores de glicina betaína da parte aérea foi exatamente igual nos genótipos IAC Fava Larga e Caqui. Contudo, verifica-se que houve diferença significativa para os fatores genótipos e Spd (Tabela 13). Assim, o teste de Tukey evidenciou que houve maior quantidade de glicina betaína na parte aérea do genótipo Caqui. Ainda, a aplicação exógena de Spd reduziu significativamente os teores de glicina betaína nos genótipos de guandu (Tabela 13).

No estudo da regressão polinomial para a interação G x ES nos teores de glicina betaína, observa-se que, houve resultado significativo, apresentando regressão quadrática para o 'IAC Fava Larga' e cúbica para o genótipo Caqui (Tabela 14). Nota-se que, a partir de 30,85 mM de NaCl houve acúmulo de glicina betaína ( $33,42 \mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) no genótipo IAC Fava Larga (Figura 10), enquanto para o 'Caqui', houve uma resposta mais complexa com regressão cúbica, a qual mostrou que a partir de 13,26 mM de NaCl ocorreu acúmulo de glicina betaína ( $34,75 \mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) atingindo o máximo ( $61,23 \mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) em 66,63 mM de NaCl (Figura 10). Verifica-se que, houve acúmulo de glicina betaína à medida que ocorreu o aumento da salinidade no substrato. O genótipo Caqui apresentou maior acúmulo de glicina betaína em 60 mM de NaCl, enquanto o genótipo IAC Fava Larga apresentou plântulas com maior acúmulo desta substância no tratamento de 80 mM de NaCl (*vide* Tabela VII do apêndice).

**Tabela 12.** Regressão polinomial da área foliar (dm<sup>2</sup>) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), com ou sem aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação (R <sup>2</sup> )
		Área Foliar (dm <sup>2</sup> )		
R.L. para ES d. G1 - Spd (0,0 mM)	1	1678786,9767**	0,9799	
R.Q. para ES d. G1 - Spd (0,0 mM)	1	8762,0934**	0,9850	
R.C. para ES d. G1 - Spd (0,0 mM)	1	25652,8917**	1,0000	
R.L. para ES d. G1 - Spd (0,5 mM)	1	949362,3533**	0,9565	
R.Q. para ES d. G1 - Spd (0,5 mM)	1	38238,9117**	0,9951	
R.C. para ES d. G1 - Spd (0,5 mM)	1	4908,3638**	1,0000	
R.L. para ES d. G2 - Spd (0,0 mM)	1	1340247,2838**	0,9716	
R.Q. para ES d. G2 - Spd (0,0 mM)	1	36774,4026**	0,9983	
R.C. para ES d. G2 - Spd (0,0 mM)	1	2340,9766 <sup>ns</sup>	1,0000	
R.L. para ES d. G2 - Spd (0,5 mM)	1	544803,0605**	0,9589	
R.Q. para ES d. G2 - Spd (0,5 mM)	1	22433,7454**	0,9984	
R.C. para ES d. G2 - Spd (0,5 mM)	1	935,8868 <sup>ns</sup>	1,0000	
Resíduo	60	676,7194		

<sup>ns</sup>: não significativo (P > 0,05); \*\*: significativo (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: estresse salino; G1: IAC Fava Larga; G2: Caqui.



**Figura 9.** Área foliar ( $\text{dm}^2$ ) de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

**Tabela 13.** Análise de variância e teste de Tukey dos teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

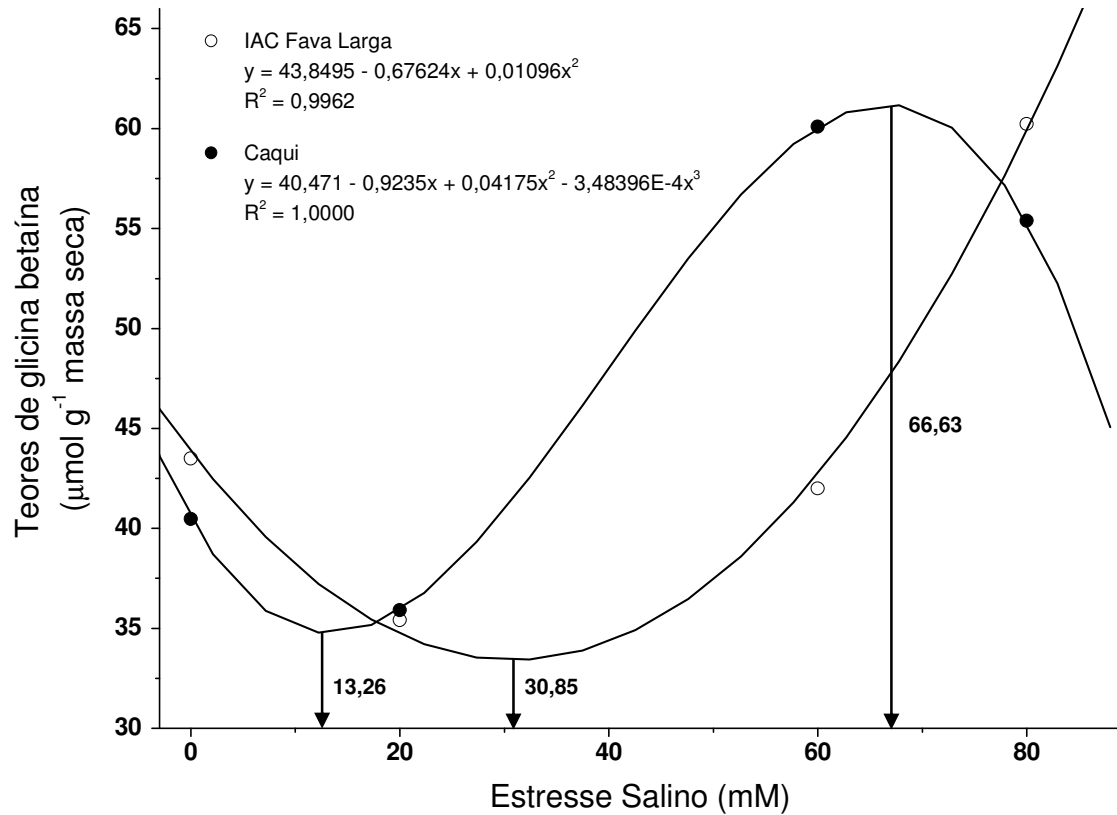
Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)
Genótipos (G)	1	143,5676*
Espermidina (Spd)	1	360,3581**
Estresse salino (ES)	3	1907,8005**
Interação (GxSpd)	1	40,2003 <sup>ns</sup>
Interação (GxES)	3	552,1201**
Interação (SpdxES)	3	144,0239**
Interação (GxSpdxES)	3	121,3722**
Blocos	4	68,0272*
Resíduo	60	26,7038
C.V. (%)		11,0833
<b>Teste de Tukey<sup>1</sup></b>		
IAC Fava Larga		45,2850 <b>B</b>
Caqui		47,9643 <b>A</b>
Spd – 0,0 mM		48,7470 <b>A</b>
Spd – 0,5 mM		44,5023 <b>B</b>
DMS		2,3123

<sup>ns</sup>: não significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P < 0,01$ ); \*: significativo a 5% ( $P < 0,05$ ); <sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); DMS: Diferença Mínima Significativa.

**Tabela 14.** Regressão polinomial dos teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação ( $R^2$ )
		Glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)		
R.L. para ES d. G1	1	1603,6020**	0,4729	
R.Q. para ES d. G1	1	1728,4361**	0,9962	
R.C. para ES d. G1	1	12,7092 <sup>ns</sup>	1,0000	
R.L. para ES d. G2	1	2916,3240**	0,7228	
R.Q. para ES d. G2	1	0,0555 <sup>ns</sup>	0,7228	
R.C. para ES d. G2	1	1118,6349**	1,0000	
Resíduo	60	26,7038		

<sup>ns</sup>: não significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica. ES: Estresse Salino; G1: IAC Fava Larga; G2: Caqui.



**Figura 10.** Teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) da parte aérea de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

No genótipo Caqui, o acúmulo de glicina betaína ocorreu em condições de menor salinidade (13,26 mM de NaCl), comparando-se com IAC Fava Larga (30,85 mM de NaCl). Porém, no 'Caqui' a partir de 66,63 mM de NaCl ocorreu significativo declínio dos teores de glicina betaína (Figura 10), indicando que as plântulas deste genótipo apresentam ajustamento osmótico, através do acúmulo de glicina betaína, apenas sob estresse salino entre 10 a 70 mM de NaCl. Os resultados encontrados para o genótipo Caqui podem indicar que houve aumento de Na<sup>+</sup> e do Cl<sup>-</sup> no citoplasma, pelo fato de ter excedido a capacidade deste genótipo a compartimentalizar os sais no vacúolo e, conseqüentemente, causar inibição das atividades enzimáticas (MUNNS et al., 2006), conduzindo a redução da biossíntese de glicina betaína a partir de 66,63 mM de NaCl.

Com relação ao genótipo IAC Fava Larga, a regressão quadrática positiva a partir de 30,85 mM de NaCl indica que ocorreu acúmulo de glicina betaína com o aumento das concentrações de NaCl (Figura 10). Tais resultados são compatíveis com os encontrados na literatura, na qual é relatada que a biossíntese de glicina betaína pode ser induzida, principalmente, sob condições de estresse salino (BRAY et al., 2000; MUNNS, 2002), podendo o teor desta substância variar, amplamente, entre as espécies, atingindo de 40 a 400  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca (SAKAMOTO & MURATA, 2002). Entretanto, algumas espécies agronomicamente importantes (cenoura, feijão-soja, mamona, tabaco e mostarda) são incapazes de sintetizar este osmólito (CHA-UM et al., 2006). Ademais, o acúmulo de glicina betaína está restrito a um pequeno grupo de plantas cultivadas, tais como cevada, beterraba (GIBON et al., 1997) e espinafre (SAKAMOTO & MURATA, 2002).

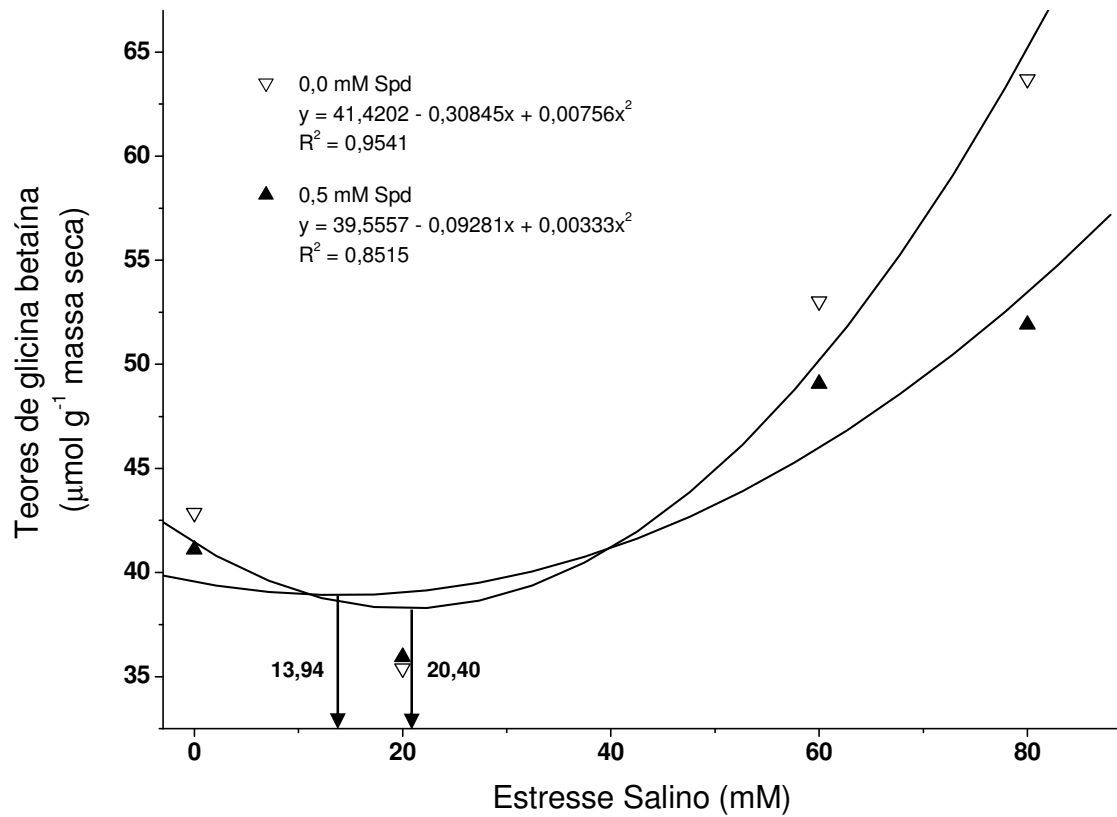
Na interação Spd x ES, houve efeito significativo para os teores de glicina betaína (Tabela 13). Assim, no estudo da regressão polinomial, observa-se que, nos tratamentos isento de Spd e com aplicação exógena de 0,5 mM de Spd houve regressões quadráticas (Tabela 15). Os resultados indicam que, não houve atenuação do estresse salino pela Spd devido à acentuada redução de glicina betaína a partir de 40 mM de NaCl (Figura 11), com significativa redução no tratamento de 80 mM de NaCl (*vide* Tabela VIII do apêndice). Em contrapartida, detectou-se que a Spd induziu a.

**Tabela 15.** Regressão polinomial dos teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação ( $R^2$ )
		Glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)		
R.L. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	3519,3370**	0,7732	
R.Q. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	823,7378**	0,9541	
R.C. para ES d. Spd (0,0 mM)	1	208,7447**	1,0000	
R.L. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	1205,7562**	0,7519	
R.Q. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	159,7201*	0,8515	
R.C. para ES d. Spd (0,5 mM)	1	238,1775**	1,0000	
Resíduo	60	26,7038		

\*\* : significativo ( $P < 0,01$ ); \* : significativo ( $P < 0,05$ ); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: Estresse Salino.





**Figura 11.** Teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) da parte aérea de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

síntese de glicina betaína em menores níveis de NaCl comparando-se com a ausência exógena de Spd, respectivamente 13,94 mM e 20,40 mM de NaCl (Figura 11).

Na literatura pertinente são escassos os estudos sobre o efeito da Spd exógena no acúmulo de glicina betaína nas plantas. No entanto, a biossíntese de glicina betaína está relacionada com a enzima betaína aldeído desidrogenase, BADH (SAKAMOTO & MURATA, 2002), mas esta enzima também pode participar do catabolismo das poliaminas (TROSSAT et al., 1997). Deste modo, a redução no acúmulo de glicina betaína devido à aplicação exógena de Spd, pode estar relacionada tanto a utilização da BADH na biossíntese de glicina betaína quanto no catabolismo da Spd.

Também, para os teores de glicina betaína, houve efeito significativo na interação tripla, G x Spd x ES (Tabela 16). Assim, no estudo da regressão polinomial, verifica-se que sob estresse salino e Spd (0,0 mM e 0,5mM) o genótipo IAC Fava Larga apresentou regressões quadráticas, enquanto o 'Caqui' apresentou regressões cúbicas (Tabela 16).

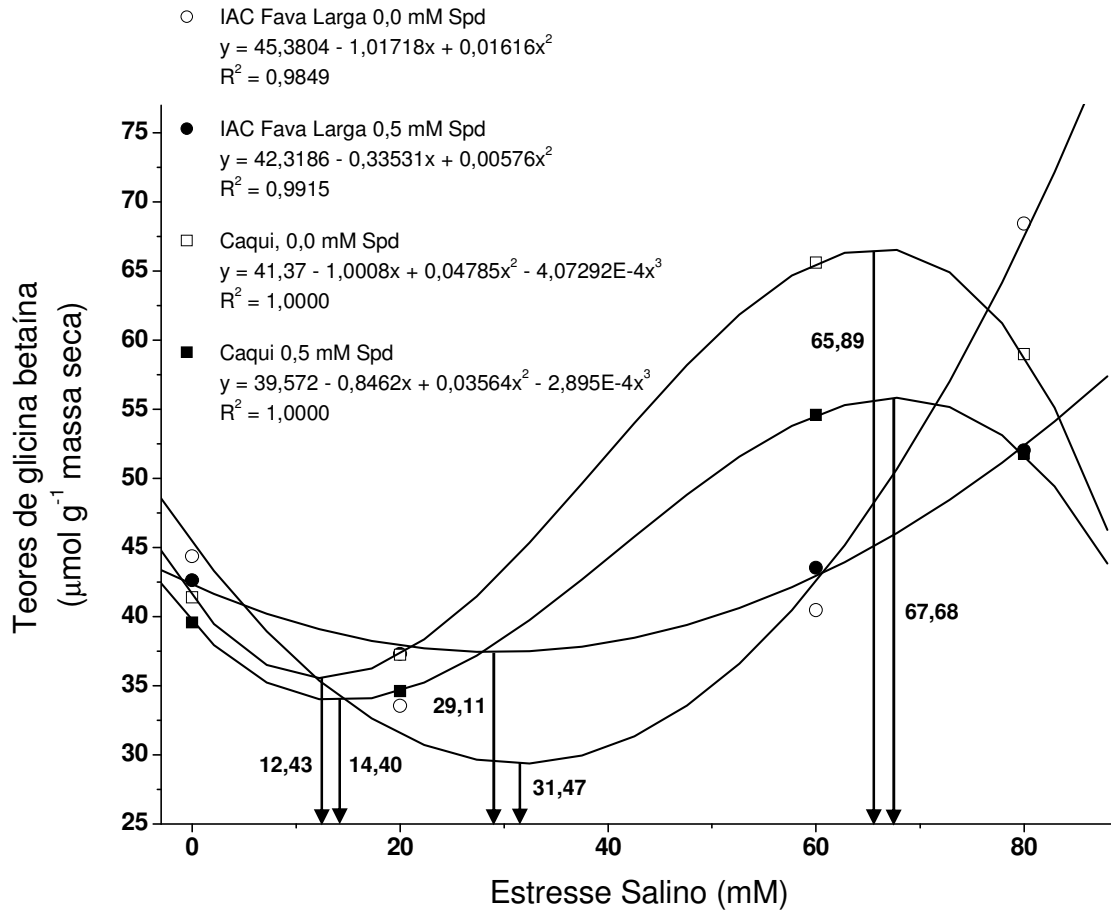
Na comparação do tratamento isento de Spd (0,0 mM), verifica-se que no genótipo Caqui a partir de 12,43 mM de NaCl houve acúmulo de glicina betaína (35,54  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) atingindo o máximo (66,66  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) em 65,89 mM de NaCl. Para o 'IAC Fava Larga', somente, houve acúmulo de glicina betaína (29,37  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) a partir de 31,47 mM de NaCl (Figura 12). O tratamento com Spd exógena (0,5 mM) causou efeitos distintos nos genótipos, com acúmulo de glicina betaína (37,44  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) a partir de 29,11 mM de NaCl no 'IAC Fava Larga' e acúmulo de glicina betaína (33,91  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) no 'Caqui' a partir de 14,40 mM de NaCl atingindo o máximo (55,80  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) em 67,68 mM de NaCl (Figura 12).

Para o 'IAC Fava Larga', nota-se que, a aplicação exógena de Spd promoveu o acúmulo de glicina betaína sob menor nível de estresse salino (29,11 mM), comparando-se com o tratamento isento de Spd, 0,0 mM (31,47 mM). Resultado este não observado no 'Caqui' que, isento de Spd, induziu o acúmulo de glicina betaína em menor nível de NaCl (10,46 mM) quando comparado com a aplicação exógena de Spd (11,87 mM). Ademais, a espermidina causou redução no acúmulo de glicina

**Tabela 16.** Regressão polinomial dos teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		Coeficiente de Determinação ( $R^2$ )
		Glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)		
R.L. para ES d. G1 - Spd (0,0 mM)	1	1515,6917**		0,4397
R.Q. para ES d. G1 - Spd (0,0 mM)	1	1879,2788**		0,9849
R.C. para ES d. G1 - Spd (0,0 mM)	1	52,0608 <sup>ns</sup>		1,0000
R.L. para ES d. G1 - Spd (0,5 mM)	1	313,3005**		0,5629
R.Q. para ES d. G1 - Spd (0,5 mM)	1	238,5332**		0,9915
R.C. para ES d. G1 - Spd (0,5 mM)	1	4,7247 <sup>ns</sup>		1,0000
R.L. para ES d. G2 - Spd (0,0 mM)	1	2021,8441**		0,7237
R.Q. para ES d. G2 - Spd (0,0 mM)	1	7,6261 <sup>ns</sup>		0,7264
R.C. para ES d. G2 - Spd (0,0 mM)	1	764,4050**		1,0000
R.L. para ES d. G2 - Spd (0,5 mM)	1	986,3905**		0,7156
R.Q. para ES d. G2 - Spd (0,5 mM)	1	5,8970 <sup>ns</sup>		0,7198
R.C. para ES d. G2 - Spd (0,5 mM)	1	386,1976**		1,0000
Resíduo	60	26,7038		

<sup>ns</sup>: não significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P < 0,01$ ); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica; ES: estresse salino; G1: IAC Fava Larga; G2: Caqui.



**Figura 12.** Teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) da parte aérea de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

betaína nas concentrações de 80 mM de NaCl para o 'IAC Fava Larga' e 60 mM e 80 mM de NaCl no 'Caqui' (Figura 12).

De fato, nota-se que o aumento dos teores de glicina betaína nos genótipos de guandu sob estresse salino foi inversamente proporcional aos dados encontrados no crescimento inicial da parte aérea dos genótipos de guandu, que evidenciou redução significativa para altura, número de folhas, área foliar e massa seca. Isto denota que, apesar dos benefícios proporcionados pelo acúmulo de osmólito compatível pelas plantas, como é o caso da glicina betaína (CHEN & MURATA, 2002), este mecanismo de ajustamento osmótico não possui efeito direto sobre a continuidade do crescimento vegetal sob condições adversas (McCREE & RICHARDSON, 1987; HARE ET AL., 1998). Ademais, o custo metabólico para produção desta molécula é elevado, pois consome uma quantidade significativa de carbono, que poderia ser utilizada para o crescimento e desenvolvimento vegetal (MUNNS, 2005).

## V. CONCLUSÕES

- A glicina betaína pode ser indicada como um marcador bioquímico-fisiológico do estresse salino, somente para 'IAC Fava Larga'.
- A aplicação exógena de Spd não atenuou os efeitos do estresse salino no crescimento dos genótipos estudados, mas induziu o acúmulo de glicina betaína no genótipo IAC Fava Larga sob menores níveis de NaCl.
- O estresse salino provocou redução do crescimento inicial da parte aérea dos genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui.

## VI. REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, P. B., BUFARAH, G. **Plantas forrageiras: gramíneas & leguminosas**. 4. ed. São Paulo, Nobel. 1988. 162 p.

ALEXIEVA, V.; IVANOV, S.; SERGIEV, I.; KARANOV, E. Interaction between stresses. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Varna, p.1-17, 2003.

ALVES, S.M.C.; ABOUD, A.C.S.; RIBEIRO, R.L.D.; ALMEIDA, D.L. Balanço do nitrogênio e fósforo em solo com cultivo orgânico de hortaliças após a incorporação de biomassa de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.11, p.1111-1117, 2004.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, Oxford, v.166, p.3-16, 2004.

ASHRAT, M.; HARRIS, P.J. C. **Abiotic stresses: Plant resistance through breeding and molecular approaches**. Food Products Press, Haworth Press, Binghamton, USA. 2005, 280 p.

AZCON-BIETO, J., TALON, M. (Coords.). **Fisiologia y Bioquímica Vegetal**. McGraw-Hill Interamericana de España, Madrid. 1993. 581 p.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENEAS-FILHO, J.; LACERDA, C. F.; SILVA, J. V.; COSTA, P. H. A.; GOMES-FILHO, E. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.16, n.1, p.31-38, 2004.

AZIZ, A.; BRUN, O.; AUDRAN, J.C. Involvement of polyamines in the control of fruitlet physiological abscission in grapevine (*Vitis vinifera*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.113, p.50–58, 2001.

- BAIS, H.P.; RAVISHANKAR, G.A. Role of polyamines in the ontogeny of plants and their biotechnological applications. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.69, p.1–34, 2002.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237p.
- BATALHA, L. E. Nenhum país tem a pecuária que nós temos. **Planeta Rural**. Disponível <<http://www.planetarural.com.br/Artigo.asp?Id=80>> Acesso em 26 de outubro de 2005.
- BAYUELO-JIMÉNEZ, J.S.; DEBOUCK, D.G.; LYNCH, J.P. Salinity Tolerance in *Phaseolus* species during early vegetative growth. **Crop Science**, Madison, v.42, p.2184-2192, 2002.
- BEGUM, S.; PRODHAN, A.K.M. Anatomy of the root of pigeonpea (*Cajanus cajan*) **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v.6, n.15, p.1296-1303, 2003.
- BHARDWAJ, H.L.; RANGAPPA, M.; HAMAMA, A.A. Chickpea, faba bean, lupin, mungbean, and pigeonpea: Potential new crops for the Mid-Atlantic region of the United States. **Perspectives on New Crops and New Uses**, Alexandria, p.202-205, 1999.
- BOUCHEREAU, A.; AZIZ, A.; LARHER, F.; MARTIN-TANGUY, J. Polyamines and environmental challenges: recent development. **Plant Science**, Oxford, v.140, p.103-125, 1999.
- BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B., GRUISSEM, W., JONES, R. (eds). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 3ª Impressão. 2000. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, USA. Cap.22, p.1167-1168.
- CHATTOPADHAYAY, M.K.; GUPTA, S.; SENGUPTA, D.N.; GHOSH, B. Expression of arginine decarboxylase in seedlings of indica rice (*Oryza sativa* L.) cultivars as affected by salinity stress. **Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.34, p.477–483, 1997.



CHATTOPADHAYAY, M.K.; TIWARI, B.S.; CHATTOPADHAYAY, G.; BOSE, A.; SENGUPTA, D.N.; GHOSH, B. Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.116, p.192–199, 2002.

CHA-UM, S.; SUPAIBULWATANA, K.; KIRDMANEE, C. Water relation, photosynthetic ability and growth of thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. ssp. indica cv. KDML 105) to salt stress by application of exogenous glycinebetaine and choline. **Journal Agronomy & Crop Science**, Berlin, v.192, p.25-36, 2006.

CHEN, T.H.H.; MURATA, N. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.5, p.250–257, 2002.

CHINNUSAMY V.; JAGENDORF, A.; ZHU, J.K. Understanding and improving salt tolerance in plants. **Crop Science**, Madison, v.45, p.437-448, 2005.

COAN, L.F.B.; SENA C.; BIANCO, D.; LICHTEMBERG, P.S.F.; MILLER, P.R.M.; PEREIRA, A.A.A.; COMIM, J.J. **Recuperação de área degradada por construção de rodovia na praia mole, Florianópolis, SC**. UFSC, 2004. UFSC, Florianópolis, SC. Disponível em: <[http://www.extensio.ufsc.br/20041/artigos\\_pdfs/CCA\\_Jucinei\\_Comin.pdf](http://www.extensio.ufsc.br/20041/artigos_pdfs/CCA_Jucinei_Comin.pdf)> Acesso em: 05 de janeiro de 2005.

COLLI, S. Outros Reguladores: Brassinosteróides, Poliaminas, Ácido Jasmônico e Salicílico. In: KERBAY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo; Guanabara Koogan ed. p.333-340, 2004.

COSTA, N.L.; TOWNSEND, C.R.; MAGALHÃES, J.A.; PEREIRA, R.G.A. **Formação e manejo de pastagens de guandu em Rondônia**. RT/23, EMBRAPA-CPAF Rondônia. n.23, p.1-2, 2001a. Disponível em: <[www.cpafr.embrapa.br/Pesquisa/public2001/past\\_forrag/RT\\_23.PDF](http://www.cpafr.embrapa.br/Pesquisa/public2001/past_forrag/RT_23.PDF)> Acesso em: 12 de dezembro de 2005.

COSTA, P.C.; DIDONE, E.B.; SESSO, T.M.; CAÑIZARES, K.A.L.; GOTO, R. Condutividade elétrica da solução nutritiva e produção de alface em hidroponia. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.3, p.595-597, 2001b.

COUÉE, I.; HUMMEL, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; EL AMRANI, A. Involvement of polyamines in root development. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.76, p.1–10, 2004.

CROZIER, A., KAMIYA, Y., BISHOP, G., YOKOTA, T. Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. In: BUCHANAN, B., GRUISSEM, W., JONES, R. (eds). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 3<sup>a</sup> Impressão. 2000. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, USA. Cap.17, p.911-915.

CUARTERO, J.; BOLARIN, M. C.; ASINS, M. J.; MORENO, V. Increasing salt tolerance in the tomato. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.57, n.5, p.1045–1058, 2006.

DAKORA, F.D. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. **New Phytologist**, Cambridge, v.158, n.1, p.39-49, 2003.

DAVIES, J.P. (ed.). **Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2 ed. 1995. 833 p.

DI MARTINO, C.; DELFINE, S.; PIZZUTO, R.; LORETO, F.; FUGGI, A. Free amino acids and glycine betaine in leaf osmoregulation of spinach responding to increasing salt stress. **New Phytologist**, Cambridge, v.158, p.455-463, 2003.

FERREIRA, M.C.C. **Efeito do sal no crescimento e metabolismo de *Vigna unguiculata* L. Walp e *Vigna luteola* (Jacq.) Benth.** 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, 2005.

FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford University Press, v.55, n.396, p.307-319, 2004

GALSTON, A.W., KAUR-SAWHNEY, R. Polyamines as endogenous growth regulators. In: DAVIES, P.J. **Plant hormones: their role in plant growth and development**. 2.ed. New York: Nijhoff Publishers, 1994. p.280-295.

GARG, N.; SINGLA, R. Growth, photosynthesis, nodule nitrogen and carbon fixation in the chickpea cultivars under salt stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.16, n.3, p.137-146, 2004.

GARTHWAITE, A.J.; VON BOTHMER, R.; COLMER, T.D. Salt tolerance in wild *Hordeum* species is associated with restricted entry of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> into the shoots. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.56, n.419, p.2365–2378, 2005.

GIBON, Y.; BESSIERES, M.A.; LARHER, F. Is glycine betaine a non-compatible solute in higher plants that do not accumulate it? **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.20, p.329-340, 1997.

GODOY, R.; BATISTA, L.A.R.; SOUZA, F.H.D.; PRIMAVESI, A.C. Caracterização de Linhagens Puras Seleccionadas de Guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.3, p.546-555, 2003.

GOMES, E.W.; WILLADINO, L.W.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, S.O.; CAMARA, T.R.; MEUNIER, I.M.J. Diplóides (AA) de bananeira submetidos ao estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.6, p.525-531, 2004.

GONELA, A. **Tolerância ao NaCl em variedades de *Stylosantes guianensis* (Aubl.) Sw.** 1999. 128 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Genética e melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Jaboticabal.

GORHAM, J. Betaines in higher plants – biosynthesis and role in stress metabolism. In: WALLSGROVE, R. M. (Ed.) **Aminoacids and their derivatives in higher plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. p.171-203.

GRIEVE, C.M.; GRATTAN, S.R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, The Hague, v.70, p.303-307, 1983.

HARE, P.D.; CRESS, W.A.; VAN STADEN, J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.21, p.535-553, 1998.

HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A.; ZHU, J.K.; BOHNERT, H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.51, p.463-499, 2000.

HOLANDA, J. S. de. **Manejo de solo salino-sódico na região do baixo Açu-RN**. 1996. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

HUMMEL, I.; QUEMMERAI, F.; GOUESBET, G.; EL AMRANI, A.; FRENOT, Y.; HENNION, F.; COUÉE, I. Characterization of environmental stress responses during early development of *Pringlea antiscorbutica* in the field at Kerguelen. **New Phytologist**, Cambridge, v.162, p.705-715, 2004.

IMAI, A.; MATSUYAMA, T.; HANZAWA, Y.; AKIYAMA, T.; TAMAOKI, M.; SAJI, H.; SHIRANO, Y.; KATO, T.; HAYASHI, H.; SHIBATA, D.; TABATA, S.; KOMEDA, Y.; TAKAHASHI, T. Spermidine synthase genes are essential for survival of *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Rockville, v.135, p.1565-1573, 2004.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS-IAC. **Guandu IAC Fava Larga**. Campinas, 1989. Não paginado. Boletim Técnico.

JUAN, M.; RIVERO, R. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.54, p.193-201, 2005.

KASINATHAN V.; WINGLER, A. Effect of reduced arginine decarboxylase activity on salt tolerance and on polyamine formation during salt stress in *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.121, p.101-107, 2004.

KASUKABE, Y.; HE, L.; NADA, K.; MISAWA, S.; IHARA, I.; TACHIBANA, S. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v.45, n.6, p.712-722, 2004

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Editora Guanabara Koogan S.A. 452 p. 2004.

KOTCHONI, S. O.; BARTELS, D. Water stress induces the up-regulation of a specific set of genes in plants: aldehyde dehydrogenases as an example. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Varna, Special Issue, p.37–51, 2003.

KRISHNAMURTHY, K.; BHAGWAT, K.A. Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars. **Plant Physiology**, Rockville, v.91, p.500-504, 1989.

KUZNESTSOV, V. V.; RARITIN, V.Y.; SADOMOV, N.G.; DAM, D.V.; STETSENRO, L.A.; SHEVYAROVA, N.I. Do polyamines participate in the long – distance translocation of stress signals in plants? **Russian Journal of Plant Physiology**, New York, v.49, n.1, p.120–130, 2002.

LACERDA, C.F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M.A.; RUIZ, H.A. Osmotic adjustment in roots and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.15, n.2, p.113-118, 2003.

LEME R.; FILHO N.L.; COUTO L.B.; BARROS E.; FARIA S.M.; GRIBEL R. **Desenvolvimento de três gramíneas e sete leguminosas forrageiras para revegetação de área de empréstimo de argila na Amazônia Central**. INPA - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia. EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <[www.cemac-ufla.com.br/trabalhospdf/trabalhos%20voluntarios/Protoc%20175.pdf](http://www.cemac-ufla.com.br/trabalhospdf/trabalhos%20voluntarios/Protoc%20175.pdf)> Acesso em: 24 outubro de 2005.

LIMA, G.P.P.; PIZA, I.M.T.; HENRIQUE, A.; TAKAKI, M. Polyamines as salinity biochemical marker in callus of *Eucalyptus urograndis*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.13, n.1, p.43-48, 2002.

LODWIG, E.; POOLE, P. Metabolism of *Rhizobium bacteroids*. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.22, n.1, p.37-78, 2003.

MAATHUIS, F.J.M. The role of monovalent cation transporters in plant responses to salinity. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, Salinity Special Issue, p.1-11, 2005

MARIN, A. **Influência associada do estresse hídrico e do alumínio na germinação e crescimento inicial do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)**. 2003. 87f. Dissertação

(Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal.

MARTHA JÚNIOR, G. B.; CORSI, M. Pastagens no Brasil: Situação Atual e Perspectivas. **Preços Agrícolas**, Piracicaba, p.3-6, 2001.

MARTIN-TANGUY, J. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.34, p.135-148, 2001.

McGREE, K.J.; RICHARDSON, S.G. Stomatal closure vs. osmotic adjustment: A comparison of stress responses. **Crop Science**, Madison, v.27, p.539-543, 1987.

MO, H.; PUA, E.C. Up-regulation of arginine decarboxylase gene expression and accumulation of polyamines in mustard (*Brassica juncea*) in response to stress. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.114, p.439–449, 2002.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.25, p.239-250, 2002.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, Cambridge, v.167, p.645-663, 2005.

MUNNS, R. JAMES, R.A.; LÄUCHLI, A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and others cereals. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.57, n.5, p.1025-1043, 2006.

MUNNS, R.; HUSAIN, S.; RIVELLI, A.R.; JAMES, R.A.; CONDON, A.G.; LINDSAY, M.P.; LAGUDAH, E.S.; SCHACHTMAN, D.P.; HARE, R.A. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Plant and Soil**, The Hague, v.247, p.93–105, 2002.

NATERRA - Nacional de Sementes Comercial e Importadora Ltda. **Feijão guandu**. Disponível em <<http://www.naterra.com.br/produtos/produtos.asp?id=39>> Acesso em: 11 de janeiro de 2005.

NENE, Y.L.; HALL, S.D.; SHEILA, U.K. **The pigeonpea**. Cambridge: CAB, 1990, 490p.

NOBRE, R.G.; FERNANDES, P.D.; GHEYI, H.R.; SANTOS, F.J.S.; BEZERRA, I.L.; GURGEL, M.T. Germinação e formação de mudas enxertadas de gravioleira sob estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.12, p.1365-1371, 2003.

PAPAGEORGIU, G.C.; MURATA, N. The unusually strong stabilizing effects of glycinebetaine on the structure and function in the oxygen-evolving photosystem II complex. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v.44, p.243–252, 1995.

PARIDA, A.K.; DAS, A.B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v.60, p.324–349, 2005.

PASCHALIDIS, K.A.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. Spatial and temporal distribution of polyamine levels and polyamine anabolism in different organs/tissues of the tobacco plant. correlations with age, cell division/expansion, and differentiation **Plant Physiology**, Rockville, v.138, p.142–152, 2005.

PEREZ-AMADOR, M.A.; LEON, J.; GREEN, P.J.; CARBONELL, J. Induction of the arginine decarboxylase *ADC2* Gene provides evidence for the involvement of polyamines in the wound response in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Rockville, v.130, p.1454–1463, 2002.

PONS, L. **Pigeonpea may fill seasonal forage gap**. ARS News Service, Agricultural Research Service, 2002. Disponível em <<http://www.ars.usda.gov/is/pr/2002/020806.htm>> Acesso em 08 de junho de 2003.

RAO, S.C.; COLEMAN, S.W.; MAYEUX, H.S. Forage production and nutritive value of selected pigeonpea ecotypes in the southern great plains. **Crop Science**, Madison, v.42, n.4, p.1259-1263, 2002.

RATHINASABAPATHI, B. Metabolic engineering for stress tolerance: installing osmoprotectant synthesis pathways. **Annals of Botany**, London, v.86, p.709-716, 2000.

REA, G.; PINTO, M.C.; TAVAZZA, R.; BIONDI, S.; GOBBI, V.; FERRANTE, P.; DE GARA, L.; FEDERICO, R.; ANGELINI, R.; TAVLADORAKI, P. Ectopic expression of

maize polyamine oxidase and pea copper amine oxidase in the cell wall of tobacco plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.134, p.1414–1426, 2004.

RHODES, D.; HANSON, A. D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.44, p.357-384, 1993.

RIBA, X.F. **Poliaminas y tolerancia al aluminio en variedades tolerantes y sensibles de *Zea mays***. 2001. 148f. Tesis (Doctoral em Ciências – Biologia) Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

RONTEIN, D.; BASSET, G.; HANSON, A.D. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. **Metabolic Engineering**, Gainesville, v.4, p.49-56, 2002.

SAIRAM, C.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Current Science**, Bangalore, v.86, n.3, p.407-421, 2004.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.51, n.342, p.81-88, 2000.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.25, p.163-171, 2002.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant Physiology**. Wadsworth Publishing Company. 1992. 682p.

SANCHEZ, D.H.; CUEVAS, J.C. CHIESA, M.A. RUIZ, O.A. Free spermidine and spermine content in *Lotus glaber* under long-term salt stress. **Plant Science**, Oxford, v.168, p.541-546, 2005.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. Análise estatística na germinação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.12, n.4, p.205-237, 2000.

SARRUGE, J.R. Soluções nutritivas. **Summa phytopathologica**, Piracicaba, v.1, n.3, p.231-233, 1975.



SERRAJ R, SINCLAIR T.R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.25, p.333-341, 2002.

SOPORY, S. K. Book Reviews: Crop Production in Saline Environments. **Current Science**, Bangalore, v.86, n.7, p.028, 2004.

SZABOLCS, I. **Salt-affected soils**. Flórida: Library of Congress, 1989. 274p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3<sup>a</sup> ed. Trad. Eliane Romanato Santarém et al. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TAKABE, T.; NAKAMURA, T.; NOMURA, M.; HAYASHI, Y.; ISHITANI M.; MURAMOTO Y.; TANAKA A. Glycinebetaine and the genetic engineering of salinity tolerance in plants. In: SATOH K.; MURATA N. (eds). **Stress responses of photosynthesis organisms**. Amsterdam: Elsevier Science, 1998. p.115-131.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. **Annals of Botany**, London, v.91, p.503-527, 2003.

THIRUMENI, S.; ANURATHA, A.; RAMANADANE, T.; PARAMASIVAM, K. Effect of salinity on seed germination and seedling growth of rice varieties. **Crop Research**, Hisar, v.22, n.3, p.335-338, 2001.

TROSSAT, C.; RATHINASABAPATHI, B.; HANSON, A.D. Transgenically expressed betaine aldehyde dehydrogenase efficiently catalyzes oxidation of dimethylsulfoniopropionaldehyde and ω-aminoaldehydes. **Plant Physiology**, Rockville, v.113, p.1457-1461, 1997.

UPADHYAYA, T.; CHAVAN, S.; MISHRA, D.P. Polyamine accumulation under salt stress in salt resistant and salt sensitive varieties of rice. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, Lucknow, v.7, p.55-59, 2001.

VEATCH, M.E.; SMITH, S.E.; VANDEMARK G. Shoot biomass production among accessions of *Medicago truncatula* exposed to NaCl. **Crop Science**, Madison, v.44, p.1008-1013, 2004.

- VILELA, E.R. **Produção, caracterização e extrusão de farinha de guandu**. 1983. 149f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP, Campinas.
- VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, (IBP Hand book, 15), 1970. 200p.
- WANG, W.; VINOCCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Berlin, v.218, n.1, p.15-26, 2003.
- WILLADINO, L.; MARTINS, M.H.B.; CÂMARA, T.R.; ANDRADE, A.G.; ALVES, G.D. Resposta de genótipos de milho ao estresse salino em condições hidropônicas. **Scientia Agricola** (Suplemento.), Piracicaba, SP., v.56, n.4, p.1209-1213, 1999.
- WUTKE, E.B. **Caracterização fenológica e avaliação agronômica de genótipos de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)**. 1987. 164 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- XIONG, L.; ZHU, J.K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.25, p.131-139, 2002.
- YAMAGUCHI, T.; BLUMWALD, E. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v.10, n.12, p.615-620, 2005.
- YOKOI, S.; BRESSAN, R.A.; HASEGAWA, P.M. Salt stress tolerance of plants. **JIRCAS Working Report**, Tsukuba, JP., p.25-33, 2002.
- ZEID, I.M. Response of bean (*Phaseolus vulgaris*) to exogenous putrescine treatment under salinity stress. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v.7, n.2, p.219-225, 2004.
- ZHAO, F.G.; QIN, P. Protective effect of exogenous polyamines on root tonoplast function against salt stress in barley seedlings. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.42, p.97-103, 2004.

ZHU, J.K. Plant salt tolerance. Trends in **Plant Science**, Madison, v.6, p.66-71, 2001.

ZÖRB, C.; SCHMITT, S.; NEEB, A.; KARL, S.; LINDER, M.; SCHUBERT, S. The biochemical reaction of maize (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by a mitigation of symptoms and not by a specific adaptation. **Plant Science**, Oxford, v.167, p.91–100, 2004.

## **APÊNDICE**

**Tabela I.** Teste de Tukey das folhas (número) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

NaCl (mM)	Teste de Tukey	
	Folhas (número) <sup>1,2</sup>	
	Genótipos de Guandu	
	IAC Fava Larga	Caqui
0	7,3114 aA	7,1482 aA
20	6,6726 bA	6,3761 bB
60	4,8659 cA	4,8780 cA
80	4,3296 dA	4,4705 dA

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro de genótipos) e de maiúsculas na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ); <sup>1</sup>Número de folhas simples e compostas; <sup>2</sup>Dados transformados em  $\sqrt{x+1}$ ; DMS (dentro de genótipos): 0,2655; DMS (entre genótipos): 0,2009.

**Tabela II.** Teste de Tukey da área foliar (dm<sup>2</sup>) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

NaCl (mM)	Teste de Tukey	
	Área Foliar (dm <sup>2</sup> )	
	Genótipos de Guandu	
	IAC Fava Larga	Caqui
0	720,8730 aA	676,4211 aB
20	544,5388 bA	462,2219 bB
60	158,3903 cB	199,1477 cA
80	111,3696 dB	137,6923 dA

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro de genótipos) e de maiúsculas na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ). DMS (dentro de genótipos): 30,7663; DMS (entre genótipos): 23,2804.

**Tabela III.** Teste de Tukey da altura (cm) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

NaCl (mM)	Teste de Tukey	
	Altura (cm)	
	Espermidina	
	0,0 mM	0,5 mM
0	96,91 aA	85,32 aB
20	84,00 bA	71,78 bB
60	62,39 cA	59,97 cA
80	54,15 dA	57,44 cA

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro de genótipos) e de maiúsculas na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ). DMS (dentro de genótipos): 5,7352; DMS (entre genótipos): 4,3397.

**Tabela IV.** Teste de Tukey das folhas (número) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

NaCl (mM)	Teste de Tukey	
	Folhas (número) <sup>1,2</sup>	
	Espermidina	
	0,0 mM	0,5 mM
0	7,7326 aA	6,7270 aB
20	6,8336 bA	6,2151 bB
60	5,1443 cA	4,5995 cB
80	4,4579 dA	4,3422 cA

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro de genótipos) e de maiúsculas na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ); <sup>1</sup>Número de folhas simples e compostas; <sup>2</sup>Dados transformados em  $\sqrt{x+1}$ . DMS (dentro de genótipos): 0,2655; DMS (entre genótipos): 0,2009.

**Tabela V.** Teste de Tukey da área foliar ( $\text{dm}^2$ ) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

NaCl (mM)	Teste de Tukey	
	Área Foliar ( $\text{dm}^2$ )	
	Espermidina	
	0,0 mM	0,5 mM
0	809,5128 <b>aA</b>	587,7813 <b>aB</b>
20	595,9345 <b>bA</b>	410,8262 <b>bB</b>
60	217,3589 <b>cA</b>	140,1791 <b>cB</b>
80	131,4031 <b>dA</b>	117,6588 <b>cA</b>

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro de genótipos) e de maiúsculas na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ). DMS (dentro de genótipos): 30,7663; DMS (entre genótipos): 23,2804.

**Tabela VI.** Teste de Tukey da massa seca (g) da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

NaCl (mM)	Teste de Tukey	
	Massa Seca (g)	
	Espermidina	
	0,0 mM	0,5 mM
0	1,0974 <b>aA</b>	0,7738 <b>aB</b>
20	0,8518 <b>bA</b>	0,5709 <b>bB</b>
60	0,4590 <b>cA</b>	0,3144 <b>cB</b>
80	0,2918 <b>dA</b>	0,3248 <b>cA</b>

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na vertical (dentro de genótipos) e de maiúsculas na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ). DMS (dentro de genótipos): 0,0811; DMS (entre genótipos): 0,0614.

**Tabela VII.** Teste de Tukey dos teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

NaCl (mM)	Teste de Tukey	
	Glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)	
	Genótipos	
	IAC Fava Larga	Caqui
0	43,4930 <b>bA</b>	40,4710 <b>bA</b>
20	35,4200 <b>cA</b>	35,9120 <b>bA</b>
60	42,0030 <b>bB</b>	60,0910 <b>aA</b>
80	60,2240 <b>aA</b>	55,3830 <b>aB</b>

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical (dentro de genótipos) e maiúscula na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); DMS (dentro de genótipos): 6,1116; DMS (entre genótipos): 4,6246.

**Tabela VIII.** Teste de Tukey dos teores de glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa seca) da parte aérea de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob estresse salino (NaCl) associado à aplicação exógena de espermidina (Spd), durante 20 dias em solução nutritiva. Jaboticabal, SP. 2005-2006.

NaCl (mM)	Teste de Tukey	
	Glicina betaína ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)	
	Espermidina	
	0,0 mM	0,5 mM
0	42,8650 <b>cA</b>	41,0990 <b>bA</b>
20	35,3870 <b>dA</b>	35,9450 <b>bA</b>
60	53,0310 <b>bA</b>	49,0630 <b>aA</b>
80	63,7050 <b>aA</b>	51,9020 <b>aB</b>

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical (dentro de genótipos) e maiúscula na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); DMS (dentro de genótipos): 6,1116; DMS (entre genótipos): 4,6246.