

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTRESSE TÉRMICO NO CONTEUDO DE PROLINA DE
PLÂNTULAS DE GUANDU ORIUNDAS DE SEMENTES
TRATADAS COM POLIAMINAS**

Jéssica da Silva
Bióloga

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTRESSE TÉRMICO NO CONTEUDO DE PROLINA DE
PLÂNTULAS DE GUANDU ORIUNDAS DE SEMENTES
TRATADAS COM POLIAMINAS**

Jéssica da Silva
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 (Produção Vegetal).

2013

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JÉSSICA DA SILVA – Nasceu em Marechal Cândido Rondon, Paraná, em 12 de abril de 1988, completou o segundo grau em 2005 no Colégio Alfa Piazza e ingressou, em 2007, no curso de graduação de Ciências Biológicas (Bacharelado) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus de Cascavel. Durante a graduação estagiou, no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2010, onde atuou também como monitora na disciplina de Fisiologia Vegetal, durante o ano letivo de 2009. Durante o período de dezembro de 2009 a julho de 2010, foi bolsista PIBIC/UNIOESTE/PRPPG, quando desenvolveu o trabalho intitulado “Interferência química de *Eugenia uniflora* L. sobre outras espécies nativas florestais” e de agosto a dezembro de 2010, quando desenvolveu o trabalho intitulado “Efeito alelopático de cártamo (Asteraceae) em sistema de consórcio”, sob orientações da profa. Dra. Andréa Maria Teixeira Fortes. Ainda, entre o período de setembro de 2009 e agosto de 2010, desenvolveu uma parte de seu trabalho de conclusão de curso intitulado “Efeito alelopático de *Camelina sativa* (L.) Crantz sobre soja (*Glycine max* (L.) Merr.), milho (*Zea mays* L.) e picão-preto (*Bidens pilosa* L.)”, como Iniciação Científica Voluntário – PICV/UNIOESTE/PRPPG, sob orientação da mesma professora. Também esteve presente em eventos científicos importantes, onde apresentou trabalhos, como o V Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação, XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal e XVII Encontro Anual de Iniciação Científica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado a vida como mecanismo de evolução moral. Também, por ter me dado a coragem e a persistência, companheiras estas que jamais me deixam desanimar perante os obstáculos, e me ajudam a ser cada dia mais forte e ter mais garra para buscar os meus objetivos.

Aos meus pais, Iraci e Olmiro, pois mesmo distantes e com todos os percalços que a vida nos põe em prova, me transformaram no que eu sou hoje, uma pessoa comprometida com os objetivos, responsável e que tenta melhorar sempre.

Aos meus irmãos, Joni e Saionara, que são os amores da minha vida, por serem esses seres tão iluminados, que mesmo longe, sabem abraçar e acalmar o coração de uma irmã..que sabem ser irmãos, pais, amigos e tudo o que precisar.. ainda bem que a gente se escolheu!

Ao meu noivo Jeferson, pelo companheirismo, amor e confiança. Por ter adiado seus sonhos para me acompanhar. Por ter escutado, quando necessário, por ter falado, quando eu deveria ouvir, enfim, por ser você!

À amiga Vanessa, pela companhia diária, pelos almoços e descansos perdidos para me ajudar nos experimentos. Pelas conversas de horas ao telefone, com choros, risadas, desabafos. Obrigada amiga!

Agradeço a professora Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos, primeiramente por ter aceitado me orientar, mesmo sem me conhecer. Por confiar na minha capacidade e acreditar no meu potencial como profissional.

Agradeço pela orientação, atenção, não só em relação à pesquisa, mas também em relação à vida. Obrigada pelos conselhos, pelas risadas e pela troca de experiências maravilhosa que foi o mestrado. Obrigada por amar tanto o que faz, isto me fez desejar ainda mais seguir a vida acadêmica. Como eu sempre falo pra senhora: Um dia eu vou ser igual você!

À Sônia Raimundo Carregari, por ter me recebido tão bem no laboratório, pela atenção, pela disposição em ajudar, pelos ensinamentos e bons momentos no laboratório.

À Thaís Rabello dos Santos, que apesar do pouco tempo de convívio, mostrou ser uma pessoa incrível, sempre disposta a ajudar, a melhorar e uma pessoa realmente boa de coração!

À todos os colegas de laboratório, Juliana, Flávio, Samir, Patrícia e Mariana, pela convivência e auxílio nos experimentos.

Ao coordenador do curso de pós-graduação em Agronomia – Produção Vegetal, professor Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho, pela indicação à bolsa de mestrado, pelo auxílio e atenção dispensados sempre que necessários.

Ao professor Dr. José Carlos Barbosa, pelas explicações e diversas estatísticas rodadas, sempre com muita atenção e educação.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

SUMÁRIO

	p.
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
I. INTRODUÇÃO.....	6
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
1. Estresses abióticos.....	8
1.1. Estresse térmico.....	9
1.1.1. Temperaturas subótimas.....	10
1.1.2. Temperaturas supraótimas.....	11
2. Poliaminas.....	13
2.1. Putrescina e Espermidina.....	15
3. Prolina: função osmólito compatível.....	15
4. O guandu - <i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp.....	19
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
1. Material botânico- Cultivares de Guandu.....	21
1.1. BRS Mandarin.....	21
1.2. Caqui.....	22
2. Montagem e condução experimental.....	22
2.1. Germinação de sementes e obtenção de plântulas.....	22
2.1.1. Determinação do acúmulo de prolina.....	24
2.1.2. Crescimento inicial.....	24
3. Tratamento estatístico.....	25
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
1. Efeitos do estresse térmico.....	26
1.1. Germinação de sementes.....	26
1.1.1. Temperaturas subótimas.....	26
1.1.2. Temperaturas supraótimas.....	27
1.2. Teores de prolina e crescimento inicial.....	35
1.2.1. Temperaturas subótimas.....	35
1.2.2. Temperaturas supraótimas.....	39
2. Ausência de poliaminas exógenas em plântulas sob estresse térmico.....	44
3. Efeito das poliaminas exógenas em plântulas sob temperatura não estressante.....	51
V. CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS.....	55

ESTRESSE TÉRMICO NO CONTEÚDO DE PROLINA DE PLÂNTULAS DE GUANDU ORIUNDAS DE SEMENTES TRATADAS COM POLIAMINAS

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos do estresse térmico no conteúdo de prolina e no crescimento inicial de plântulas de guandu, oriundas de sementes tratadas com putrescina e espermidina, visando verificar se esta aplicação promove o acúmulo de prolina para atenuar os efeitos do estresse térmico no processo germinativo e no crescimento inicial das plântulas. Para tanto, a semeadura da cv. BRS Mandarin e cv. Caqui foi realizada em caixas plásticas tipo “erbox” contendo papel de germinação umedecido com soluções de 0,5mM de putrescina ou espermidina. Para os experimentos de germinação, as sementes foram submetidas às temperaturas subótimas de 20°C, 18°C, 16°C e 14°C e de aquecimento em 36°C, 38°C, 40°C e 44°C, por 24h e 48h. Após estes períodos, foram submetidas à temperatura ótima de 25 °C, até o 10º dia de semeadura, quando foi verificada a porcentagem de germinação das sementes. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x4x2+3 (0,0mM; 0,5mM de Put ou 0,5mM de Spd; estresse térmico por resfriamento em 20°C, 18°C, 16°C e 14°C e por aquecimento em 36°C, 38°C, 40°C e 44°C, tempos de exposição aos estresses por 24h ou 48h, mais os fatores adicionais que consistiu do tratamento controle de temperatura de 25°C com 0,0mM e 0,5mM de Put e Spd) com quatro repetições de 25 sementes, separadamente, para cada cultivar. Para os teores de prolina e o crescimento inicial das plântulas, foi utilizado outro esquema fatorial, uma vez que apenas os dados das temperaturas subótimas de 18°C e 14°C e supraótimas de 36°C e 40°C apresentaram-se homogêneos e expressivos. Deste modo, o delineamento experimental foi em esquema fatorial 3x2x2+3 (0,0mM; 0,5mM de Put ou 0,5mM de Spd, estresse térmico de resfriamento em 18°C e 14°C e de aquecimento em 36°C e 40°C, tempos de exposição aos estresses por 24h ou 48h, mais os fatores adicionais) com quatro repetições de 25 sementes, separadamente para as cv. BRS Mandarin e Caqui. As poliaminas exógenas atenuam os efeitos das temperaturas subótimas e supraótimas, a partir do aumento da porcentagem de sementes germinadas. Ainda, atenuam os efeitos destas temperaturas por induzir o acúmulo de prolina, o qual conduz ao ajuste osmótico, embora esta resposta fisiológica não tenha minimizado os efeitos negativos do estresse térmico no crescimento de plântulas de guandu. A prolina pode ser considerada indicador bioquímico-fisiológico em plântulas de ambas as cultivares de guandu sob temperaturas adversas.

Palavras-Chave: putrescina, espermidina, osmólito, temperaturas, *Cajanus cajan*, forrageira.

TEMPERATURE STRESS IN THE CONTENT OF PROLINE ON PIGEONPEA SEEDLING FROM SEEDS TREATED WITH POLYAMINES

ABSTRACT- The objective of this study was to verify the effects of temperature stress on proline content and initial growth of seedlings of pigeonpea, from seeds treated with putrescine and spermidine in order to check if this application promotes the accumulation of proline to mitigate the effects of temperature stress in germination and early seedling growth. Therefore, sowing cv. BRS Mandarin and cv. Kaki was performed in plastic devices "gerbox" containing germination paper moistened with 0,5mM of putrescine or spermidine. For germination experiments, seeds were subjected to suboptimal temperatures at 20°C, 18°C, 16°C and 14°C and supraoptimal temperatures at 36°C, 38°C, 40°C and 44°C, for 24h and 48h. After these periods, underwent optimum temperature of 25°C, until the 10th day of sowing, when it was checked for germination of seeds. The experimental design was a completely randomized factorial 3x4x2+3 (0,0mM; 0,5mM Put or 0,5mM Spd, chilling at 20°C, 18°C, 16°C and 14°C and heating at 36°C, 38°C, 40°C and 44°C, times of exposure to stress for 24h or 48h, and additional factors which consisted of treatment control temperature of 25°C with 0,0mM and 0,5mM of Put or Spd) with four replications of 25 seeds separately for each cultivar. For contents of proline and initial growth of seedlings, it was used another factorial, because only data of suboptimal temperatures 18°C and 14°C and supraoptimal temperatures 36°C and 40°C were homogeneous and expressive. Thus, the experimental design was a factorial 3x2x2+3 (0,0mM; 0,5mM Put or 0,5mM Spd, chilling at 18°C and 14°C and heating at 36°C and 40°C, exposure times to stress for 24h or 48h, plus additional factors) with four replications of 25 seeds, separately for the cv. BRS Mandarin and cv. Kaki. The exogenous polyamines attenuate the effects of suboptimal temperatures and supraoptimal temperatures from the increase in the percentage of germinated seeds. Still, attenuate the effects of these temperatures induce proline accumulation, which leads to osmotic adjustment, although this physiological response has not minimized the negative effects of temperature stress on seedling growth of pigeonpea. Proline can be considered physiological-biochemical indicator in seedlings of both cultivars of pigeonpea under adverse temperatures.

Keywords: putrescine, spermidine, osmolyte, cold, heat, *Cajanus cajan*, forage.

LISTA DE TABELAS

p.

- Tabela 1.** Análise de variância das temperaturas subótimas, tempos de exposição e poliaminas exógenas na germinação de sementes (%) de guandu cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011- 2012. .29
- Tabela 2.** Análise de variância das temperaturas subótimas, tempos de exposição e poliaminas exógenas na germinação de sementes (%) de guandu cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011 - 2012.....30
- Tabela 3.** Análise de variância das temperaturas supraótimas, tempos de exposição e poliaminas exógenas na germinação de sementes (%) de guandu cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011 - 2012.32
- Tabela 4.** Análise de variância das temperaturas supraótimas, tempos de exposição e poliaminas exógenas na germinação de sementes (%) de guandu cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011-2012.....33
- Tabela 5.** Análises de variância das temperaturas, tempos de exposição e poliaminas exógenas no acúmulo de prolina e no crescimento inicial de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011- 2012.....41

LISTA DE FIGURAS

p.

- Figura 1.** Representação esquemática da biossíntese das poliaminas putrescina e espermidina. Adaptado de Mattoo et al. (2010) e Wimalasekera et al. (2011). 14
- Figura 2.** Modelo proposto para o metabolismo da prolina em plantas. A via biossintética marcada em linhas verdes; a via catabólica em linhas vermelhas e a via da ornitina em linhas azuis. Fonte: Szabados & Savouré (2010). 18
- Figura 3.** Germinação de sementes (%) de guandu, no 10º dia após a semeadura, sob diferentes temperaturas de resfriamento e períodos de exposição aos estresses. (A) cv. BRS Mandarin; (B) cv. Caqui. *Médias seguidas da mesma letra maiúscula (entre tempos de exposição ou temperaturas) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). 31
- Figura 4.** Germinação de sementes (%) de guandu, cv. BRS Mandarin, em temperaturas supraótimas, sob efeito dos tempos de exposição (A) e poliaminas exógenas (B) e cv. Caqui, sob efeito das temperaturas de aquecimento, no 10º dia após a semeadura. *Médias seguidas da mesma letra maiúscula (entre tempos de exposição ou temperaturas) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). 34
- Figura 5.** Poliaminas exógenas na parte aérea de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A) e prolina (B, C e D). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). 37
- Figura 6.** Poliaminas exógenas e tempos de exposição na raiz primária de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A, C e E) e prolina (B, D e F). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). 38
- Figura 7.** Poliaminas exógenas e tempos de exposição na parte aérea de plântulas de guandu, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A e C) e teores de prolina (B, D e E). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). 42
- Figura 8.** Poliaminas exógenas e tempos de exposição na raiz primária de plântulas de guandu, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A) e teores de prolina (A, B e D). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). 43
- Figura 9.** Poliaminas exógenas e tempos de exposição na parte aérea de plântulas de guandu, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A) e teores de prolina (B). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre

- tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).45
- Figura 10.** Poliaminas exógenas e tempos de exposição na raiz primária de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Teores de prolina (A, B e C). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).46
- Figura 11.** Poliaminas exógenas e tempos de exposição na parte aérea de plântulas de guandu, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Teores de prolina (A, B e C). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).47
- Figura 12.** Poliaminas exógenas e tempos de exposição na raiz primária de plântulas de guandu, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A) e teores de prolina (B, C e D). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).48
- Figura 13.** Crescimento inicial de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin, com poliaminas exógenas sob efeito de temperaturas subótimas e supraótimas, em dois períodos de exposição, no 10º dia após a semeadura. Temperaturas subótimas na parte aérea (A); temperaturas supraótimas na parte aérea (B) e na raiz primária (C), tempos de exposição na parte aérea (D) e na raiz primária (E). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula entre tempos de exposição ou temperatura, e minúscula dentro de cada tempo de exposição ou temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).49
- Figura 14.** Crescimento inicial de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, com poliaminas exógenas sob efeito de temperaturas supraótimas (36°C e 40°C), em dois períodos de exposição (24 e 48 horas), no 10º dia após a semeadura. Guandu cv. BRS Mandarin: Poliaminas exógenas na parte aérea (A) e na raiz primária (B). Guandu cv. Caqui: temperaturas supraótimas na parte aérea (C) e tempos de exposição na parte aérea (D). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula entre tempos de exposição ou temperatura, e minúscula dentro de cada tempo de exposição ou temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).50
- Figura 15.** Poliaminas exógenas no acúmulo de prolina e no crescimento inicial de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin, sob temperatura ótima, no 10º dia após a semeadura. Temperatura ótima: tratamentos adicionais de 25°C + 0,0mM; 25°C + 0,5mM Put e 25°C + 0,5mM Spd; Massa seca da parte aérea (A) e da raiz primária (B); prolina na parte aérea (C) e na raiz primária (D). *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).52
- Figura 16.** Poliaminas exógenas no acúmulo de prolina e no crescimento inicial de plântulas de guandu, cv. Caqui, sob temperatura ótima, no 10º dia após a semeadura. Temperatura ótima: tratamentos adicionais de 25°C + 0,0mM; 25°C + 0,5mM Put e 25°C + 0,5mM Spd; Massa seca da parte aérea (A) e da raiz primária (B); prolina na parte aérea (C) e na raiz primária (D). *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).53

I. INTRODUÇÃO

Os vegetais, por serem organismos sésseis, estão expostos aos estresses abióticos como a seca, salinidade, metais pesados, deficiência ou toxidez nutricional e as altas e baixas temperaturas.

A sobrevivência e a distribuição das plantas no nosso planeta são determinadas, entre outros fatores, pela temperatura. O estresse causado pelas temperaturas subótimas e supraótimas altera a homeostase celular, provoca severo atraso no crescimento e desenvolvimento vegetal, e em muitos casos, conduz a senescência programada (THAKUR et al., 2010; SZABADOS et al., 2011).

Em resposta aos estresses abióticos, as plantas se protegem disparando vários mecanismos bioquímico-fisiológicos, dentre os quais se destaca o ajuste osmótico. Neste mecanismo ocorre o acúmulo de moléculas orgânicas de baixo peso molecular, conhecidas como solutos ou osmólitos compatíveis, os quais não interferem nas reações metabólicas normais do vegetal (VERSLUES, 2010; ASHRAF et al., 2011; SZABADOS et al., 2011). Entre os compostos orgânicos acumulados em plantas sob estresses, encontra-se a prolina, aminoácido essencial, que em plantas sob estresse possui função osmoprotetora, auxiliando na manutenção da integridade celular de proteínas, enzimas e membranas (ASHRAF et al., 2011). Muitos estudos relacionam o acúmulo de prolina à indução do ajuste osmótico com efeitos protetores ao estresse por temperaturas baixas e altas (SZABADOS & SAVOURÉ, 2010; ASHRAF et al., 2011; CAO et al., 2011; CVIKROVÁ et al., 2012). Contudo, a correlação entre o acúmulo prolina e a tolerância das plantas aos estresses, para vários autores, ainda não está totalmente compreendida (SZABADOS & SAVOURÉ, 2010).

As poliaminas, representadas pela putrescina, espermidina, espermina e cadaverina, são compostos nitrogenados alifáticos policatiônicos de baixo peso molecular encontrados em todos os organismos vivos (GILL & TUTEJA, 2010). Em plantas superiores, as poliaminas têm sido identificadas como uma classe essencial de reguladores vegetais endógenos, bem como moléculas sinalizadoras de vários processos fisiológicos como a divisão celular e o crescimento vegetal (ASHRAF et al., 2011; WIMALASEKERA et al., 2011). Nas últimas décadas tem aumentado o

interesse dos pesquisadores sobre as poliaminas, devido ao relevante efeito nestes processos e, sobretudo, nas respostas aos estresses abióticos nos vegetais (GILL & TUTEJA, 2010; ASHRAF et al., 2011; WIMALASEKERA et al., 2011). Além do mais, a utilização exógena de poliaminas está sendo considerada boa alternativa para aumentar a resistência das plantas aos vários estresses (HUSSAIN et al., 2011).

Devido às condições ambientais impostas às plantas, há a necessidade de implantação de culturas que apresentem amplitude de adaptação aos estresses. O guandu, *Cajanus cajan* (L.) Millsp., leguminosa forrageira com ciclo anual ou perene, é considerado, no período entressafra, alternativa para a provisão de alimento de alta qualidade para os animais e possibilita redução de custos com colheita e armazenamento de forragem (NENE et al., 1990). Possui capacidade de crescer em períodos adversos que são limitantes ao crescimento de outras espécies vegetais, além de ser considerada espécie de múltiplo uso por ser resistente aos vários estresses ambientais (NENE et al., 1990; SAXENA, 2008).

No Brasil, devido aos problemas com a degradação das pastagens decorrente da degradação dos solos e recursos naturais em função do manejo inadequado, a implantação de leguminosas como o guandu em pastagens exclusivas de gramíneas, proporciona a recuperação da pastagem e o aumento da produtividade e palatabilidade destas gramíneas (AZEVEDO et al., 2007; PANDE et al., 2011). Além disso, devido aos altos teores de proteína bruta que apresenta, quando utilizado na suplementação do gado de corte e/ou leite, possibilita ganhos de peso dos bovinos iguais ou superiores aos obtidos na estação chuvosa (AZEVEDO et al., 2007).

No presente trabalho foram estudados os efeitos do estresse térmico no acúmulo de prolina e crescimento inicial de plântulas de guandu oriundas de sementes tratadas com poliaminas, visando verificar: **a)** se a putrescina e espermidina exógenas atenuam os efeitos do estresse térmico no processo germinativo e no crescimento inicial de plântulas de guandu; **b)** se estas poliaminas exógenas causam acúmulo de prolina em plântulas de guandu; **c)** se o acúmulo de prolina pode ser indicativo bioquímico-fisiológico em plântulas que estejam sob temperaturas subótimas e supraótimas. Este estudo pretende contribuir para projetos de melhoramento vegetal do guandu, visando lançamento de cultivares mais adaptadas aos biomas de produção.

II. REVISÃO DE LITERATURA

1. Estresses abióticos

Com o crescimento constante da população mundial, a preocupação com a necessidade de aumento na produção de alimentos torna-se motivo de prolongadas discussões (TIBURCIO et al., 2012). Desta forma, os estresses abióticos se tornam foco de pesquisas dos fisiologistas vegetais.

O estresse abiótico pode ser definido como qualquer alteração de crescimento dentro do habitat natural da planta que perturba sua homeostase metabólica (SHULAEV et al., 2008). As mudanças climáticas frequentes e extremas têm sido os maiores desafios para a manutenção da produção agrícola e contra as perdas da produtividade (NEPOMUCENO et al., 2001). Estresses como a deficiência hídrica, temperaturas extremas e salinidade, podem reduzir gradativamente esta produção.

Diante destas condições estressantes, os vegetais passam por mecanismos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização: anatômico, morfológico, celular, bioquímico e molecular e por consequência destes e para sua sobrevivência, passam por eventos como a aclimação e a adaptação (RODRÍGUEZ et al., 2005; TAIZ & ZEIGER, 2010; REDMAN et al., 2011). A aclimação é um processo não hereditário resultante de exposições anteriores ao estresse, com mudanças estruturais e fisiológicas para que a planta possa conviver com as condições de estresses e tornar-se cada vez mais tolerante às adversidades. A adaptação está relacionada com fatores hereditários e refere-se a um nível de resistência geneticamente adquirido por um processo de seleção que ocorre ao longo de várias gerações, onde os mecanismos de controle molecular transcrevem genes de resistência aos estresses (TAIZ & ZEIGER, 2010; TIBURCIO et al., 2012).

Em particular os estresses térmicos, a partir do resfriamento ou aquecimento dos tecidos vegetais, podem limitar esta produção.

1.1. Estresse térmico

As temperaturas acima ou abaixo das classificadas como ótimas são sentidas como estresse térmico por todos os organismos vivos (NAGARAJAN & NAGARAJAN, 2010).

Devido a natureza séssil das plantas, à medida que se desenvolvem, ficam expostas às mudanças físicas em seu ambiente. As alterações de temperatura são os tipos mais comuns de estresse imposto às plantas e estas variam com a sucessão das estações. Em estações como o verão, a alternância de temperaturas entre o dia e a noite são frequentes, por isso, visando reduzir os danos ao seu metabolismo e garantir sua sobrevivência, a evolução permitiu às plantas perceberem as mudanças ambientais e ativarem respostas a fim de minimizar os danos sofridos para aumentar a resistência à futuros estresses (IBA, 2002; HEINO & PALVA, 2003; RUELLAND & ZACHOWSKI, 2010).

A temperatura é um fator ambiental e físico, que provoca alterações celulares e metabólicas impondo estresses que variam conforme a intensidade, duração e taxa de variação e de acordo com a espécie vegetal, o tipo de célula e tecido atingidos, podendo induzir o vegetal a adquirir tolerância às condições adversas impostas (SUNG et al., 2003). Geralmente, as mudanças provocadas são rápidas e sentidas de acordo com a natureza de cada molécula atingida, uma vez que cada molécula possui especificidade de sinalização para ativar a resposta (RUELLAND & ZACHOWSKI, 2010). Nesta situação, as respostas desencadeadas variam desde níveis moleculares, com modificações transcricionais, até níveis morfológicos, produzindo um embrião que possa permanecer dormente até que as condições tornem-se favoráveis ao seu crescimento (ZINN et al., 2010).

Os processos bioquímicos dos vegetais podem ser definidos por curvas de temperatura, as quais demonstram claramente as temperaturas mínimas, máximas e ótimas. Estas temperaturas afetam diretamente a hidratação do vegetal e, conseqüentemente, as múltiplas ligações entre proteínas e moléculas de água que determinam a estruturação de proteínas secundárias e terciárias importantes ao funcionamento regular das plantas. Além disso, decorrente das modificações bioquímicas, há alterações em processos biológicos como a germinação,

crescimento e desenvolvimento das plantas (LABORIAU, 1983; STEFANELLO et al., 2006; MATHEUS & LOPES, 2009; THAKUR et al., 2010).

1.1.1. Temperaturas subótimas

Todos os anos o planeta é submetido a mudanças climáticas, sob as temperaturas chegam a ficar muito baixas e, desta forma, os estudos do comportamento vegetal perante estas condições têm sido amplamente realizados na tentativa de promover melhorias na resistência ao frio, principalmente quando se trata de espécies importantes no cenário agrícola (BECK et al., 2004).

A temperatura da superfície terrestre oscila muito conforme a região, variando de acordo com as estações do ano ou entre o dia e a noite, podendo ser classificadas como resfriamento quando a temperatura é inferior a 20°C e congelamento quando inferior a 0°C (CHINNUSAMY et al., 2010). Apesar disto, as plantas crescem em quase todos os lugares e para isso, devem adaptar-se a essas variações. Diante da sensibilidade das plantas às temperaturas baixas, surgem três classes: plantas sensíveis ao resfriamento, plantas resistentes ao resfriamento e plantas resistentes ao congelamento (SLOVÁKOVÁ et al., 2011).

As plantas denominadas sensíveis ao resfriamento são aquelas que sofrem sérias injúrias quando expostas a temperaturas entre 0 e 15°C; as resistentes ao resfriamento suportam temperaturas baixas, entretanto, não suportam a formação de cristais de gelo nos tecidos, sofrendo danos irreversíveis nestas condições; as resistentes ao congelamento suportam situações extremas, como temperaturas entre -50 e -100°C sem danos estruturais e bioquímicos (SLOVÁKOVÁ et al., 2011).

Nas regiões de clima temperado, as plantas de hábito perene preparam-se antecipadamente para o inverno, pois na maioria das culturas, diminuições bruscas de temperatura antes da estação e durante períodos de crescimento geram redução da produção e da qualidade do produto, assim, podem reduzir sua atividade metabólica e poupar seu organismo dos estresses (SLOVÁKOVÁ et al., 2011).

Diante destas condições, a evolução dos fatores de aclimação permite às células vegetais sentir as mudanças do ambiente e ativar respostas que aumentem sua tolerância ao estresse. As temperaturas baixas são um dos maiores desafios

ambientais ao homem, pois afetam tanto o crescimento quanto a distribuição das espécies pelo mundo (HEINO & PALVA, 2003).

As injúrias provocadas pela exposição resfriamento, em temperaturas entre 10 e 15°C, podem ser facilmente observadas em plantas de clima tropical. Geralmente, se observam manifestações deletérias como atraso no crescimento e translocação lenta de carboidratos, lesões foliares, inibição da fotossíntese, da taxa respiratória e da síntese de proteínas e aumento da degradação das proteínas (TAIZ & ZEIGER, 2010).

As primeiras estruturas atingidas sob condições subótimas de temperatura e que apresentam perda de função são as membranas celulares (CHINNUSAMY et al., 2010; SLOVÁKOVÁ et al., 2011). As plantas sensíveis ao resfriamento apresentam lipídios com alta quantidade de cadeias de ácidos graxos saturados, porém, pelo fato deles apresentarem apenas ligações simples entre seus carbonos, solidificam-se em temperaturas bem superiores a 0°C. À medida que a membrana se torna menos fluida, seus componentes protéicos perdem suas funções, resultando na inibição da atividade da H⁺-ATPase, do transporte de solutos do meio intracelular para o meio extracelular, da transdução de energia e do metabolismo dependente de enzimas (BECK et al., 2004; SABEVA & NEDEVA, 2008; TAIZ & ZEIGER, 2010).

Estas consequências afetam etapas sensíveis ao estresse por baixas temperaturas como a germinação de sementes e desenvolvimento inicial das plantas, uma vez que células jovens, principalmente de tecidos meristemáticos, apresentam maior suscetibilidade ao resfriamento do que células de tecidos maduros (BECK et al., 2004; SABEVA & NEDEVA, 2008; TAIZ & ZEIGER, 2010).

1.1.2. Temperaturas supraótimas

O estresse produzido pelo calor é, geralmente, definido como o aumento da temperatura além de um limiar por um período de tempo suficiente para causar danos irreversíveis ao crescimento e desenvolvimento da planta. Normalmente, a elevação de 10-15°C da temperatura ambiente é considerada estresse ou choque térmico, porém, depende da intensidade, duração e taxa de aumento da temperatura (WAHID et al., 2007).

O estresse por aquecimento altera a homeostase celular e quando severo pode conduzir ao atraso do crescimento e desenvolvimento vegetal, acelerar a maturidade fisiológica e até mesmo causar a morte celular, o que no cenário agrícola pode significar perdas excessivas de produção (NAGARAJAN & NAGARAJAN, 2010).

As altas temperaturas causam danos celulares severos, podendo chegar à morte celular, devido à desordem do meio, derivada da desestabilização da membrana celular. Em temperaturas moderadamente altas, as injúrias e a morte celular podem ocorrer, entretanto, é necessária uma longa exposição. Há efeitos diretamente ligados às temperaturas supraótimas, com a agregação e desnaturação protéica e o aumento da fluidez da membrana celular. Ainda, há efeitos indiretos com a inativação de enzimas dos cloroplastos e mitocôndrias, inibição da síntese protéica e proteólise (WAHID et al., 2007).

As moléculas de água, presentes na célula vegetal sob condições de aquecimento, podem apresentar um decréscimo na força das ligações de pontes de hidrogênio e das interações eletrostáticas entre os grupos de proteínas polares da fase aquosa da membrana, o que pode desencadear a perda de íons, inativação de proteínas nos cloroplastos e mitocôndrias, inibição da síntese e degradação de proteínas e assim, a inibição de processos com a fotossíntese e a respiração, processos estes dependentes do transporte de elétrons e de enzimas associadas às membranas (LARKINDALE & HUANG, 2004; WAHID et al., 2007).

As alterações decorrentes do aquecimento podem provocar inibição do crescimento, redução do fluxo de íons e a inibição da fotossíntese, resultando no aumento excessivo na produção substâncias citotóxicas denominadas espécies reativas ao oxigênio (EROS), representadas por radicais superóxidos ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila ($OH^{\cdot}$), como resultado do desequilíbrio entre as etapas, fotoquímica e bioquímica, o que é responsável por grande parte da morte celular durante as condições de estresse (WAHID et al., 2007; KIM et al., 2009; SOLIMAN et al., 2012).

2. Poliaminas

As poliaminas são moléculas policatiônicas, pertencentes à família das aminas, encontradas em todos os organismos vivos. Nas plantas estes compostos estão envolvidos nos processos de crescimento e desenvolvimento, atuando como reguladores vegetais e nas respostas aos estresses abióticos e bióticos (GILL & TUTEJA, 2010; HUSSAIN et al., 2011; BRITIÁN et al., 2012).

Apesar de atuarem em diversos processos, ainda persiste na comunidade científica controvérsias para incluí-las à classe dos hormônios vegetais, pelo fato de atuarem em concentrações superiores aos hormônios convencionais, divergindo do conceito de hormônio vegetal (COLLI, 2008). Todavia, há autores como Crozier et al. (2001) que incluem as poliaminas à classe dos hormônios vegetais, uma vez que regulam o desenvolvimento das plantas.

Nos vegetais são encontradas, frequentemente, as diaminas putrescina e cadaverina, a triamina espermidina e a tetramina espermina (ASHRAF & HARRIS, 2004; HUSSAIN et al., 2011). Estas substâncias podem atuar como mensageiros intra e extracelulares transformando sinais ambientais específicos em respostas bioquímicas, regulando processos anatômicos, bioquímicos e fisiológicos (MATILLA, 1996; ÇAKMAK & ATICI, 2009; GILL & TUTEJA, 2010).

Estudos recentes sustentam a relação das poliaminas aos efeitos de proteção aos diversos estresses abióticos (ALCÁZAR et al., 2006; HUSSAIN et al., 2011), dentro os quais, o estresse térmico (CUEVAS et al., 2008; ÇAKMAK & ATICI, 2009).

Assim, tendo em vista estes aspectos das funções das poliaminas, cresce o interesse em relação à manipulação genética da sua biossíntese, com o objetivo de tornar as plantas mais resistentes aos vários estresses ambientais, já que plantas tratadas com poliaminas exógenas mostram-se mais tolerantes aos vários estresses (KASUKABE et al., 2004; UEDA et al., 2004; HUSSAIN et al., 2011). Pesquisas científicas com poliaminas se concentram no entendimento das vias de síntese e degradação destas substâncias em plantas sob estresses abióticos (HUSSAIN et al., 2011; BRITIÁN et al., 2012). Poliaminas como a putrescina e a espermidina destacam-se pelas respostas das plantas às condições adversas a partir da prevenção dos efeitos deletérios causados nessas condições (GILL & TUTEJA, 2010).

A biossíntese de poliaminas de acordo com Wimalasekera et al. (2011), é iniciada com a formação de diamina putrescina, que ocorre através da descarboxilação da ornitina ou arginina pela enzima ODC¹ ou pela ADC² seguida de catálise realizada pelas enzimas AIH³ e CPA⁴. A espermidina é formada por adição de grupos aminopropil em moléculas de putrescina pela SPDS⁵ (Figura 1).

A utilização exógena da putrescina e espermidina tem mostrado proteger o tecido vegetal dos efeitos prejudiciais dos estresses, restaurando os padrões normais de crescimento e evidenciando a função essencial destas poliaminas no metabolismo celular, tornando-as objeto de interesse à comunidade científica (KUBIŚ, 2008; AHMAD et al., 2009; ÇAKMAK & ATICI, 2009; GILL & TUTEJA, 2010).

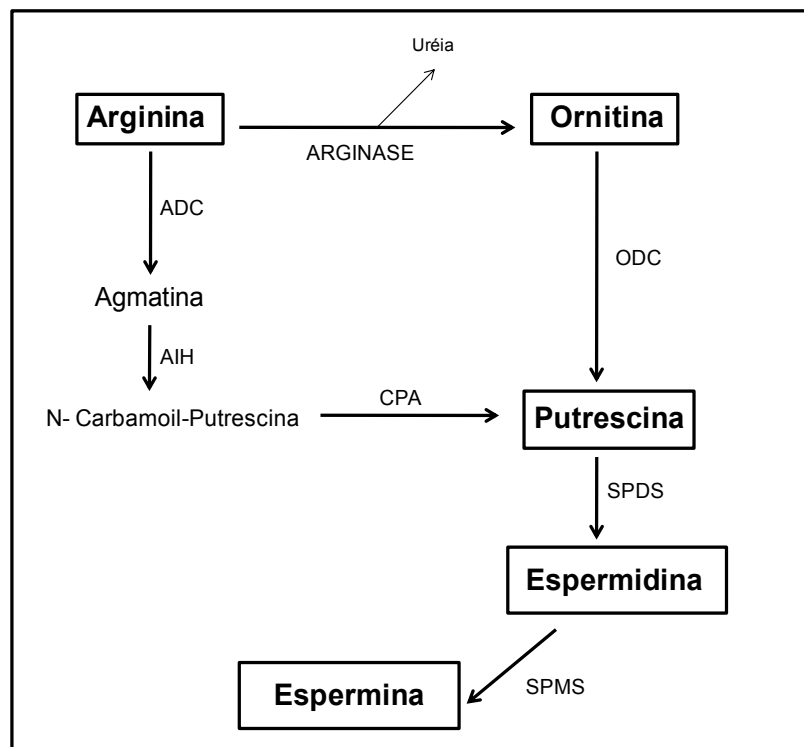


Figura 1. Representação esquemática da biossíntese das poliaminas putrescina e espermidina. Adaptado e modificado de Mattoo et al. (2010) e Wimalasekera et al. (2011).

¹ ornitina descarboxilase

² arginina descarboxilase

³ agmatina iminohidrolase

⁴ N-carbamail-putrescina aminohidrolase

⁵ espermidina sintase

2.1. Putrescina e Espermidina

A diamina putrescina ($\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$) e a triamina espermidina ($\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$), são consideradas substâncias reguladoras de crescimento de plantas, atuando na divisão e diferenciação celular (IGARASHI & KASHIWAGI, 2009).

Ambas as poliaminas estão presentes no vacúolo, citosol, cloroplastos, núcleo, mitocôndrias e, principalmente, associadas às paredes celulares (COLLI, 2008). Nos vegetais, a síntese da espermidina ocorre pela via S-adenosil metionina (AdoMet), mediante conversão da putrescina que é realizada a partir de transferências sucessivas de um ou dois grupos aminopropil (IGARASHI; KASHIWAGI, 2009).

A putrescina e a espermidina são importantes para prevenir os efeitos deletérios dos estresses ambientais. Esta importância se confirma pelos estudos que evidenciaram em vegetais, a participação destas poliaminas na proteção aos efeitos deletérios dos vários estresses (COLLI, 2008; KUBIŚ, 2008; AHMAD et al., 2009; GILL & TUTEJA, 2010; HUSSAIN et al., 2011; BRITIÁN et al., 2012).

Assim, a utilização exógena da putrescina e espermidina visa proteger as plantas sob os mais diversos estresses ambientais, destacando o estresse térmico por resfriamento (NAYYAR, 2005; CUEVAS et al., 2008; ÇAKMAK & ATICI, 2009) e por aquecimento (SONG et al., 2002; CHENG et al., 2012).

3. Prolina: função osmólito compatível

Para evitar os efeitos prejudiciais dos estresses, as plantas desenvolveram alguns mecanismos de proteção, dentre eles o ajuste osmótico. Este mecanismo é induzido pelo acúmulo, no vacúolo ou no citosol, de “solutos compatíveis” ou “osmoprotetores”, substâncias hidrofílicas orgânicas de baixo peso molecular, para auxiliar na manutenção da turgidez celular e preservar a integridade de enzimas, proteínas, macromoléculas e membranas (VERSLUES & BRAY, 2004; ABDUL JALEEL et al., 2007; JALEEL et al., 2007; SILVA et al., 2009; MAJUNDER et al., 2010; ASHRAF et al., 2011).

É interessante ressaltar que, os solutos compatíveis possuem propriedades bioquímicas e fisiológicas particulares, como a de permanecerem invariáveis em pH neutro, mesmo estando em altas concentrações nas células, e serem altamente hidrofílicos, o que permite à célula acumular altas concentrações sem que haja efeitos deletérios nas funções vitais e estruturas celulares (GILL & TUTEJA, 2010; GÜR et al., 2010; ASHRAF et al., 2011; HUSSAIN et al., 2010; BRITIÁN et al., 2012). Outra característica importante é que os solutos compatíveis não são substâncias específicas para cada espécie, assim uma vez sintetizados e acumulados, poderão ser utilizados sob qualquer situação estressante (MAJUNDER et al., 2010).

Os principais solutos orgânicos sintetizados e acumulados são a amina glicina betaína, os dissacarídeos trealose e sacarose, os alcoóis manitol e o pinitol e, principalmente, o aminoácido prolina (GÜR et al., 2010; ASHRAF et al., 2011).

A L-prolina é um dos 20 aminoácidos presentes nas proteínas de todos os organismos vivos e é considerada um “ α -iminoácido” por possuir um grupo amino ligado a dois átomos de carbono, conferindo-lhe características de neutralidade (MOLINARI, 2006; VERBRUGGEN & HERMANS, 2008; SZABADOS & SAVOURÉ, 2010). Em células vegetais não estressadas de espécies como arroz, sorgo, milho, trigo e cevada, este aminoácido está presente em baixas concentrações de aproximadamente 1 a 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de massa seca, o que constitui menos de 5% dos aminoácidos totais (HANSON, 1980 citado por NOGUEIRA et al., 2001; MATYSIK et al., 2002). No entanto, esta concentração pode aumentar em até 100 vezes, sob condições de estresse, com variação de espécie para espécie (GUBIŠ et al., 2007; VERBRUGGEN & HERMANS, 2008; CHA-UM & KIRDMANEE, 2009; FAROOQ et al., 2009; SZABADOS & SAVOURÉ, 2010; ASHRAF et al., 2011).

O acúmulo da prolina, pode prevenir a desnaturação de proteínas, preservar a estrutura de enzimas, proteger as membranas dos efeitos deletérios causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) e inibir a agregação de proteínas. Ainda, atua como tampão para regular o potencial redox das células, minimiza a acidez do citoplasma, mantém as taxas de $\text{NADP}^+/\text{NADH}$, as quais fornecem equivalentes redutores para manter a fotofosforilação oxidativa na mitocôndria que auxilia na reparação de estruturas celulares danificadas pelo estresse, além do que a oxidação

de cada molécula de prolina pode gerar até 30 ATPs (SHARMA & DUBEY, 2005; VERBRUGGEN & HERMANS, 2008; TROVATO et al., 2008; CHA-UM & KIRDMANEE, 2009; DOBRA et al., 2010; MAJUNDER et al., 2010; SZABADOS & SAVOURÉ, 2010; ASHRAF et al., 2011).

Nas plantas superiores existem duas vias para a síntese da prolina: a via L-ornitina e a via L-glutamato. A ornitina e o glutamato são principais precursores da biossíntese da prolina e este processo é mediado pelas enzimas P5CS⁶ e P5CR⁷ (PARVAIZ & SATYAWATI, 2008). A síntese ocorre no citosol ou no estroma dos cloroplastos, onde o glutamato (GLU) reduzido a glutamato semialdeído (GSA) pela P5CS e então convertido a prolina pelas enzimas P5C⁸ e P5CR (Figura 2). Ainda pode dar-se a partir da ornitina, que sofre transaminação pela enzima OAT⁹ produzindo GSA, que é então convertido em prolina pela P5C (MAJUNDER et al., 2010; SZABADOS & SAVOURÉ, 2010).

Em condições ambientais desfavoráveis, como as altas e baixas temperaturas, as sementes estabelecem mecanismos de adaptação e manutenção da homeostase celular mediante o acúmulo do osmoprotetor prolina, que pode ocorrer pela diminuição da degradação ou aumento na biossíntese deste composto devido à baixa utilização dela durante o estresse, em função da redução da síntese protéica e do aumento da proteólise (GÜR et al., 2010; SAHA et al., 2010; CAO et al., 2011).

De acordo com Manivannan et al. (2007) este acúmulo é considerado importante parâmetro de seleção de plantas resistentes aos estresses. De fato, evidências do envolvimento direto da prolina durante o estresse osmótico foram fornecidas por abordagens sobre transgênicos, conforme relatam Meneses et al. (2006), na manipulação da biossíntese de prolina em tabaco, arroz e *Arabidopsis*. Maggio et al. (2002) defendem que, a prolina pode atuar como molécula sinalizadora e reguladora, capaz de ativar respostas múltiplas que são componentes do processo de aclimação.

⁶ pirrolina-5-carboxilato sintetase

⁷ pirrolina-5-carboxilato redutase

⁸ pirrolina-5-carboxilato

⁹ ornitina-delta-aminotransferase

Contudo, as respostas que envolvem o acúmulo de prolina aos estresses abióticos ainda são questionadas na comunidade científica. Na literatura há autores que defendem a atuação da prolina como molécula sinalizadora e reguladora, com capacidade de ativar respostas necessárias ao processo de aclimação (MAGGIO et al., 2002). Porém, há outros que salientam que o acúmulo de prolina pode estar relacionado a outras atividades como a síntese —*de novo*—, redução do catabolismo, baixa utilização oriunda da redução da síntese protéica ou do aumento da proteólise (NAYYAR & WALIA, 2003; ABDUL JALEEL et al., 2007; BRITO et al., 2008; ASHRAF et al., 2011). A controvérsia em torno da função da prolina pode refletir a predominância de sua ação em outros mecanismos de resistência que não o ajuste osmótico (ASHRAF et al., 2011).

De qualquer modo, há diversos estudos que relacionam o acúmulo de prolina ao mecanismo de ajuste osmótico e estes se mostram favoráveis à indução da biossíntese deste aminoácido por mecanismos de manipulação gênica, a qual é uma ferramenta promissora para incrementar o acúmulo de osmoprotetores como a prolina.

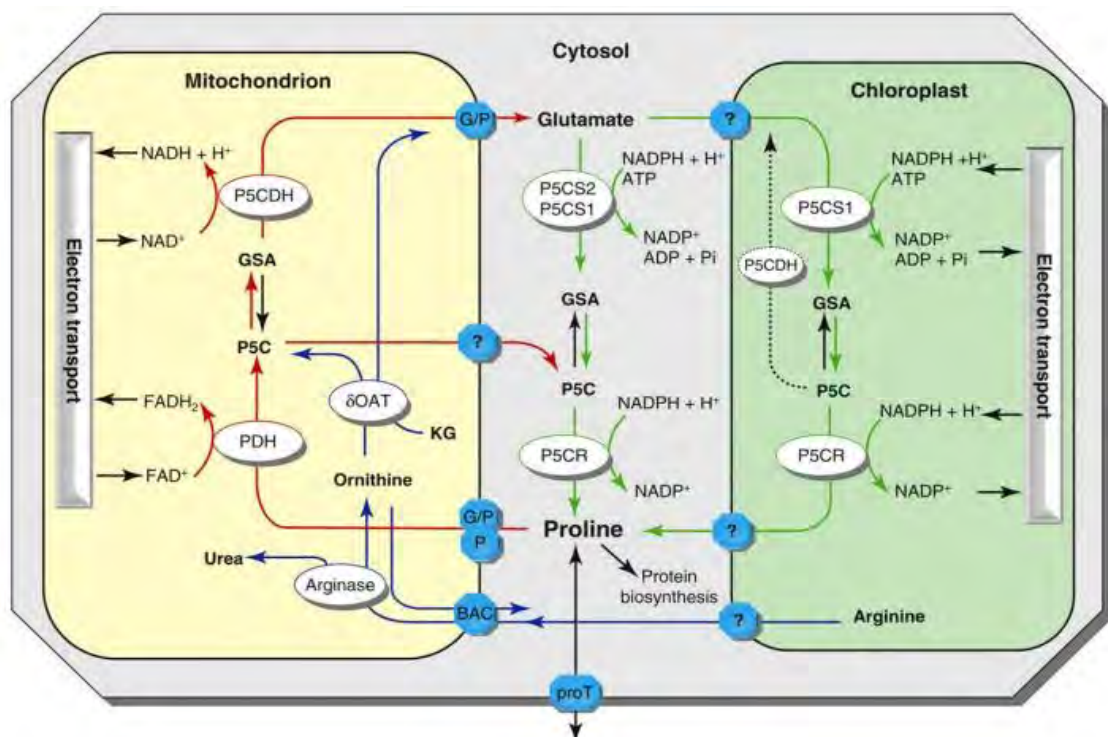


Figura 2. Modelo proposto para o metabolismo da prolina em plantas. A via biossintética marcada em linhas verdes; a via catabólica em linhas vermelhas e a via da ornitina em linhas azuis. Fonte: Szabados & Saviouré (2010).

4. O guandu - *Cajanus cajan* (L.) Millsp.

O gênero *Cajanus* é comumente encontrado em regiões tropicais e subtropicais como Ásia, África, Austrália, América Latina e Índia, o principal produtor. Entre as leguminosas mais cultivadas para a alimentação, ocupa o 4º lugar mundial, isso devido aos altos níveis de proteína que as sementes apresentam o que agrega valor nutricional à alimentação humana e animal (SAXENA, 2008; VARSHEY et al., 2010; PANDE et al., 2011). Em todo o mundo, as plantações de guandu ocupam cerca de 4,58 milhões de hectares, os quais produzem, aproximadamente, 3,27 toneladas de grãos, produção esta considerada ainda baixa em comparação a outras culturas (VARSHNEY et al., 2010; PANDE et al., 2011).

O guandu, *Cajanus cajan* (L.) Millsp. pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae, subtribo Cajaninae. É uma leguminosa arbustiva importante em países tropicais e subtropicais e possui ciclo anual ou semiperene. A espécie teve origem, provavelmente, no Continente Africano ou na Índia (NENE et al., 1990), embora tenha sido introduzida no Brasil pela rota dos escravos, nos navios negreiros provenientes da África, tornando-se amplamente distribuído e cultivado em regiões tropicais onde se tornou alternativa para a provisão de alimento de alta qualidade e redução de custos com colheita e armazenamento de forragem no período da entressafra (SEIFERT & THIAGO, 1983; NENE et al., 1990; RAO et al., 2002; JUNIOR et al., 2009; VARSHNEY et al., 2010).

No Brasil, é frequentemente encontrada em quintais domésticos, tendo sua popularidade relacionada à palatabilidade de seus grãos verdes, que podem substituir as ervilhas enlatadas e quando secos, podendo ser consumidos como o feijão (AZEVEDO et al., 2007). Ainda, devido aos problemas com a degradação das pastagens brasileiras, decorrente da degradação dos solos e dos recursos naturais em função do manejo inadequado, a implantação de leguminosas como o guandu em pastagens antes exclusivas de gramíneas, proporciona não só a recuperação da pastagem e a quebra do ciclo de diversos patógenos destas plantas, como também aumento da produtividade e palatabilidade destas gramíneas a partir do fornecimento contínuo de nitrogênio e, conseqüentemente, o teor de proteína (AZEVEDO et al., 2007; PANDE et al., 2011). É muito indicado também, para a

suplementação do gado de corte e/ou leite devido aos altos teores de proteína bruta que suas folhas e ramos apresentam, cerca de 20%, proporcionando ganho de peso em torno de 500 a 800 g/animal/dia e entre 400 a 700 kg/ha/ano, para os períodos chuvoso e seco, respectivamente (COSTA et al., 2001). No período de seca, pode ser utilizado como componente da ração de confinamento, possibilitando ganhos de peso dos bovinos iguais ou superiores aos obtidos na estação chuvosa (AZEVEDO et al., 2007).

É uma espécie rústica, e por isso, tem sido empregado em programas de recuperação de áreas degradadas, projeto de reflorestamento em áreas com voçorocas e implantação de cordões de vegetação permanentes. Como cobertura verde também apresenta resultados satisfatórios, provavelmente devido à maior porcentagem de tecido lenhosos que a espécie apresenta, o que proporciona maior resistência física ao escoamento de água pelo solo, minimizando assim os processos erosivos. Ainda, como leguminosa é conhecido pela capacidade de associação com microrganismos do solo, como bactérias fixadoras de nitrogênio, transformando o nitrogênio gasoso em compostos nitrogenados assimiláveis aos vegetais. Portanto, pode ser utilizado na recuperação de áreas degradadas, como planta fitorremediadora, retirando metais pesados do solo e ainda como opção para cultivo rotacionado com gramíneas e cereais, pois possibilita aumento da produtividade e quebra do ciclo de diversos patógenos destas espécies (AZEVEDO et al., 2007; VARSHNEY et al., 2010; PANDE et al., 2011).

É uma espécie de clima tropical, melhor adaptada a regiões de baixas latitudes como os trópicos e subtropicais, e apresenta melhor crescimento em temperaturas mais altas do que em períodos de resfriamento, onde seu crescimento é muito reduzido devido às baixas temperaturas (NENE et al., 1990).

Devido à amplitude de adaptação aos estresses abióticos e a capacidade de crescimento e desenvolvimento em solos com baixa fertilidade, que limitam outras forrageiras, é frequentemente citado como espécie de múltiplo uso (PANDE et al., 2011).

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. Material botânico- Cultivares de Guandu

1.1. BRS Mandarin

Esta cultivar foi desenvolvida através de uma parceria entre a Embrapa Pecuária Sudeste, localizada no município de São Carlos, São Paulo, a Unipasto e a Embrapa Transferência de Tecnologia em 2008, para suprir as necessidades, principalmente, dos pecuaristas e produtores de cana-de-açúcar. A cultivar apresenta produtividade 10% superior as demais cultivares já lançadas e, portanto, constitui-se uma cultivar extremamente indicada para a alimentação de bovinos (RETI, 2012).

Além disso, apresenta alta homogeneidade de sementes, resultando em plantas iguais e uniformes, o que também não ocorre em outras cultivares. Por apresentar boa persistência, permite uma vida útil de quatro anos, quando bem manejado, ao passo que a produção das cultivares já existentes chega apenas ao segundo ano. Em experimentos realizados com novilhas leiteiras, o uso do guandu BRS Mandarin foi eficaz que o custo de alimentação foi reduzido em 21%. Também se verificou uma redução de 8% no custo por kg de ganho de peso nestas novilhas, devido à redução de concentrado (soja, milho, rações) e fornecimento, na forma de guandu picado, de aproximadamente 20% da ingestão total de matéria seca (RETI, 2012)

É indicada para os produtores de cana, para uso na rotação de parte do canavial a cada cinco anos, descompactando o solo e nele fixando nitrogênio. As diversas variedades de guandu fixam nitrogênio no solo a partir da atmosfera, tem alto teor de proteínas (cerca de 20%), boa resistência à seca por possuir raízes profundas que conseguem buscar água nas camadas mais profundas do solo, além de boa digestibilidade nos bovinos, o que leva a um melhor ganho de peso. A leguminosa é rústica, o que facilita sua implantação e manejo, inclusive em solos de baixa fertilidade, mas não tolera solos encharcados e necessita de alta luminosidade durante a formação das vagens (RETI, 2012).

1.2. Caqui

A cultivar Caqui apresenta plantas perenes e arbustivas, que possuem elevada tolerância a seca e ao frio, todavia, as plantas desta cultivar podem mostrar-se sensíveis à acidez do solo, devendo o pH ser corrigido antes do seu plantio. O sistema radicular é vigoroso, com profundidade de 2 a 3 metros. É muito utilizada na adubação verde, no pastoreio direto, devido à alta palatibilidade, na fenação e na ensilagem com milho e sorgo. O início do florescimento ocorre aos 111 dias e a melhor época de plantio é na estação chuvosa (GODOY et al., 2003; NATERRA, 2012).

2. Montagem e condução experimental

Os experimentos foram instalados no laboratório de Fisiologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV, da Universidade Estadual Paulista, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, nos anos de 2011 e 2012. As sementes de ambas as cultivares, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, foram provenientes da empresa Wolf Seeds do Brasil, Ribeirão Preto, SP.

2.1. Germinação de sementes e obtenção de plântulas

Para verificar a germinação das sementes¹⁰ sob estresse térmico e efeito das poliaminas exógenas, foram utilizadas caixas transparentes, tipo gerbox, previamente esterilizadas e revestidas com uma folha de papel de germinação umedecida com 15 mL de solução contendo 0,0 mM, 0,5 mM de putrescina (Put) ou 0,5 mM de espermidina (Spd). Para a imposição do estresse térmico, foram utilizadas temperaturas dentro da faixa 12,8°C a 43°C, indicada por Nene et al. (1990), para o desenvolvimento da cultura de guandu em campo.

O estresse térmico por resfriamento e aquecimento, constou das seguintes temperaturas, a saber: temperaturas subótimas de 20°C, 18°C, 16°C e 14°C e

¹⁰ Segundo Brasil (2009), o critério de germinação de sementes em teste de laboratório, consiste em verificar a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, com aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis de campo.

temperaturas supraótimas de 36°C, 38°C, 40°C e 44°C. Para o tratamento controle foi considerada não estressante a temperatura de 25°C.

Em germinador com fotoperíodo de 12 horas, primeiramente, as sementes foram submetidas ao estresse térmico por 24 ou 48 horas (tempos de exposição), de acordo com a metodologia de Lopes et al. (2010) e, posteriormente, foram transferidas para 25°C. Cada tratamento consistiu de quatro repetições de 25 sementes.

Para a montagem dos experimentos de cada cultivar, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x4x2+3 (0,0mM; 0,5 mM de Put ou Spd; estresse térmico de resfriamento em 20°C, 18°C, 16°C e 14°C e de aquecimento em 36°C, 38°C, 40°C e 44°C, tempos de exposição aos estresses por 24 ou 48 horas, mais os fatores adicionais que consistiu do tratamento controle de temperatura de 25°C com 0,0mM e 0,5mM de Put e Spd).

Para a avaliação do crescimento inicial e do acúmulo de prolina das plântulas de guandu foram utilizadas as temperaturas subótimas de 18°C e 14°C e nas supraótimas de 36°C e 40°C, devido ao fato dos testes preliminares acusarem respostas mais expressivas nos teores de prolina e aumento da massa seca. Assim, para o crescimento inicial e teores de prolina, de cada cultivar, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x2x2+3 (0,0mM; 0,5 mM de Put ou Spd; estresse térmico de resfriamento 14°C ou 18°C e de aquecimento 36°C e 40°C, tempos de exposição aos estresses por 24 ou 48 horas, mais os fatores adicionais que consistiram do tratamento controle com temperatura de 25°C e poliaminas exógenas de 0,0mM, 0,5mM de Put e Spd).

De acordo com Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), após 10 dias, foi verificada a porcentagem de germinação¹¹ e separadas as plântulas intactas¹² para averiguação do crescimento inicial e determinação do acúmulo de prolina nas partes vegetativas (parte aérea e raiz primária).

¹¹ Segundo Brasil (2009), o critério de porcentagem de germinação de sementes, nos teste de laboratório, corresponde à proporção do número de sementes que produziu plântulas classificadas como normais.

¹² Segundo Brasil (2009), plântulas intactas são aquelas que apresentam todas as estruturas essenciais bem desenvolvidas, completas e proporcionais.

2.1.1. Determinação do acúmulo de prolina

A quantificação de prolina livre da parte aérea e das raízes primárias foi realizada de acordo com a metodologia Bates et al. (1973), cujo procedimento consiste na homogeneização manual de 0,5g de massa de matéria fresca, com 10 mL de ácido sulfosalicílico a 3% e filtragem. Primeiramente, foi preparada a solução de ácido ninhidrina, sendo necessária a diluição sob aquecimento de 1,25g de ninhidrina em 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico 6M. Em um tubo de ensaio foram colocados 2 mL filtrado de massa de matéria fresca que reagiram com 2 mL de ácido ninhidrina e 2 mL de ácido acético glacial por 60 minutos em banho-maria à temperatura de 100°C. Decorrido este tempo, o tubo de ensaio foi colocado em um recipiente com gelo para finalizar a reação. Em seguida foram adicionados 4 mL de tolueno e a solução foi homogeneizada agitando-se por 15 a 20 segundos. A leitura de absorbância (intensidade da cor) das amostras foi medida no comprimento de onda 520 nm, utilizando-se espectrofotômetro Beckman DU 640. As absorbâncias obtidas foram comparadas com curva padrão de prolina. Os teores de prolina foram calculados para a curva padrão, conforme a fórmula a seguir:
$$[(\mu\text{g prolina/mL} \times \text{mL tolueno})/115,13 \mu\text{g}/\mu\text{moles}] / [(\text{g amostra})/5] = \mu\text{moles de prolina/g massa fresca.}$$

2.1.2. Crescimento inicial

Para a determinação do crescimento inicial foi verificada a massa de matéria seca das partes vegetativas. Para tanto, as partes vegetativas as plântulas intactas foram separadas, parte aérea e raízes primárias, ensacadas e levadas à estufa de circulação forçada de ar em temperatura de 80°C. Após 72 horas, as plântulas desidratadas foram colocadas em dessecador por mais 48 horas, atingindo resfriamento completo, e pesadas em balança analítica Denver Instrument Company AA-200, com precisão de 1×10^{-8} g.

3. Tratamento estatístico

O estudo estatístico foi realizado separadamente para cada cultivar. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de germinação de sementes foram transformados em arco seno raiz quadrada de $x/100$, e pelo fato do estresse térmico constar de quatro temperaturas subótimas e quatro temperaturas supraótimas, os desdobramentos dos graus de liberdade foram submetidos à análise de regressão polinomial.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Efeitos do estresse térmico

1.1. Germinação de sementes

1.1.1. Temperaturas subótimas

Os efeitos das temperaturas subótimas (20°C, 18°C, 16°C e 14°C), dos tempos de exposição e das poliaminas exógenas, em ambas as cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente, e Figura 3. Os tratamentos com as poliaminas exógenas putrescina e espermidina, não causaram quaisquer efeitos na germinação das sementes de guandu (Tabela 1 e 2).

As temperaturas mais baixas (16°C e 14°C) causaram redução acentuada da germinação de sementes em ambas as cultivares de guandu (Tabela 1 e 2). De fato, nota-se que, conforme menor a temperatura a que as sementes foram submetidas, houve maior redução da germinação em 24 horas que em 48 horas, tanto para a cv. BRS Mandarin quanto para cv. Caqui (Figura 3A e 3B, respectivamente).

A redução da germinação das sementes evidencia a sensibilidade de espécies de clima tropical, como o guandu, às temperaturas baixas, pois, estas condições reduzem a fluidez das membranas, passando de uma forma líquida para uma fase em gel, o que afeta mecanismos bioquímicos e fisiológicos como o processo germinativo, que é uma das etapas mais sensíveis e importantes do desenvolvimento vegetal (MERTZ et al., 2009; RANAWAKE & NAKAMURA, 2011). Resultados semelhantes foram encontrados para sementes de alfafa (WANG et al., 2009) e trigo (TOBEH & JAMAATI-E-SOMARIN, 2012) submetidas a temperaturas baixas, as quais também apresentaram redução da porcentagem de germinação.

A maior germinação das sementes expostas por 48 horas às baixas temperaturas deve-se, provavelmente, a capacidade de aclimação do organismo vegetal, uma vez que esta acontece a partir de uma exposição prévia à condição estressante, neste caso o período de 24 horas, com exposição posterior ou prolongada a condição de resfriamento (KRASENSKY & JONAK, 2012). Este comportamento foi observado também em feijão

(*Phaseolus vulgaris* L.), onde as sementes submetidas ao resfriamento prévio, não só germinaram mais, como apresentaram menor taxa de plantas anormais (CUSTODIO et al., 2009).

1.1. 2. Temperaturas supraótimas

Os efeitos das temperaturas supraótimas (36°C, 38°C, 40°C e 44°C), dos tempos de exposição e das poliaminas exógenas, em ambas as cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, estão apresentados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente, e Figura 4.

As temperaturas supraótimas causaram redução acentuada da germinação de sementes da cv. BRS Mandarin (Tabela 3) e da cv. Caqui (Tabela 4). Verifica-se que na cv. BRS Mandarin a redução da germinação ocorreu em temperaturas mais elevadas de 40°C e 44°C, enquanto que, na cv. Caqui a redução da germinação ocorreu a partir de 38°C, fato este confirmado pela morte do embrião na temperatura 44°C.

A exposição das sementes de guandu às temperaturas supraótimas por maior período de exposição, provocou acentuada redução da porcentagem de germinação (Tabela 3 e 4). De fato, a germinação das sementes da cv. BRS Mandarin foi maior em 24 horas que em 48 horas (Figura 4A). A cv. Caqui, apesar de evidenciar, também, maior germinação em 24 horas sob aquecimento, não mostrou efeito interativo com as temperaturas estudadas (Tabela 4; Figura 4C).

As poliaminas exógenas incrementaram a germinação das sementes da cv. BRS Mandarin sob as temperaturas de aquecimento, enquanto que na cv. Caqui, somente a Spd melhorou a germinação das sementes (Tabela 3 e 4; Figura 4B). Ainda, nesta cultivar a Put exógena provocou menor germinação das sementes (Tabela 4), provavelmente devido às rotas enzimáticas serem mais sensíveis às temperaturas supraótimas.

O aumento linear da temperatura geralmente induz ao aumento da germinação, entretanto, temperaturas muito elevadas podem provocar redução acentuada do processo germinativo (LABORIAU, 1983; ALVARADO & BRADFORD, 2002). A redução da germinação conforme aumento da temperatura de estresse pode resultar das modificações sofridas pelas

membranas celulares sob temperaturas altas, o que desencadeia alterações em processos determinantes ao crescimento vegetal, como a respiração (KUMAR et al., 2011; ALMESELMANI et al., 2012). A exposição das sementes a temperaturas altas durante o período de enchimento pode acelerar a senescência, reduzir a viabilidade das sementes e, conseqüentemente, seu rendimento. Isto ocorre porque sob tais condições, as plantas tendem a desviar recursos para lidar com o estresse por aquecimento e assim, os fotossintatos disponíveis para o desenvolvimento da planta tornam-se limitados (SIDDIQUE et al., 1999; WAHID et al., 2007). Resultados semelhantes foram encontrados por Raveneau et al. (2011) em sementes de ervilha e feijão

Também corroboram os resultados referentes à aplicação de poliaminas, onde, a utilização destas, principalmente a Spd, mostrou atenuar os efeitos das temperaturas elevadas. Para a cv. BRS Mandarin, além da Spd, também foi verificada interferência positiva com aplicação de 0,5mM de Put. As poliaminas são reguladores vegetais que atuam no desenvolvimento das sementes e têm funções importantes como o crescimento e desenvolvimento dos vegetais, através da regulação da divisão celular, síntese de macromoléculas como proteínas e ácidos nucléicos, estabilização das membranas celulares, germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de flores e frutos e resposta a estresses bióticos e abióticos, assim, a utilização das poliaminas pode ter causado condicionamento osmótico das sementes, pois reguladores vegetais como estes são considerados agentes osmóticos (ASHRAF et al., 2008; KRAWIARZ & SZCZOTKA, 2008; GILL & TUTEJA, 2011).

As temperaturas altas causam redução da germinação de sementes, perda do vigor, redução da emergência e do desenvolvimento das plântulas, podendo causar a morte prematura das plântulas (HALL, 1992; EGLI et al., 2005). O estresse por altas temperaturas age limitando a disponibilidade de água, energia e nutrientes pela semente, assim, a utilização de reguladores como as poliaminas, putrescina e espermidina, torna-se positiva, pois, estas apresentam a capacidade de amenizar os efeitos causados pelas temperaturas extremas e ainda, auxiliam as sementes a adquirirem a capacidade de germinar com pouca água em seu organismo (CAVUSOGLU & KABAR, 2007).

Tabela 1. Análise de variância das temperaturas subótimas, tempos de exposição e poliaminas exógenas na germinação de sementes (%) de guandu cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011- 2012.

Temperaturas (TR)	Germinação (%)¹
20°C	67,63 a
18°C	69,99 a
16°C	64,32 b
14°C	59,05 c
Teste F	43,01**
Tempos de exposição (TE)	Germinação (%)¹
24 horas	63,31 b
48 horas	67,18 a
Teste F	28,64**
Poliaminas (P)	Germinação (%)¹
0,0 mM	65,12 a
0,5 mM Put ²	65,09 a
0,5 mM Spd ³	65,53 a
Teste F	0,15 ^{ns}
Interações	Germinação (%)¹
TRxTE	6,38**
TRxP	0,18 ^{ns}
TExp	0,42 ^{ns}
TRxTExp	0,55 ^{ns}
Tratamentos Adicionais	Germinação (%)¹
25°C + 0,0 mM	74,19 a
25°C + 0,5 mM Put	69,01 a
25°C + 0,5 mM Spd	70,45 a
Teste F	4,49*
Média Fatorial	65,25
Média Tratamentos Adicionais	75,54
Adicional vs. Fatorial	90,11**
C.V. (%)	5,33

¹ Dados de % de germinação transformados em arco seno raiz quadrada de x/100;

² Putrescina; ³ Espermidina; ns : não significativo (P > 0,05);* : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01); C.V.: coeficiente de variação..

Tabela 2. Análise de variância das temperaturas subótimas, tempos de exposição e poliaminas exógenas na germinação de sementes (%) de guandu cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011 - 2012.

Temperaturas (TR)	Germinação (%)¹
20 °C	73,91 a
18 °C	70,61 a
16 °C	63,32 b
14 °C	57,91 c
Teste F	77,77**
Tempos de exposição (TE)	Germinação (%)¹
24 horas	65,22 b
48 horas	66,88 a
Teste F	4,07*
Poliaminas (P)	Germinação (%)¹
0,0 mM	64,79 a
0,5 mM Put ²	66,20 a
0,5 mM Spd ³	67,15 a
Teste F	2,78 ^{ns}
Interações	Germinação (%)¹
TRxTE	15,83**
TRxP	1,89 ^{ns}
TExP	0,34 ^{ns}
TRxTExP	1,57 ^{ns}
Tratamentos Adicionais	Germinação (%)¹
25°C + 0,0 mM	74,19 a
25°C + 0,5 mM Put	69,01 a
25°C + 0,5 mM Spd	70,45 a
Teste F	1,75 ^{ns}
Média Fatorial	66,05
Média Tratamentos Adicionais	71,22
Adicional vs. Fatorial	17,43**
C.V. (%)	6,07

¹ Dados de % de germinação transformados em arco seno raiz quadrada de x/100; ² Putrescina; ³ Espermidina; ns : não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01); C.V.: coeficiente de variação.

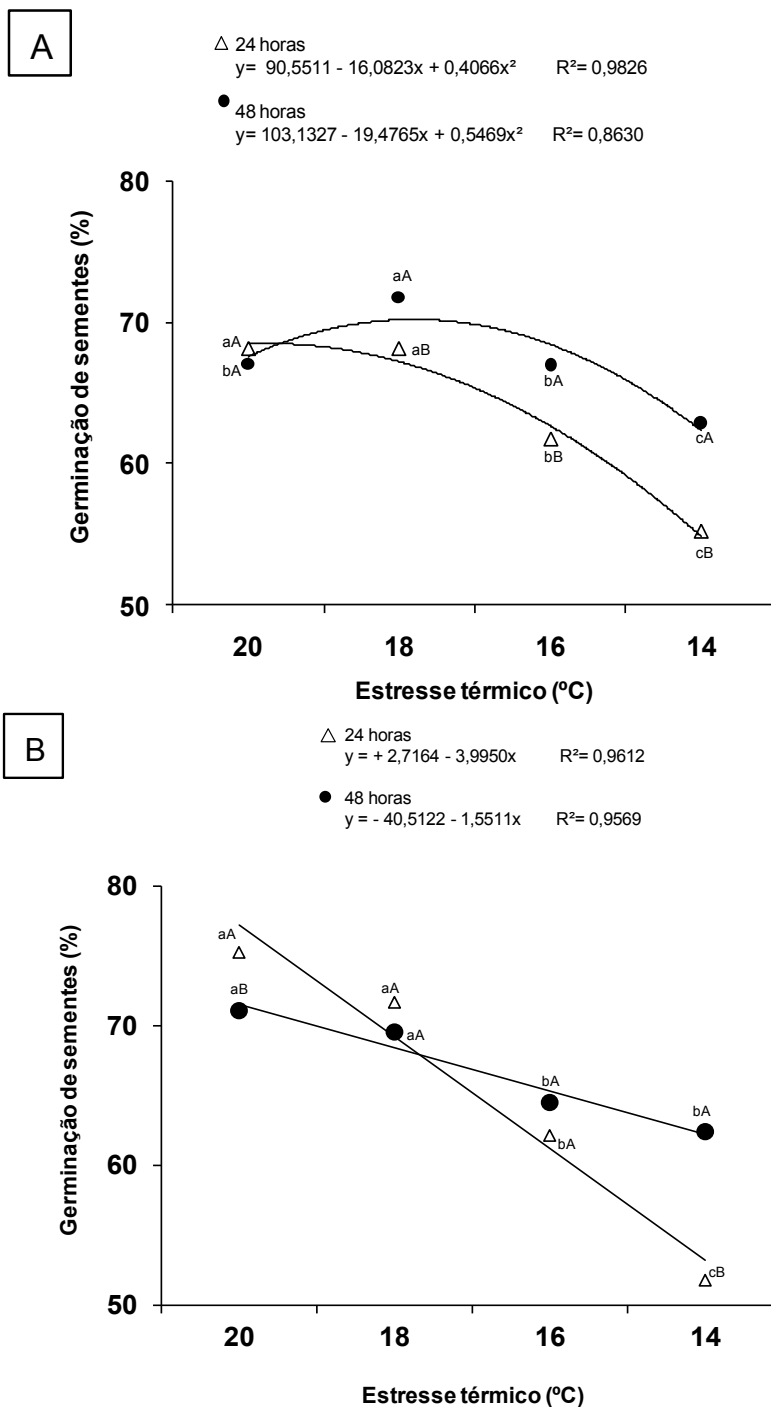


Figura 3. Germinação de sementes (%) de guandu, no 10º dia após a semeadura, sob diferentes temperaturas de resfriamento e períodos de exposição aos estresses. (A) cv. BRS Mandarin; (B) cv. Caqui. *Médias seguidas da mesma letra maiúscula (entre tempos de exposição ou temperaturas) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Tabela 3. Análise de variância das temperaturas supraótimas, tempos de exposição e poliaminas exógenas na germinação de sementes (%) de guandu cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011 - 2012.

Temperaturas (TA)	Germinação (%)¹
36 °C	80,15 a
38 °C	82,45 a
40 °C	74,34 b
44 °C	71,54 c
Teste F	50,25**
Tempos de exposição (TE)	Germinação (%)¹
24 horas	79,53 a
48 horas	74,72 b
Teste F	45,68**
Poliaminas (P)	Germinação (%)¹
0,0 mM	75,46 b
0,5 mM Put ²	77,87 a
0,5 mM Spd ³	78,03 a
Teste F	5,44**
Interações	Germinação (%)¹
TAxTE	5,04**
TAxP	3,71**
TExP	2,78 ^{ns}
TAxTExP	7,18**
Tratamentos Adicionais	Germinação (%)¹
25°C + 0,0 mM	72,05 b
25°C + 0,5 mM Put	75,07 ab
25°C + 0,5 mM Spd	79,51 a
Teste F	4,63*
Média Fatorial	77,12
Média Tratamentos Adicionais	75,54
Adicional vs. Fatorial	2,20 ^{ns}
C.V. (%)	4,53

¹ Dados de % de germinação transformados em arco seno raiz quadrada de x/100;

² Putrescina; ³ Espermidina; ns : não significativo (P > 0,05);* : significativo (P < 0,05);

** : significativo (P < 0,01); C.V.: coeficiente de variação.

Tabela 4. Análise de variância das temperaturas supraótimas, tempos de exposição e poliaminas exógenas na germinação de sementes (%) de guandu cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011-2012.

Temperaturas (TA)	Germinação (%)¹
36 °C	76,24 a
38 °C	70,45 b
40 °C	64,64 c
44 °C	-- ²
Teste F	45,80**
Tempos de exposição (TE)	Germinação (%)¹
24 horas	73,13 a
48 horas	67,76 b
Teste F	29,36**
Poliaminas (P)	Germinação (%)¹
0,0 mM	70,78 ab
0,5 mM Put ³	68,63 b
0,5 mM Spd ⁴	71,92 a
Teste F	3,81*
Interações	Germinação (%)¹
TAxTE	1,75 ^{ns}
TAxP	0,87 ^{ns}
TEExP	0,15 ^{ns}
TAxTEExP	2,55*
Tratamentos Adicionais	Germinação (%)¹
25°C + 0,0 mM	74,19 a
25°C + 0,5 mM Put	69,01 a
25°C + 0,5 mM Spd	70,44 a
Teste F	1,62 ^{ns}
Média Fatorial	70,44
Média Tratamentos Adicionais	71,21
Adicional vs. Fatorial	0,35 ^{ns}
C.V. (%)	5,95

¹ Dados de % de germinação transformados em arco seno raiz quadrada de x/100;

² Ausência de germinação, morte das sementes (este dado não foi considerado na análise de variância); ³ Putrescina; ⁴ Espermidina; ns : não significativo (P > 0,05);* : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01); C.V.: coeficiente de variação.

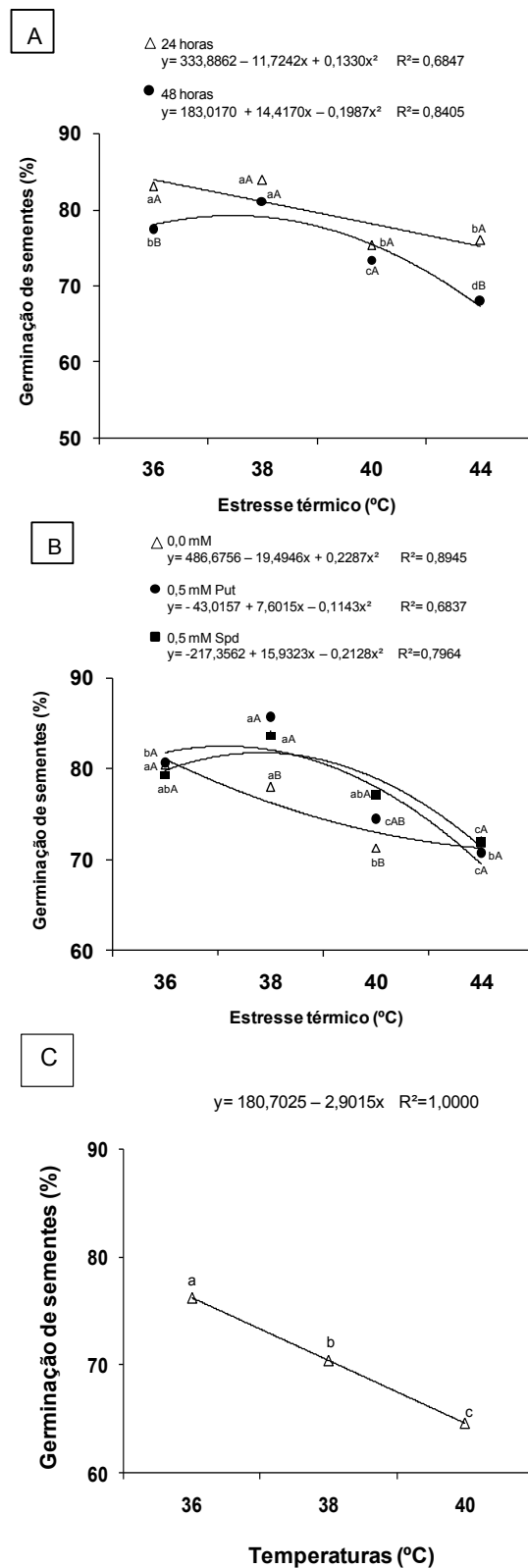


Figura 4. Germinação de sementes (%) de guandu, cv. BRS Mandarin, em temperaturas supraótimas, sob efeito dos tempos de exposição (A) e poliaminas exógenas (B) e cv. Caqui, sob efeito das temperaturas de aquecimento, no 10º dia após a semeadura. *Médias seguidas da mesma letra maiúscula (entre tempos de exposição ou temperaturas) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

1.2. Teores de prolina e crescimento inicial

1.2.1. Temperaturas subótimas

As temperaturas de resfriamento, tempos de exposição e poliaminas exógenas provocaram aumento significativo dos teores de prolina, em ambas as cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui (Tabela 5; Figuras 5B-5D; 6B, 6D e 6F; 7B, 7D e 7E; 8A, 8B e 8D).

Observa-se que, na cv. BRS Mandarin, ambas as poliaminas exógenas aumentaram significativamente os teores de prolina na exposição de 24 horas às temperaturas de resfriamento (Figuras 5B e 6F), porém, este aumento foi provocado pela Put na parte aérea (Figura 6B) e pela Spd nas raízes primárias (Figura 6F). Por outro lado, com 48 horas de exposição ao frio, os teores de prolina da parte aérea foram reduzidos pelas poliaminas (Figura 5B), enquanto que nas raízes primárias, novamente, a Spd mostrou maior efeito (Figura 6F). Na temperatura de resfriamento mais severa (14°C), o aumento significativo dos teores de prolina foi ocasionado pela Put na parte aérea, embora nas raízes primárias a Put tenha reduzido o conteúdo deste aminoácido (Figura 5D e 6D). Os tempos de exposição às temperaturas subótimas, revelaram que no menor período (24 horas), a temperatura de 14°C causou aumento nos teores de prolina das plântulas de guandu, indicando que em menor temperatura necessita-se de menos tempo para ocorrer o acúmulo da prolina (Figura 5C e 6B). De fato, verificando os resultados de 18°C, nota-se que, o maior acúmulo de prolina ocorreu em 48 horas (Figura 5C e 6B).

Os resultados da cv. Caqui referentes aos tempos de exposição às temperaturas subótimas revelaram que, no menor período (24 horas) ambas as temperaturas provocaram aumento nos teores de prolina das plântulas de guandu (Figura 7B e 8D), sendo este mais expressivo à 14°C (Figura 8D). }Sob resfriamento menos severo (18°C), a Spd aumentou significativamente os teores de prolina, tanto na parte aérea quanto nas raízes primárias (Figura 7D e 8ª). Ainda, em relação à Put, a Spd aumentou o conteúdo de prolina nas raízes primárias sob temperatura de 14°C (Figura 8A). Observa-se que, na parte aérea e nas raízes primárias da cv. Caqui, apenas a Spd aumentou significativamente os teores de prolina na exposição de 48 horas às temperaturas de resfriamento (Figuras 7E e 8B). Na exposição de 24 horas, a

Spd também causou aumento da prolina nas raízes primárias, em comparação com a Put (Figura 8B).

O estresse térmico pelo resfriamento causou efeito significativo no crescimento inicial da parte aérea das plântulas de guandu (Tabela 5). As plântulas da cv. BRS Mandarin apresentaram acentuada diminuição do crescimento à 14°C (Figura 13A). Por outro lado, os tratamentos de poliaminas no período de 24 horas sob estresse por resfriamento, incrementaram o crescimento tanto da parte aérea (Figura 5A), quanto das raízes primárias (Figura 6E). Além disso, o crescimento inicial das raízes primárias foi maior com 48 horas de exposição, tanto sob 18°C quanto sob 14°C e a Put causou maior crescimento em 18°C (Figura 6A e 6C, respectivamente).

As plântulas da cv. Caqui apresentaram maior crescimento quando submetidas a 18°C (Figura 7A e 8C). Além disso, o crescimento foi influenciado positivamente pela Put (Figura 7C), a partir do incremento da massa seca da parte aérea na temperatura mais severa de resfriamento (14°C). A temperatura de resfriamento menos severa (18°C) provocou maior crescimento, porém, independente das poliaminas exógenas (Figura 7C).

As membranas celulares são mosaicos fluidos compostos por proteínas e lipídios, que lhes confere mobilidade característica. As temperaturas subótimas podem provocar alterações nestes componentes das membranas e por consequência, modificar o gradiente termodinâmico destas, deixando-as menos fluidas e mais rígidas, podendo desencadear a seca fisiológica que torna a água presente indisponível ao organismo, inibindo a atividade de enzimas como a α -amilase, responsável pela concentração e translocação dos açúcares necessários à germinação e, consequentemente, ao crescimento inicial das plântulas, como observado por Zeid et al. (2004) e Cao et al. (2011).

A aplicação de Put ou Spd nas sementes de guandu, proporcionou maior crescimento das plântulas através do incremento da massa seca das partes aéreas e raízes primárias, como verificado por Shen et al. (2000) e Khan et al. (2012), que relacionam este incremento à divisão celular estimulada pelas poliaminas devido a elas serem consideradas reguladores vegetais e ainda, por agirem como protetores contra a peroxidação lipídica das membranas celulares através da inativação da NADPH oxidase.

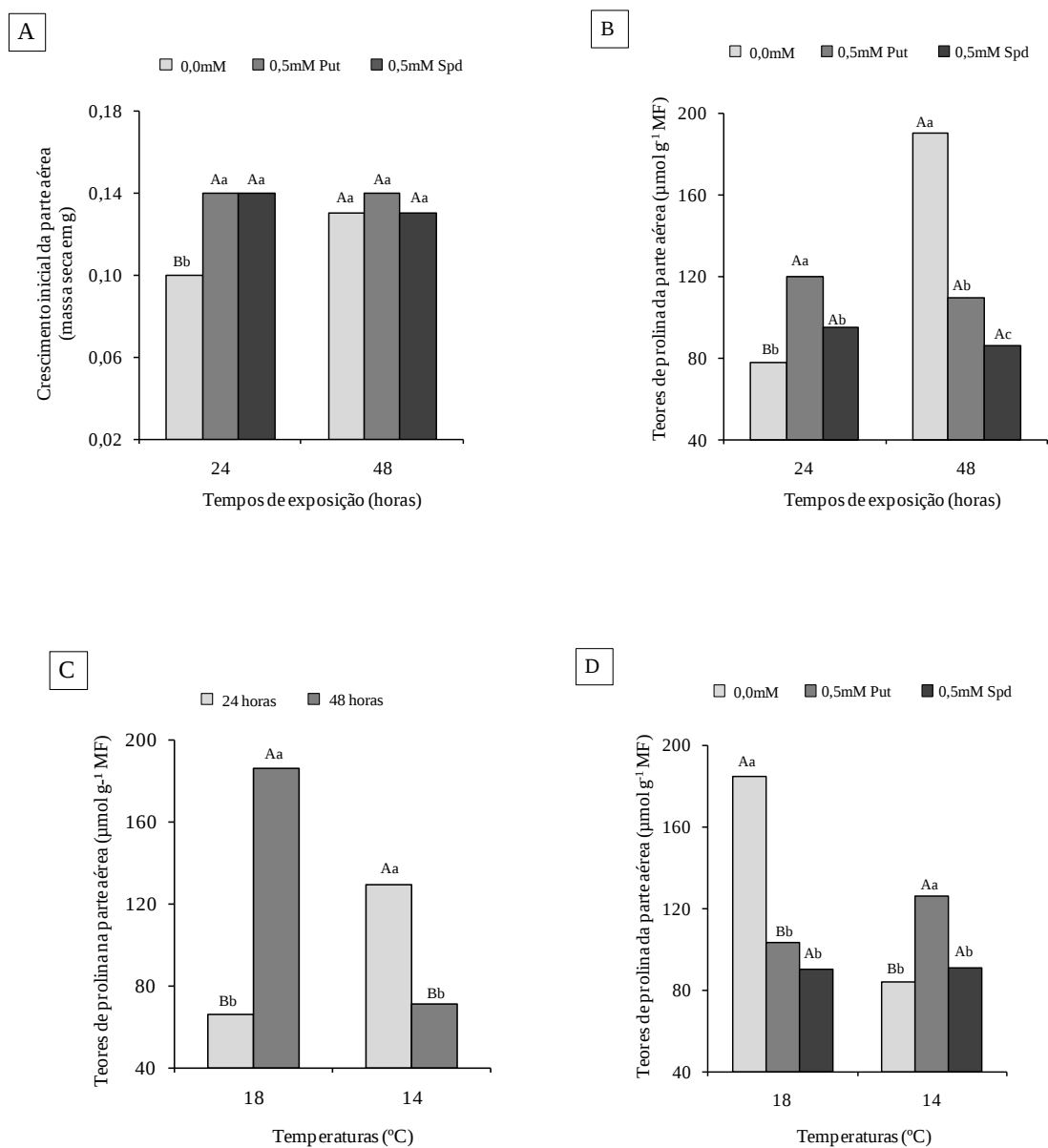


Figura 5. Poliaminas exógenas na parte aérea de plântulas de guandú, cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A) e prolina (B, C e D). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

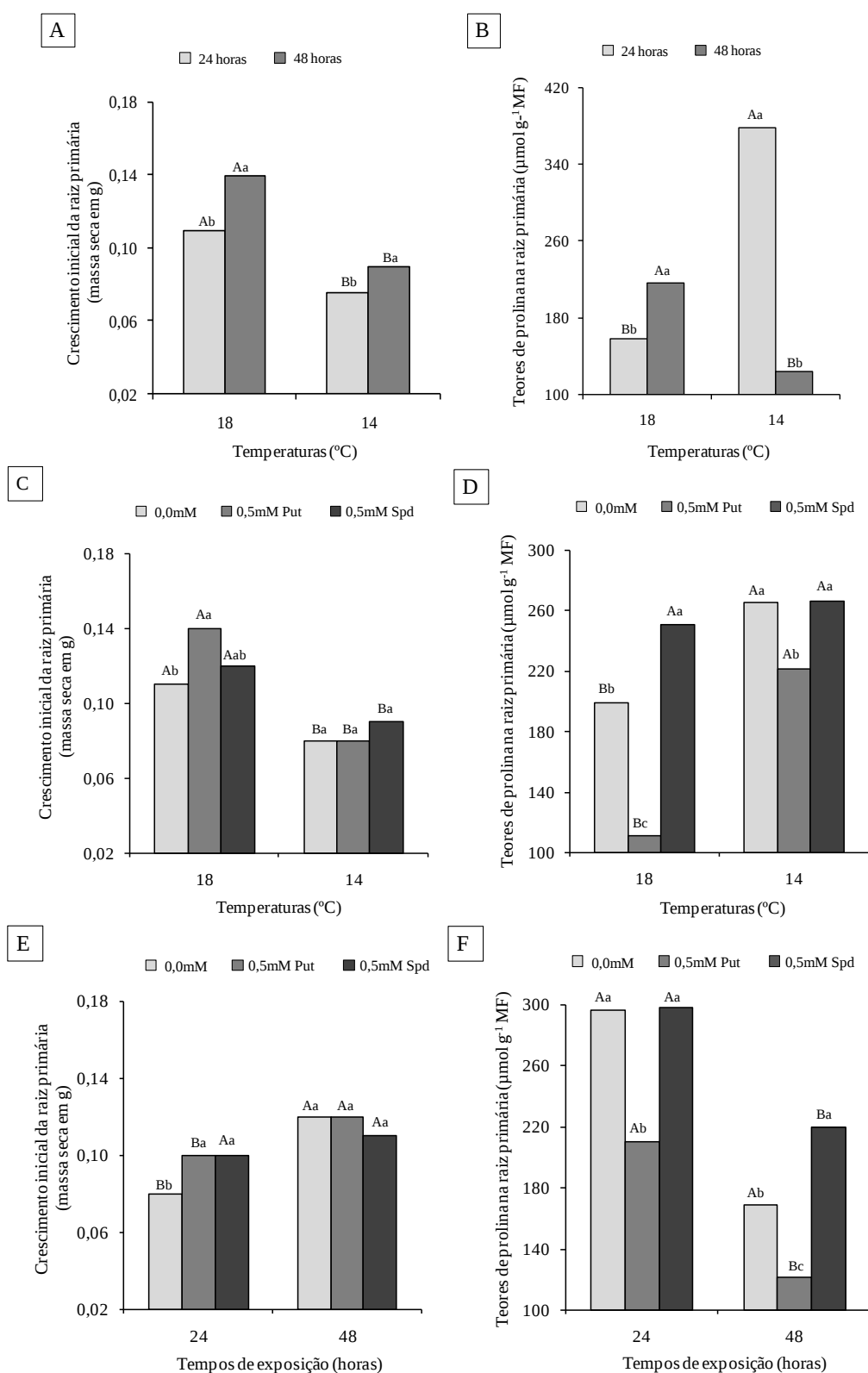


Figura 6. Poliaminas exógenas e tempos de exposição na raiz primária de plântulas de guandú, cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A, C e E) e prolina (B, D e F). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

O maior crescimento das plântulas tratadas com poliaminas, conforme relatado por Shen et al. (2000), deve-se a natureza policatiônica destes compostos em pH fisiológico, pois assim, ligam-se fortemente às substâncias formadoras da membrana celular com bicamada de fosfolipídios, estabilizando estas estruturas sob condições de estresse e promovendo o desenvolvimento das plântulas. A aplicação destes compostos pode proteger o organismo vegetal contra as injúrias causadas pelo resfriamento dos tecidos, pois as poliaminas têm a capacidade de amenizar processos como o vazamento de eletrólitos, aumento do conteúdo de MDA e queda da respiração, e ainda, podem aumentar a tolerância das plantas ao frio, prevenindo injúrias futuras (GILL & TUTEJA, 2010), como encontrado em pepino (ZHANG et al., 2009) e em grão-de-bico (NAYYAR, 2005).

Os resultados obtidos neste trabalho mostram o efeito atenuante do estresse das poliaminas ao minimizar as injúrias causadas pelo resfriamento, corroborando com os encontrados na literatura (HUMMEL et al., 2002; CUEVAS et al., 2008).

A redução dos teores de prolina observada deve-se, provavelmente, ao fato de as poliaminas e a prolina apresentarem os mesmos substratos para biossíntese, os aminoácidos glutamato e arginina. Assim, com o aumento da concentração das poliaminas no organismo vegetal e diante das temperaturas impostas, o substrato foi utilizado para a síntese *de novo* das poliaminas, enquanto a prolina deixou de ser sintetizada (BRITIÁN et al., 2012). Ainda, esta redução pode ser derivada da síntese de GABA pela planta. Este aminoácido apresenta os mesmos precursores da prolina e das poliaminas e em plantas superiores está envolvido no desenvolvimento vegetal, agindo como osmoregulador ou sinalizador das respostas fisiológicas aos estresses mediante regulação do pH celular (ROBERTS, 2004; HUSSAIN et al., 2011).

1.2.2. Temperaturas supraótimas

As temperaturas de aquecimento, tempos de exposição e poliaminas exógenas provocaram aumento significativo dos teores de prolina, em ambas as cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui (Tabela 5, Figuras 9A e 9B; 10A, 10B e 10C; 11A, 11B e 11C; 12B, 12C e 12D).

Observa-se que houve aumento dos teores de prolina nas plântulas da cv. BRS Mandarin submetidas ao aquecimento menos severo por menor tempo de exposição (24 horas) e em 40°C por maior tempo (Figuras 9A e 10A). Estes

resultados devem ser considerados aleatórios e inusitados, pois são incoerentes frente aos conhecimentos da fisiologia do crescimento vegetal. Os teores de prolina destas plântulas não foram incrementados pela aplicação das poliaminas, independente do tempo a que ficaram expostas às temperaturas supraótimas (Figura 9B e 10C), porém, nota-se significativa diferença no acúmulo deste osmólito nas raízes primárias entre os períodos de exposição (Figura 10C), bem como observado na temperatura de 36°C (Figura 10B).

As temperaturas supraótimas causaram decréscimo no crescimento das plântulas da cv. BRS Mandarin (Figuras 13B e 13C), bem como a exposição ao aquecimento por maior período de tempo (Figuras 13D e 13E). Ainda, a aplicação das poliaminas, Put e Spd, provocou aumento significativo no crescimento das plântulas desta cultivar (Figuras 14A e 14B).

Os resultados da cv. Caqui nos tempos de exposição às temperaturas supraótimas revelaram que, no maior período (48 horas), ambas as temperaturas provocaram acentuado aumento nos teores de prolina da parte aérea das plântulas de guandu (Figura 11A), enquanto que nas raízes primárias, a maior exposição provocou aumento dos teores de prolina na temperatura de 40°C (Figura 12B).

Na temperatura de aquecimento menos severa (36°C), a Spd, em relação a Put, aumentou significativamente os teores de prolina tanto na parte aérea quanto nas raízes primárias (Figura 11B e 12C, respectivamente). Ainda, na temperatura de 40°C, ambas as poliaminas causaram aumento do conteúdo de prolina na parte aérea (Figura 11B), embora nas raízes primárias este aumento tenha sido promovido com a aplicação da Put (Figura 12C). Observa-se que, na parte aérea e nas raízes primárias da cv. Caqui, novamente, apenas a Spd aumentou significativamente os teores de prolina na exposição de 48 horas às temperaturas de aquecimento (Figuras 11C e 12D, respectivamente). Na exposição de 24 horas às temperaturas supraótimas, a Spd também causou aumento da prolina nas raízes primárias (Figura 12D). As temperaturas supraótimas causaram decréscimo no crescimento das plântulas da cv. Caqui (Figuras 12A e 14C), bem como a exposição ao calor por maior período de tempo (Figuras 14D).

A utilização das poliaminas pode desencadear incremento dos teores de prolina, pois auxiliam na transdução do sinal de estresse osmótico, promovendo o acúmulo de prolina para proteger o organismo vegetal das injúrias causadas pelo déficit hídrico oriundo do aquecimento demasiado dos tecidos vegetais

Tabela 5. Análises de variância das temperaturas, tempos de exposição e poliaminas exógenas no acúmulo de prolina e no crescimento inicial de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Jaboticabal, SP. 2011- 2012.

Causa da Variação	G.L.	Resfriamento¹						Aquecimento¹									
		BRS Mandarin			Caqui			BRS Mandarin			Caqui						
		Cresc.Inicial²		Prolina³	Cresc. Inicial		Prolina	Cresc. Inicial		Prolina	Cresc. Inicial		Prolina				
		PA⁴	RP⁵	PA	RP	PA	RP	PA	RP	PA	RP	PA	RP				
Temperaturas (T)		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**			
Tempo Exp. ⁹(TE)		*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**			
Poliaminas⁷ (P)		**	*	**	**	ns	ns	**	**	**	ns	ns	**	**			
TxTE		ns	*	**	**	**	**	**	**	ns	ns	ns	*	**			
TxP		ns	*	**	**	*	ns	**	**	ns	ns	ns	**	**			
TExp		*	*	**	**	ns	ns	**	**	ns	ns	ns	**	**			
TxTexP		**	ns	**	**	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	**	**			
Fatorial		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**			
Adic. vs. Fatorial		**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	ns	**	**			
Entre Fat. Adic.		*	*	ns	**	*	**	**	**	ns	*	ns	**	**			
C.V.(%)		10,07	12,05	16,95	10,66	13,12	18,23	13,81	10,93	7,48	9,71	18,20	10,61	14,68	38,04	11,31	11,30

¹ Temperaturas subótimas de 18°C e 14°C e supraótimas de 36°C e 40°C; ² Crescimento inicial em gramas de massa seca (MS em g); ³ Prolina em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa fresca (MF); ⁴ PA: parte aérea; ⁵ RP: raiz primária; ⁶ Tempos de exposição: 24 e 48 horas; ⁷ Poliaminas exógenas: 0,0mM; 0,5mM de Put (putrescina) e 0,5mM de Spd (espermidina); ns: não significativo ($P < 0,05$); *: significativo ($P < 0,05$); **: significativo ($P < 0,01$); C.V. (%): coeficiente de variação.

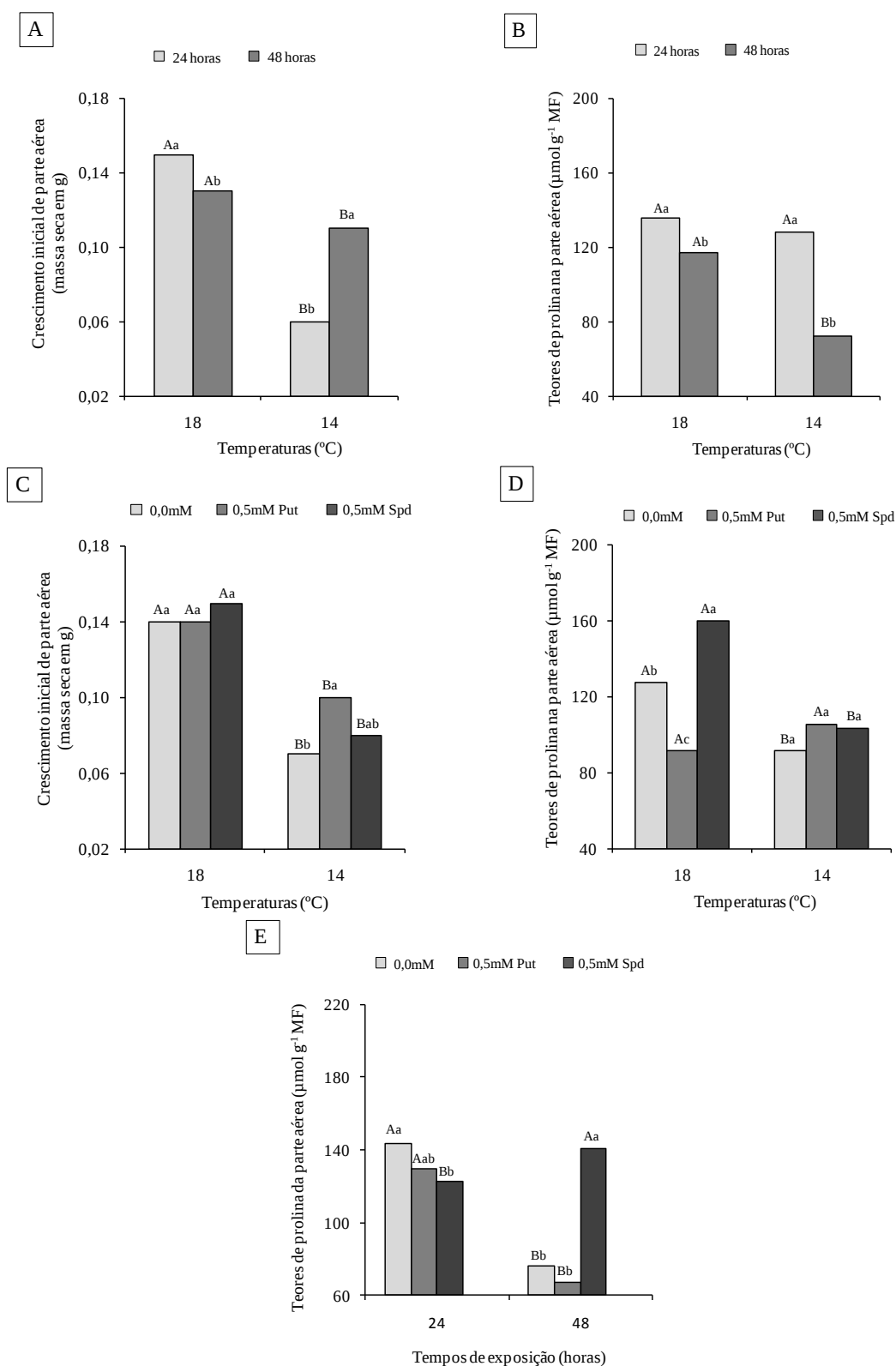


Figura 7. Poliaminas exógenas e tempos de exposição na parte aérea de plântulas de guandú, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A e C) e teores de prolina (B, D e E). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

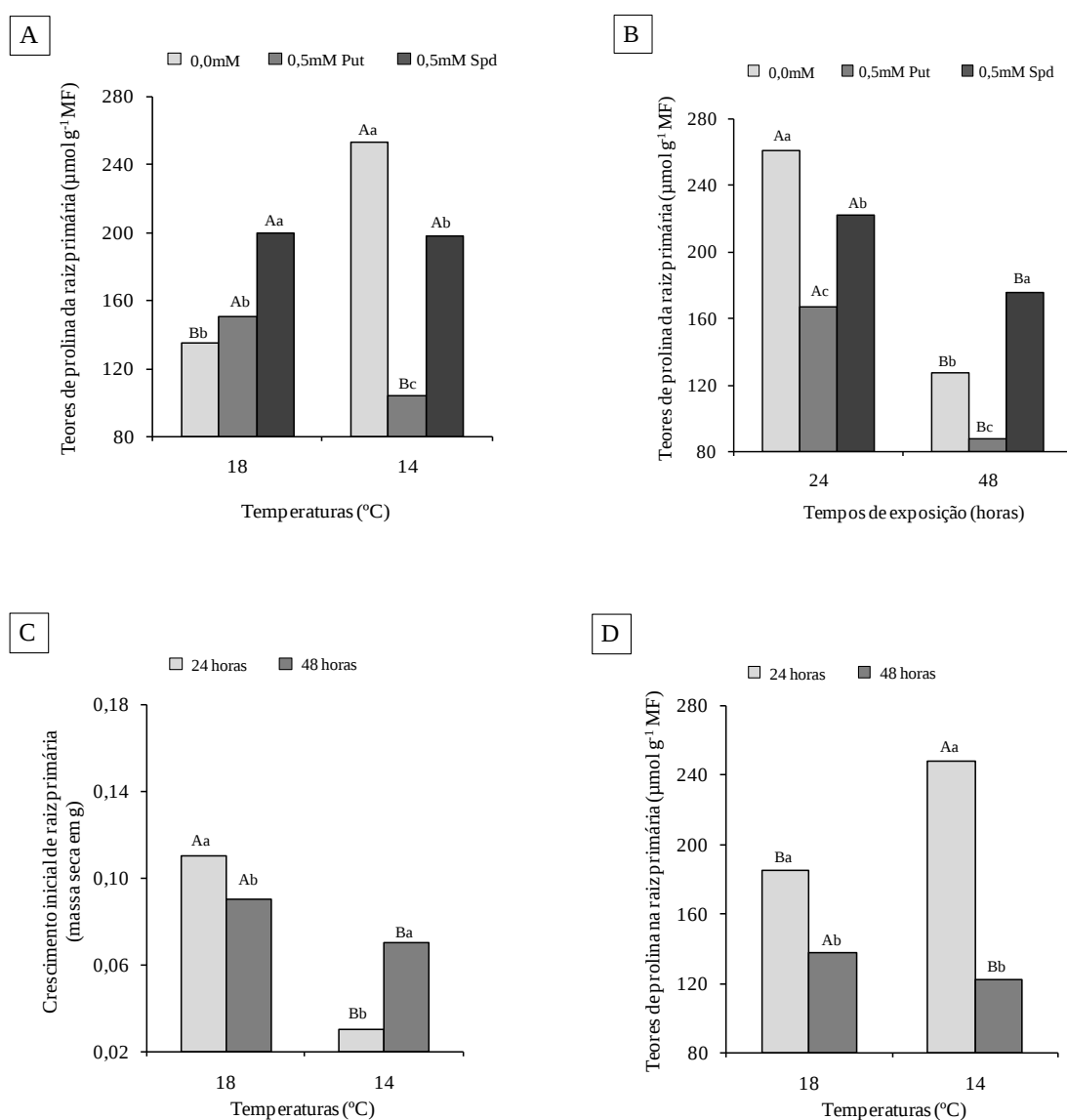


Figura 8. Poliaminas exógenas e tempos de exposição na raiz primária de plântulas de guandu, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A) e teores de prolina (A, B e D). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

(KUZNETSOV & SHEVYKOVA, 2007), resultados estes que corroboram com o de Ahmed & Hasan (2011) em plântulas de trigo submetidas a condições de aquecimento.

As poliaminas têm sido consideradas, por muitos autores, substâncias atenuantes dos efeitos degenerativos dos estresses, e assim, tendo a prolina papel semelhante, pode se considerar que as plantas tratadas com poliaminas apresentam desenvolvimento satisfatório frente às condições estressantes, pois, além de funcionarem como protetores de membranas e prevenirem a agregação e/ou desagregação inapropriada de proteínas, possibilitam aumento da concentração endógena destas e o incremento da prolina, como relatado por Amri & Shahsavar (2010) em plântulas de citrus.

Além disso, o estresse por temperaturas supraótimas desencadeia o estresse oxidativo como resultado do desbalanço entre as reações fotoquímicas e bioquímicas, e assim, o metabolismo vegetal é estimulado a acumular prolina na tentativa de controlar a ação das espécies reativas ao oxigênio (EROS), responsáveis por grande parte da morte celular durante as condições de estresse (WAHID et al., 2007; SOLIMAN et al., 2012).

2. Ausência de poliaminas exógenas em plântulas sob estresse térmico

É interessante salientar que, houve acúmulo de prolina na parte aérea e na raiz primária na ausência das poliaminas (0,0 mM), tanto nas temperaturas subótimas de (Figura 5D e 8A) quanto nas supraótimas (Figura 10B e 11B), além da temperatura ótima (25°C) na raiz primária da cv. Mandarin (Figura 15D). Ainda, considerando somente o tempo de exposição, houve também, acúmulo de prolina nas plântulas oriundas de sementes não tratadas com poliaminas (Figura 5B, 6F, 8B, 9B, 10C e 11C).

Provavelmente, deve ter ocorrido efeito tóxico das poliaminas (KUZNETSOV et al., 2006; ÇAKMAK & ATICI, 2009; MULANGI et al., 2012) nas sementes expostas a 18°C (Figura 5D), nas partes aéreas a 36°C (11B) e nas raízes primárias à 14°C e 40°C (Figura 8A e 10B). Ainda, as poliaminas sob estas temperaturas podem ter sinalizado o aumento de outro osmoprotetor, seja enzimático e/ou soluto compatível, que não a prolina, ou atuado como osmoprotetores (ALCÁZAR et al., 2011; HUSSAIN et al., 2011; CVIKROVÁ et al., 2012), uma vez que apresentam

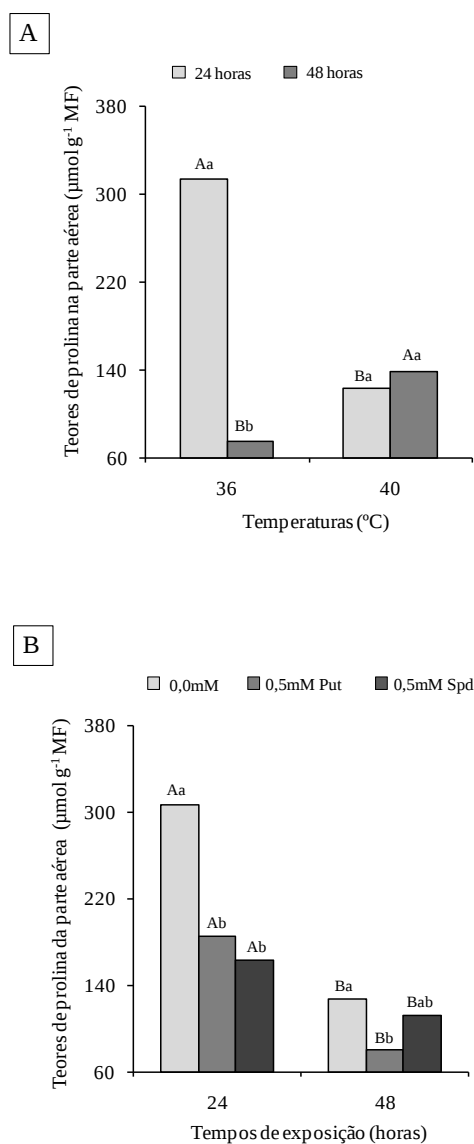


Figura 9. Poliaminas exógenas e tempos de exposição na parte aérea de plântulas de guandú, cv. Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A) e teores de prolina (B). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

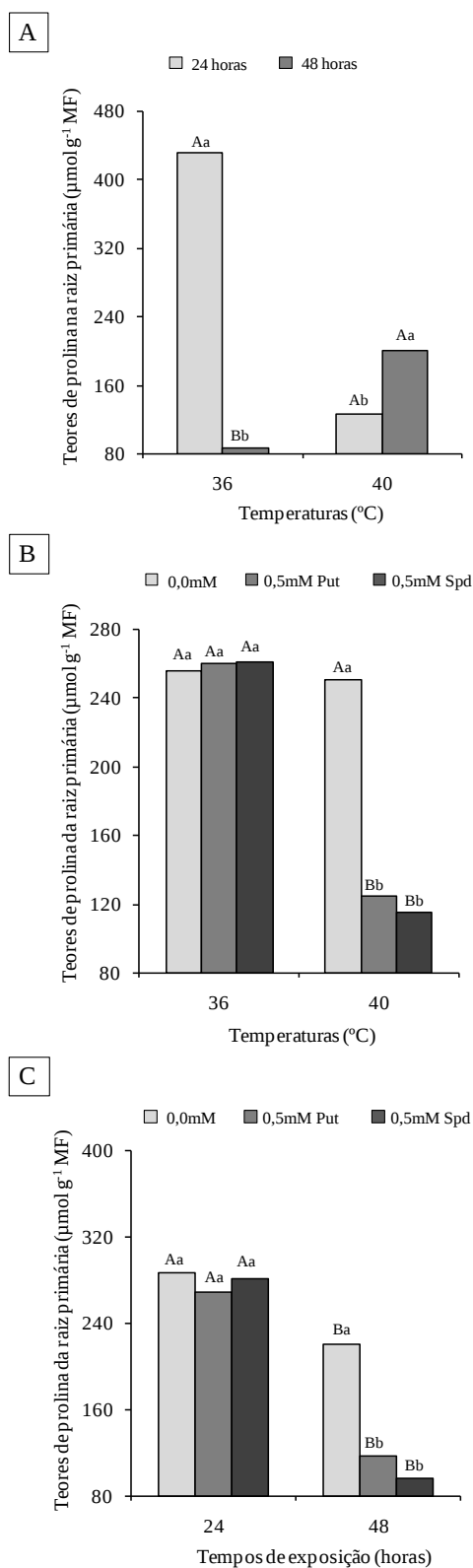


Figura 10. Poliaminas exógenas e tempos de exposição na raiz primária de plântulas de guandú, cv. BRS Mandarin, no 10º dia após a semeadura. Teores de prolina (A, B e C). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

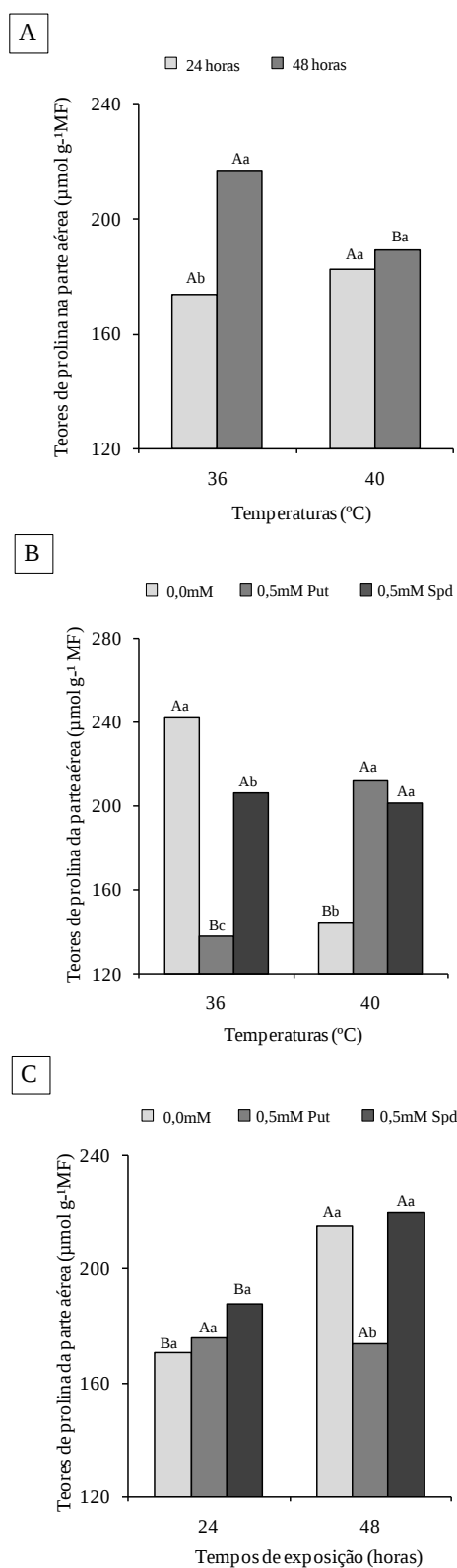


Figura 11. Poliaminas exógenas e tempos de exposição na parte aérea de plântulas de guandu, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Teores de prolina (A, B e C). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

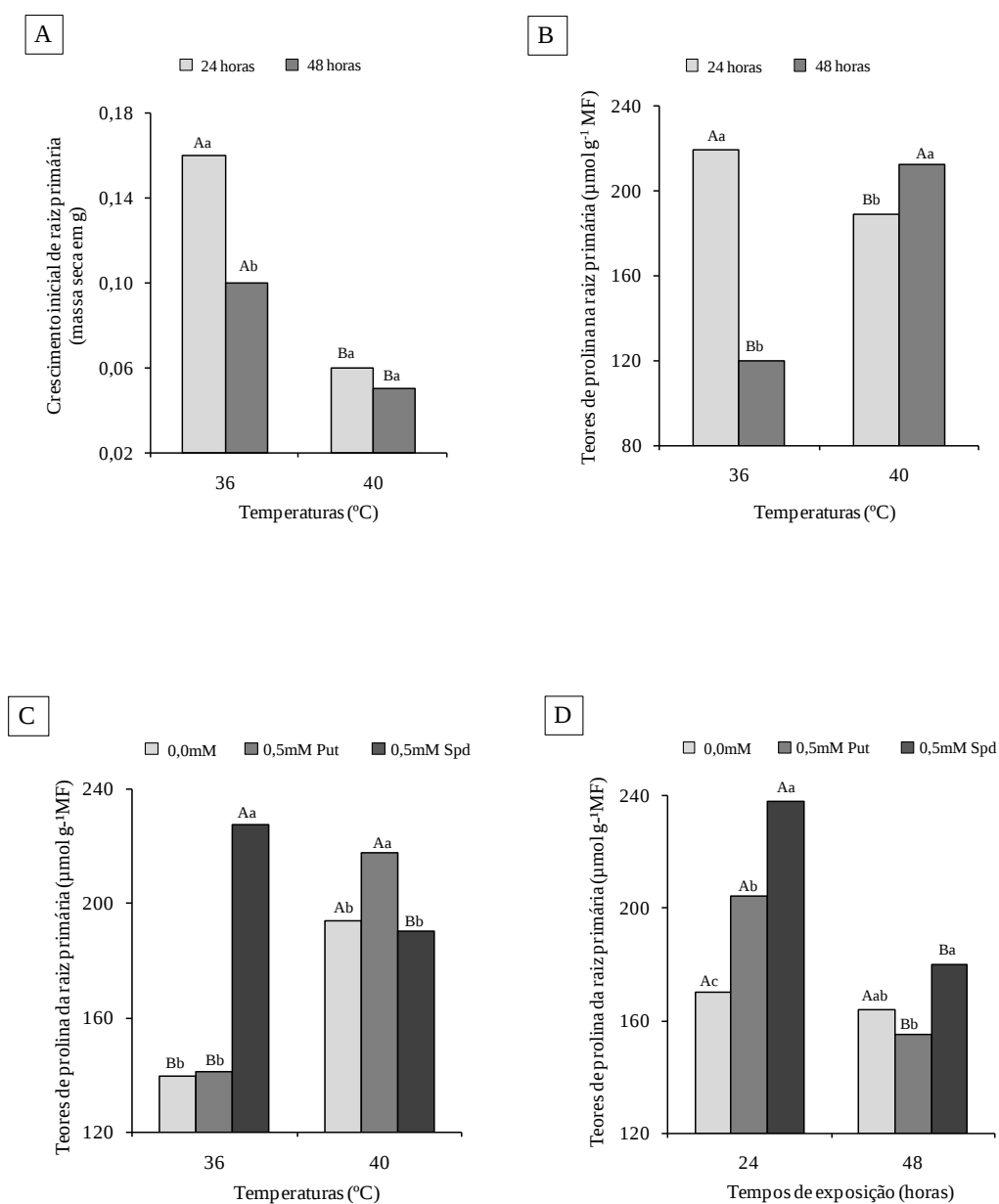


Figura 12. Poliaminas exógenas e tempos de exposição na raiz primária de plântulas de guandú, cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura. Crescimento inicial (A) e teores de prolina (B, C e D). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre tempos de exposição ou temperatura) e minúscula (dentro de cada tempo de exposição ou temperatura), não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

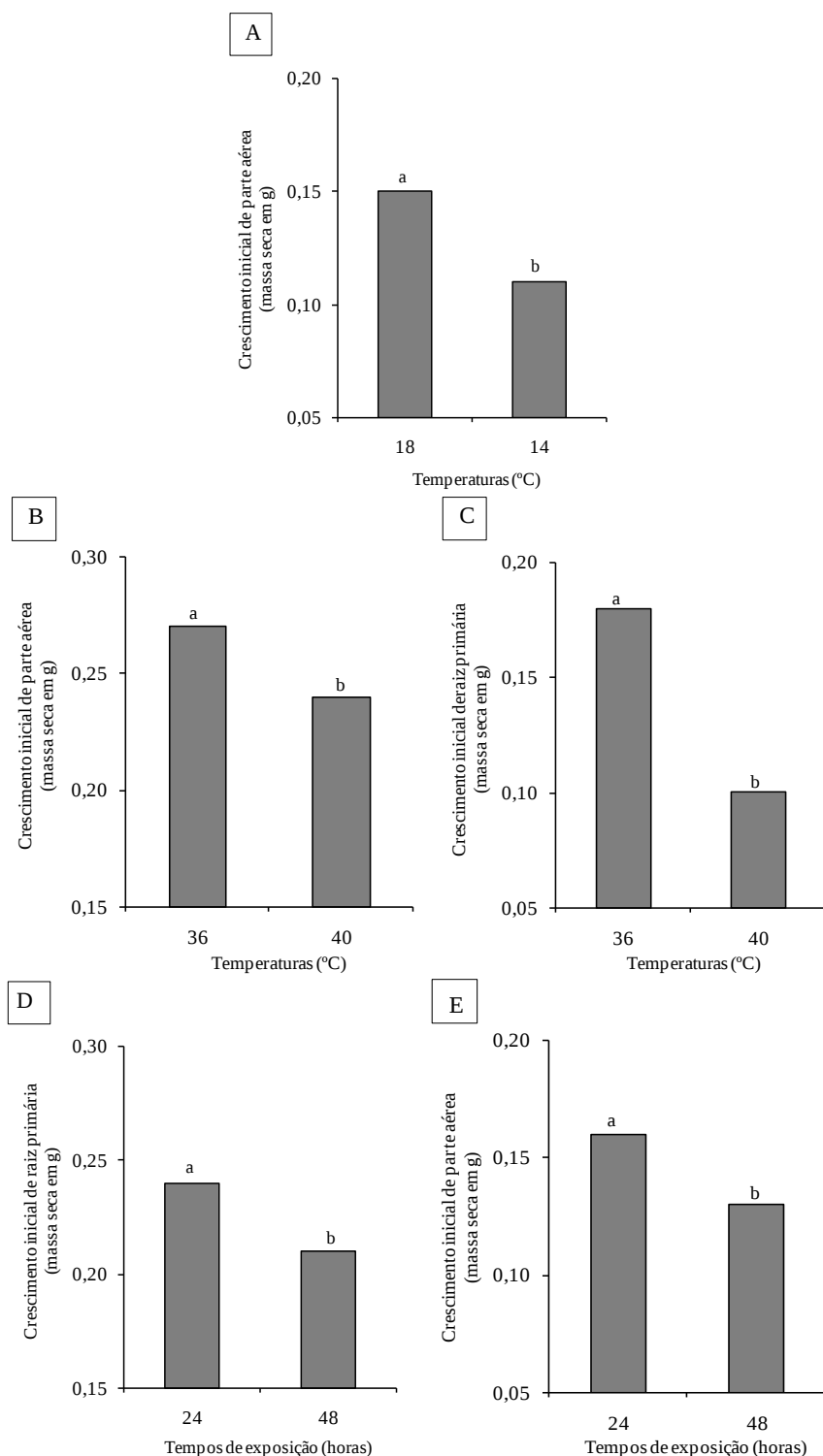


Figura 13. Crescimento inicial de plântulas de guandú, cv. BRS Mandarin, com poliaminas exógenas sob efeito de temperaturas subótimas e supraótimas, em dois períodos de exposição, no 10º dia após a semeadura. Temperaturas subótimas na parte aérea (A); temperaturas supraótimas na parte aérea (B) e na raiz primária (C), tempos de exposição na parte aérea (D) e na raiz primária (E). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula entre tempos de exposição ou temperatura, e minúscula dentro de cada tempo de exposição ou temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

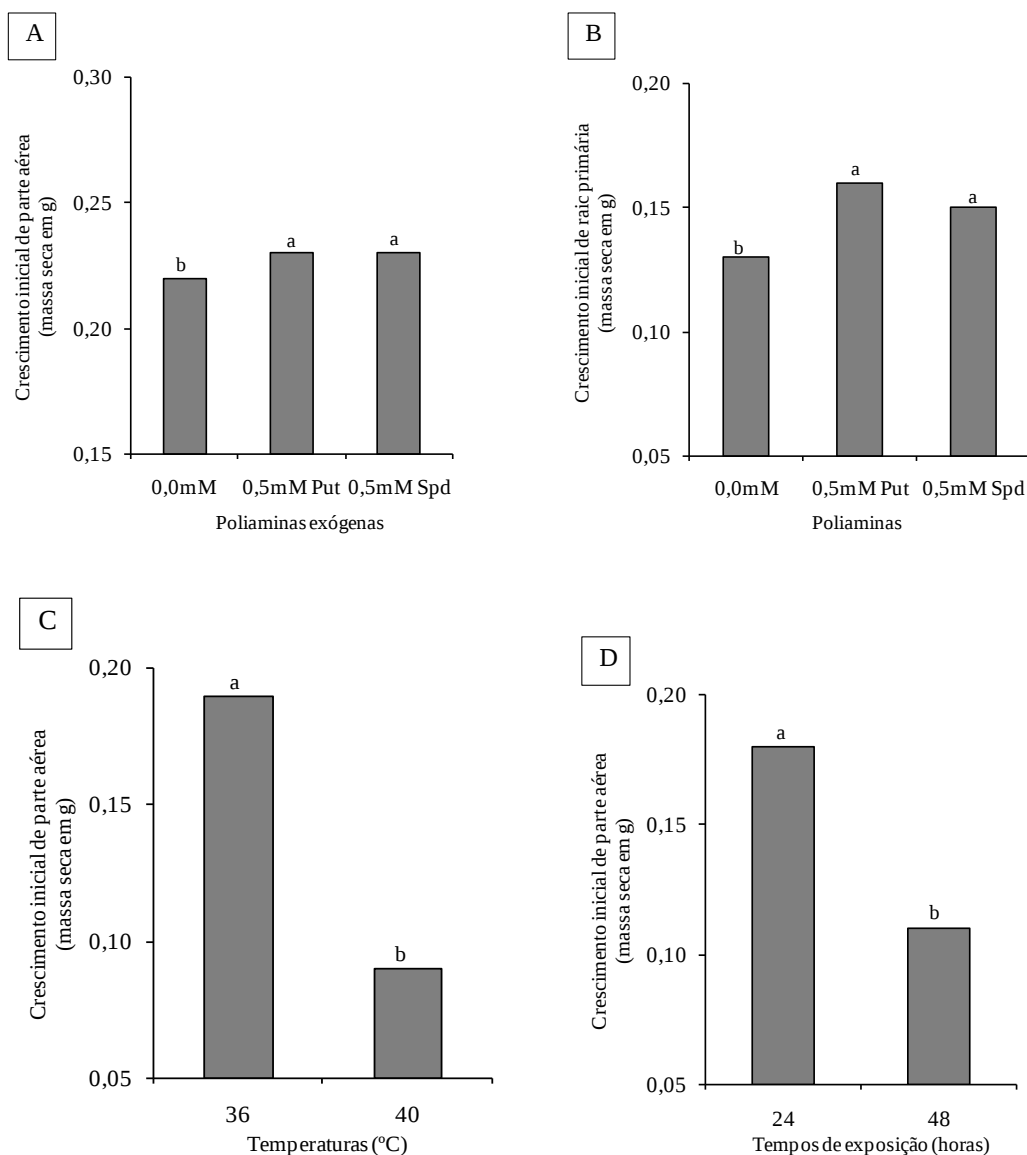


Figura 14. Crescimento inicial de plântulas de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, com poliaminas exógenas sob efeito de temperaturas supraótimas (36°C e 40°C), em dois períodos de exposição (24 e 48 horas), no 10º dia após a semeadura. Guandu cv. BRS Mandarin: Poliaminas exógenas na parte aérea (A) e na raiz primária (B). Guandu cv. Caqui: temperaturas supraótimas na parte aérea (C) e tempos de exposição na parte aérea (D). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula entre tempos de exposição ou temperatura, e minúscula dentro de cada tempo de exposição ou temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

comprovado efeito protetor em plantas sob estresse térmico (CVIKROVÁ et al., 2012).

3. Efeito das poliaminas exógenas em plântulas sob temperatura não estressante

Na ausência de estresse térmico, as poliaminas não causaram diferença significativa nos teores de prolina (Figura 15C) e crescimento das partes aéreas (Figura 15A) das plântulas da cv. BRS Mandarin. Nas raízes primárias, ambas as poliaminas reduziram os teores de prolina (Figura 15D), embora a Spd tenha melhorado o crescimento das raízes destas plântulas (Figura 15B).

Na cv. Caqui, tanto a Put quanto a Spd incrementaram os teores de prolina da parte aérea (Figura 16C), enquanto que nas raízes apenas a Spd possibilitou maior acúmulo deste aminoácido (Figura 16D). Os resultados do crescimento destas plântulas evidenciam a redução da massa seca em gramas, oriunda da aplicação da Put (Figuras 16A e 16B).

As temperaturas subótimas e supraótimas alteram todo o metabolismo vegetal, comprometendo desde a estabilidade da membrana celular até a cinética das enzimas presentes no meio e, portanto, decorrente destas alterações pode haver complicações em eventos determinantes para o sucesso da cultura, como o processo germinativo. Assim, estudos futuros podem abordar, para a melhor compreensão da germinação durante o estresse térmico, a velocidade de germinação das sementes, pois muitas vezes o estresse térmico pode provocar alterações no decorrer do processo germinativo e não na quantidade de sementes germinadas. Ainda, devido às implicações decorrentes do estresse oxidativo, torna-se muito pertinente o estudo de substâncias antioxidantes como o óxido nítrico e as enzimas antioxidativas catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase. Pelo fato, da prolina não ter mostrado função osmoprotetora diante do estresse térmico, o estudo de outros osmoprotetores, **e.g.** glicina betaína, trealose, sacarose e demais, torna-se importante, a fim de verificar qual substância é utilizada pelo guandu nessas condições, bem como quantificar as poliaminas endógenas, buscando compreender que efeitos ocorrem no metabolismo destas substâncias com poliaminas exógenas.

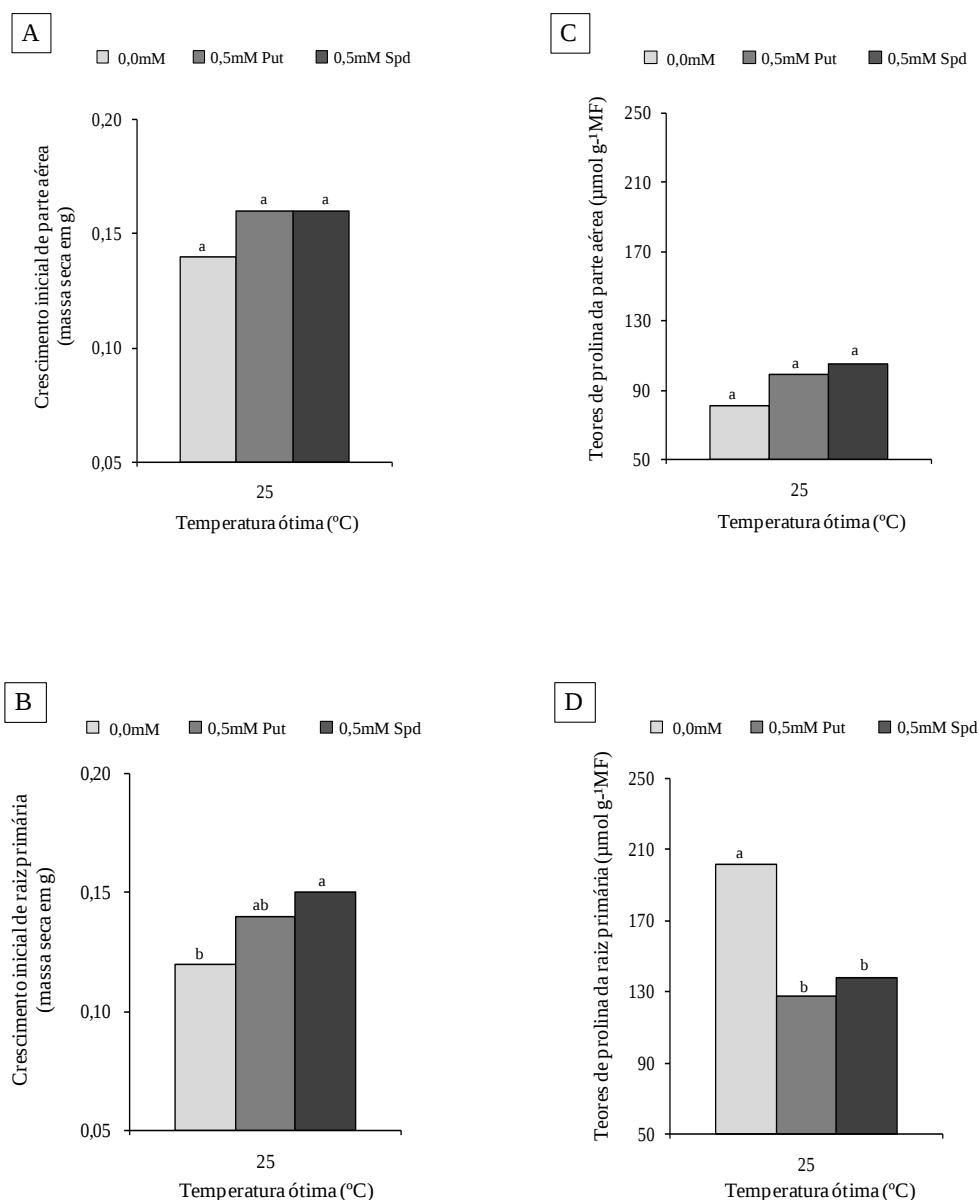


Figura 15. Poliaminas exógenas no acúmulo de prolina e no crescimento inicial de plântulas de guandú, cv. BRS Mandarin, sob temperatura ótima, no 10º dia após a semeadura. Temperatura ótima: tratamentos adicionais de 25°C + 0,0mM; 25°C + 0,5mM Put e 25°C + 0,5mM Spd; Massa seca da parte aérea (A) e da raiz primária (B); prolina na parte aérea (C) e na raiz primária (D). *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

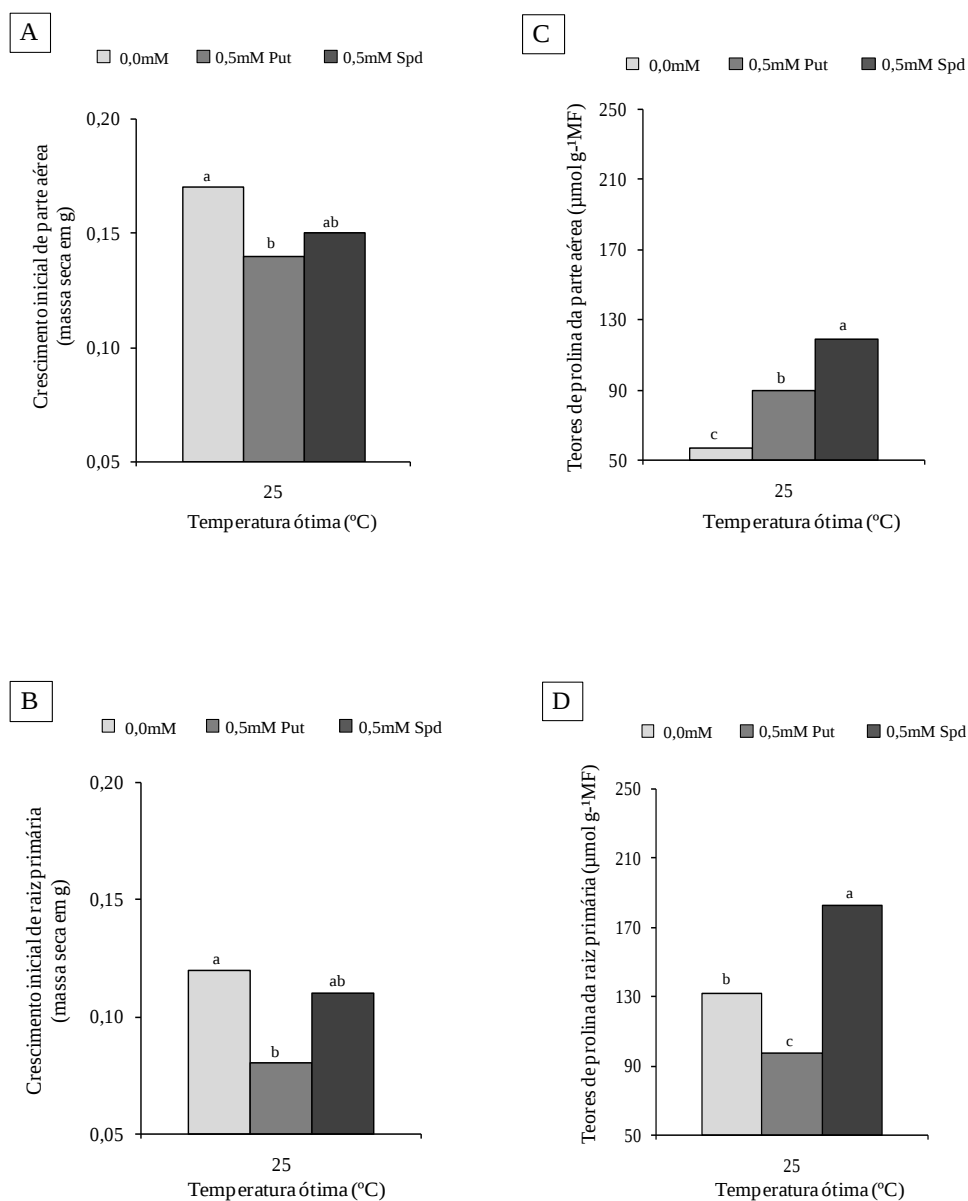


Figura 16. Poliaminas exógenas no acúmulo de prolina e no crescimento inicial de plântulas de guandu, cv. Caqui, sob temperatura ótima, no 10º dia após a semeadura. Temperatura ótima: tratamentos adicionais de 25°C + 0,0mM; 25°C + 0,5mM Put e 25°C + 0,5mM Spd; Massa seca da parte aérea (A) e da raiz primária (B); prolina na parte aérea (C) e na raiz primária (D). *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

V. CONCLUSÕES

- ✓ As poliaminas exógenas não atenuam os efeitos do resfriamento na germinação de sementes de ambas as cultivares de guandu.
- ✓ Os efeitos negativos do estresse térmico por aquecimento na germinação das sementes são atenuados pela Put e Spd exógenas.
- ✓ Nas plântulas, as poliaminas exógenas atenuam os efeitos das temperaturas subótimas e supraótimas por induzir o acúmulo de prolina.
- ✓ O aminoácido prolina pode ser considerado indicador bioquímico-fisiológico em plântulas de guandu sob temperaturas adversas.

REFERÊNCIAS

- ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSEKHAM R. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 150-157, 2007.
- AHMAD, M. S. A.; ALI, Q.; ASHRAF, M.; HAIDER, M. Z.; ABBAS, Q. Involvement of polyamines, abscisic acid and anti-oxidative enzymes in adaptation of Blue Panicgrass (*Panicum antidotale* Retz.) to saline environments. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 66, n. 3, p. 409-417, 2009.
- AHMED, J. U.; HASAN, M. A. Evaluation of seedling proline content of wheat genotypes in relation to heat tolerance. **Bangladesh Journal of Botany**, Bangladesh, v. 40, n. 1, p. 17-22, 2011.
- ALCÁZAR, R.; MARCO, F.; CUEVAS, J.; PATRON, M.; FERRANDO, A.; CARRASCO, P.; TIBURCIO, A. F.; ALTABELLA, T. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 28, n. 23, p. 1867-1876, 2006.
- ALCÁZAR, R.; CUEVAS, J. C.; PLANAS, J.; ZARZA, X.; BORTOLOTTI, C.; CARRASCO, P.; SALINAS, J.; TIBURCIO, A. F.; ALTABELLA, T. Integration of polyamines in the cold acclimation response. **Plant Science**, Limerick, n. 180, p. 31-38, 2011.
- ALMESELMANI, M.; DESHMUKH, P. S.; CHINNUSAMY, V. Effects of prolonged high temperature stress on respiration, photosynthesis and gene expression in wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties differing in their thermotolerance. **Plant Stress**, v. 6, n. 1, p. 25-32, 2012.
- ALVARADO, V.; BRADFORD, K. J. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 8, p. 1061-1069, 2002.

- AMRI, E.; SHAHSAVAR, A. R. Response of lime seedlings (*Citrus aurantifolia* L.) to exogenous spermidine treatments under drought stress. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, Jordan, v. 4, n. 9, p. 4483-4489, 2010.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, Limerick, n. 166, p. 3-16, 2004.
- ASHRAF, M.; ATHAR, H. R.; HARRIS, P. J. C.; KWON, T. R. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 97, p. 45-110, 2008.
- ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; AL-QURAINY, F.; FOOLAD, M. R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 111, p. 249-296, 2011.
- AZEVEDO, R. L.; RIBEIRO, G. T.; AZEVEDO, C. L. L. Feijão guandu: Uma planta multiuso. **Revista da Fapese**, Aracaju, v. 3, n. 2, p. 81-86, 2007.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, The Hague, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.
- BECK, E. H.; HEIM, R.; HANSEN, J. Plant resistance to cold stress: Mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 29, v. 4, p. 449-459, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Departamento Nacional de Produção Vegetal, 2009. 398 p.
- BRITIÁN, M.; ZARZA, X.; ALTABELLA, T.; TIBURCIO, A. F.; ALCÁZAR, R. Polyamines under abiotic stress: metabolic crossroads and hormonal crosstalks in plants. **Metabolites**, Switzerland, v. 2, p. 516-528, 2012.
- BRITO, L. K. F. L.; SILVEIRA, J. A. G.; LIMA, L. L. F.; TIMÓTEO, A. R. S.; CHAGAS, R. M.; MACEDO, C. E. C. Alterações no perfil de frações nitrogenadas em calos de cana-de-açúcar induzidas por deficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 683-690, 2008.

- ÇAKMAK, T.; ATICI, Ö. Effects of putrescine and low temperature on the apoplastic antioxidant enzymes in the leaves of two wheat cultivars. **Plant, Soil and Environment**, Czech Republic, v. 55, n. 8, p. 320-326, 2009.
- CAO, H. X.; SUN, C. X.; SHAO, H. B.; LEI, X. T. Effects of low temperature and drought in physiological and growth changes in oil palm seedlings. **African Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 10, n. 14, p. 2630-2637, 2011.
- CAVUSOGLU, K.; KABAR, K. Comparative effects of some plant growth regulators on the germination of barley and radish seeds under high temperature stress. **EurAsian Journal of BioSciences**, Turkey, v. 1, p. 1-10, 2007.
- CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. **Pakistan Journal of Botany**, Pakistan, n. 41, p. 87-98, 2009.
- CHENG, L.; SUN, R. R.; WANG, F. Y.; PENG, Z.; KONG, F. L.; WU, J.; CAO, J. S.; LU, G. Spermidine affects the transcriptome responses to high temperature stress in ripening tomato fruit. **Journal of Zhejiang University Science B (Biomedicine & Biotechnology)**, v. 13, n. 4, 283–297, 2012.
- CHINNUSAMY, V.; ZHU, J. K.; SUNKAR, R. Gene regulation during cold stress acclimation in plants. In: Sunkar, R. (ed.). **Plant Stress Tolerance, Methods in Molecular Biology**. Springer Science+Business Media. Cap. 3, p. 39-55, 2010.
- COLLI, S. Outros Reguladores: Brassinosteróides, Poliaminas, Ácido Jasmônico e Salicílico. In: KERBAUY, G. B. (ed). **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: Guanabara Koogan, cap. 14, p. 296-302, 2008.
- COSTA, N. L.; TOWNSEND, C. R.; MAGALHÃES, J. A.; PEREIRA, R. G. A. Formação e manejo de pastagens de guandu em Rondônia. In: **Recomendações técnicas**, Embrapa, Porto Velho, n, 23, 2001, 2p.
- 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^a Impressão. 2001. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, cap.17, p. 911-915.

CUEVAS, J. C.; LOPEZ-COBOLLO, R.; ALCÁZAR, R.; ZARZA, X.; KONCZ, C.; ALTABELLA, T.; SALINAS, J.; TIBURCIO, A.F.; FERRANDO, A. Putrescine is involved in Arabidopsis freezing tolerance and cold acclimation by regulating abscisic acid levels in response to low temperature. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 148, p. 1094-1105, 2008.

CUSTÓDIO, C. C.; VIVAN, M. R.; NUNES, R. C. A.; AGOSTINI, E. A. T. Tolerância cruzada induzida por choque térmico na Germinação de semente de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p.131-143, 2009.

CVIKROVÁ, M.; GEMPERLOVÁ, L.; DOBRÁ, J.; MARTINCOVÁ, O.; PRÁŠIL, I. T.; GUBIS, J.; VANKOVÁ, R. Effect of heat stress on polyamine metabolism in proline-over-producing tobacco plants. **Plant Science**, Limerick, v. 182, p. 49-58, 2012.

DOBRA, J.; MOTYKA, V.; DOBREV, P.; MALBECK, J.; PRASIL, I. T.; HASEL, D.; GAUDINOVA, A.; HAVLOVA, M.; GUBIS, J.; VANKOVA, R. Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 167, p. 1360-1370, 2010.

EGLI, D. B.; TEKRONY, D. M.; HEITHOLT, J. J.; RUPE, J. Air temperature during seed filling and soybean seed germination and vigor. **Crop Science**, Madinson, v. 45, p.1329-1335, 2005.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; LEE, D. J. Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. **Acta Physiologiae Plantarum**, Cracóvia e Varsóvia, v. 31, n. 5, p. 937-945, 2009.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v. 5, n.1, p. 26-33, 2010.

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

GUBIS, J.; VANKOVÁ, V.; DRAGUNOVÁ, M.; HUDCOVICOVÁ, M.; LICHTNEROVÁ, H.; DOKUPIL, T.; JUREKOVÁ, Z. Transformed tobacco plants with increased

tolerance to drought. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 73, n. 4, p. 505-511, 2007.

GÜR, A.; DEMIREL, U.; ÖZDEN, M.; KAHRAMAN, A.; ÇOPUR, O. Diurnal gradual heat stress affects antioxidant enzymes, proline accumulation and some physiological components in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **African Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 9, n. 7, p. 1008-1015, 2010.

HALL, A. E. Breeding for heat tolerance. **Plant Breeding Reviews**, Westport, v. 10, p. 129-168, 1992.

HEINO, P.; PALVA, E. T. Signal transduction in plant cold acclimation. In: HIRT, H.; SHINOZAKI, K. (eds.) **Plant responses to abiotic stress**, Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, v. 4, cap. 6, p.151-185, 2003.

HUMMEL, I.; COUÉE, I.; EL AMRANI, A.; MARTIN-TANGUY, J.; HENNION, F. Involvement of polyamines in root development at low temperature in the subantarctic cruciferous species *Pringlea antiscorbutica*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 373, p. 1463-1473, 2002.

HUSSAIN, S. S.; ALI, M.; AHMAD, M.; SIDDIQUE, K. H. M. Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. **Biotechnology Advances**, New York, n. 29, p. 300-311, 2011.

IBA, K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: Approaches of gene engineering for temperature tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 53, p. 225-245, 2002.

IGARASHI, K.; KASHIWAGI, K. Modulation of cellular function by polyamines. Review. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, Exeter, v. 42, n. 1, p. 39-51, 2010.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 150-157, 2007.

JUNIOR, S. G. S. M.; SOUTO, J. S.; SANTOS, R. V.; SOUTO, P. C. Produção de fitomassa do feijão guandu em diferentes arranjos populacionais. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2009.

KASUKABE, Y.; HE, L.; NADA, K.; MISAWA, S.; IHARA, I.; TACHIBANA, S. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stress and upregulates the expression of various stress regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiology**, Oxford, n. 45, p. 712-22, 2004.

KHAN, H. A.; ZIAF, K.; AMJAD, M.; IGBAL, Q. Exogenous application of polyamines improves germination and early seedling growth of hot pepper. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Santiago de Chile, v. 72, n. 3, 2012.

KIM, H. S.; KIM, H. S.; HAHN, K. W.; JOUNG, H.; JEON, J. H. Reactive oxygen species: regulation of plant growth and development. **Advances in Botanical Research**, v. 52, p. 25-46, 2009.

KRASENSKY, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, p.1-16, 2012.

KRAWIARZ, K.; SZCZOTKA, Z. Influence of temperature and abscisic and gibberellic acids on polyamine biosynthesis in European Beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds during dormancy breaking. **Acta Biologica Cracoviensia**, Cracóvia, v. 50, n. 1, p. 73–78, 2008.

KUBIŚ, J. Exogenous spermidine differentially alters activities of some scavenging system enzymes, H₂O₂ and superoxide radical levels in water-stressed cucumber leaves. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 165, n. 4, p. 397-406, 2008.

KUMAR, B.; VERMA, S. K.; SINGH, H. P. Effect os temperature on seed germination parameters in Kalmegh (*Andrographis paniculata* Wall. ex Nees.). **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 1241-1244, 2011.

KUZNETSOV, V. V.; RADYUKINA, N. L.; SHEVYAKOVA, N. I. Polyamines and Stress: Biological Role, Metabolism, and Regulation. **Russian Journal of Plant Physiology**, New York, v. 53, n. 5, p. 583-604, 2006.

KUZNETSOV, V. V.; SHEVYAKOVA, N. I. Polyamines and stress tolerance of plants. **Plant Stress**, v. 1, n. 1, p. 50-71, 2007.

LABOURIAU, L. G. **Germinação das sementes**. Washington: Secretaria-Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

LARKINDALE, J.; HUANG, B. Changes of lipid composition and saturation level in leaves and roots for heat-stressed and heat-acclimated creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 51, p. 57-67, 2004.

LOPES, H. M.; MENEZES, B. R. S.; SILVA, E. R.; SILVA, A. L. M. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) e de cenoura (*Daucus carota* L.) osmocondicionadas em solução aerada de PEG 6000. **Revista Universidade Rural Série Ciências da Vida**. Seropédica, v. 30, n. 2, 2010.

MAGGIO, A.; MIYAZAKI, S.; VERONESE, P.; FUJITA, T.; IBEAS, J. I.; DAMSZ, B.; NARASIMHAN, M. L.; HASEGAWA, P. M.; JOLY, R. J.; BRESSAN, R. A. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? **The Plant Journal**, Heslington, v. 36, n. 6, p. 699-712, 2002.

MAJUMDER, A. L.; SENGUPTA, S.; GOSWANI, L. Osmolyte regulation in abiotic stress. In: PAREEK, A.; SOPORY, S. K.; BOHNERT, H. J.; GOVINDJEE (eds.). **Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation**. Springer, Dordrecht, cap. 16, p. 350-367, 2010.

MANIVANNAN, P.; JALEEL, A. C.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; LAKSHMANAN, G. M. A.; PANNEERSELVAM, R. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 141-149, 2007.

MATHEUS, M. T.; LOPES, J. C. Temperaturas cardinais para a germinação de sementes de *Erythrina variegata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 115-122, 2009.

MATILLA, A. J. Polyamines and seed germination. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 6, p. 81-93, 1996.

MATTOO, A.; MINOCHA, S. C.; MINOCHA, R.; HANDA, A. K. Polyamines and cellular metabolism in plants: transgenic approaches reveal different responses to diamine putrescine versus higher polyamines spermidine and spermine. **Amino Acids**, Wien, v. 38, p. 405-413, 2010.

MATYSIK J.; ALIA; BHALU, B.; MOHANTY, P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. **Current Science**, Bangalore, v. 82, n. 5, p. 525-532, 2002.

MENESES, C. H. S. G.; MORAIS, L. H. G.; LIMA, M. M. A.; VIDAL, M. S. Aspectos genéticos e moleculares de plantas submetidas ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 10, n. ½, p. 1039-1072, 2006.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; SOARES, R. C.; BALDIGA, R. F.; PESKE, F. B.; MORAES, D. M. Alterações fisiológicas em sementes de arroz expostas ao frio na fase de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 254-262, 2009.

MOLINARI, H. B. C. **Expressão estresse-induzida do gene P5CS em plantas transgênicas de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico**. 2006. 109f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MULANGI, V.; PHUNTUMART, V.; AOUIDA, M.; RAMOTAR, D.; MORRIS, P. Functional analysis of OsPUT1, a rice polyamine uptake transporter. **Planta**, Berlin, v. 235, p. 1-11, 2012.

NAGARAJAN, S.; NAGARAJAN, S. Abiotic tolerance and crop improvement. In: PAREEK, A.; SOPORY, S. K.; BOHNERT, H. J.; GOVINDJEE (eds.). **Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation**. Springer, Dordrecht, cap. 1, p.1-11, 2010.

NATERRA - Nacional de Sementes Comercial e Importadora Ltda. **Feijão guandu**. Disponível em <<http://www.naterra.com.br/produtos/produtos.asp?id=39>>. Acesso em: 25 janeiro 2012.

NAYYAR, H.; WALIA, D. P. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 46, n. 2, p. 275-279, 2003.

NAYYAR, H. Putrescine increases floral retention, pod set and seed yield in cold stressed chickpea. **Journal of Agronomy and Crop Science**, United Kingdom, v. 191, p. 340–345, 2005.

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

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância a seca em plantas: mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 23, p. 12-18, 2001.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 13, n. 1, p. 755-787, 2001.

PANDE, S.; SHARMA, M.; MANGLA, U. N.; GOSH, R.; SUNDARESAN, G. Phytophthora blight of Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]: An updating review of biology, pathogenicity and disease management. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p. 951-957, 2011.

PARVAIZ, A.; SATYAWATI, S. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review. **Plant, Soil and Environment**, v. 54, n. 3, p. 89-99, 2008.

RANAWAKE, A. L.; NAKAMURA, C. Cold tolerance of an inbred line population of rice (*Oryza sativa* L.) at different growth stages. **Tropical Agricultural Research & Extension**, Sri Lanka, n. 14, v. 2, p. 25-33, 2011.

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**, United States, v. 42, n. 4, p. 1259-1263, 2002.

RAVENEAU, M. P.; COSTE, F.; MOREAU-VALANCOGNE, P.; LEJEUNE-HÉNAUT, I.; DURR, C. Pea and bean germination and seedling responses to temperature and water potential. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 21, n. 3, p. 205-213, 2011.

REDMAN, R. S.; KIM, Y. O.; WOODWARD, C. J. D. A.; GREER, C.; ESPINO, L.; DOTY, S. L.; RODRIGUEZ, R. J. Increased fitness of rice plants to abiotic stress via

habitat adapted symbiosis: A strategy for mitigating impacts of climate change. **PLoSOne**, Cairo, v. 6, n. 7, p. 1-10, 2011.

RETI, J. **BRS Mandarim é o novo feijão guandu**. Jornal da Agrosoft. 2009. Disponível em: <<http://www.agrosoft.org.br/agropag/209228.htm>> Acesso em 25 janeiro 2012.

ROBERTS, M. R. Does GABA act as a signal in plants? Hints from molecular studies. **Plant Signal Behavior**, Austin, n. 2, p. 408-409, 2004.

RODRÍGUEZ, M.; CANALES, E.; BORRÁS-HIDALGO, O. Molecular aspects of abiotic stress in plants. **Biotecnología Aplicada**, La Habana, v. 22, p. 1-10, 2005.

RUELLAND, E.; ZACHOWSKI, A. How plants sense temperature. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 69, p. 225-232, 2010.

SABEVA, S.; NEDEVA, D. Antioxidant enzymes in germinating wheat seeds affected by dehydration stress, ABA and hydrogen peroxide. **Acta Agronomica Hungarica**, Budapest, v. 56, n. 2, p. 113-127, 2008.

SAHA, S. R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, M. M.; KUO, C. G.; ABDULLAH, S. Effect of high temperature stress on the performance of twelve sweet pepper genotypes. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, Bangladesh, v. 35, n. 3, p. 525-534, 2010.

SAXENA, K. B. Genetic Improvement of Pigeon Pea — A Review. **Tropical Plant Biology**, United States, v. 1, p. 159-178, 2008.

SEIFFERT, N. F.; THIAGO, L. R. L. Guandu: planta forrageira de produção de proteína. EMBRAPA-CNPQC, **Comunicado Técnico**, Campo Grande, n. 21, 1983, 4p.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Modulation of nitrate reductase activity in Rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 162, n. 8, p. 854-862, 2005.

SHEN, W.; NADA, K.; TACHIBANA, S. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 124, p. 431-439, 2000.

SHULAEV, V.; CORTES, D.; MILLER, G.; MITTLER, R. Metabolomics for plant stress response. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 132, p. 199–208, 2008.

SIDDIQUE, K. H. M.; LOSS, S. P.; REGAN, K. L.; JETTNER, R. L.; Adaptation and seed yield of cool season grain legumes in Mediterranean environments of south-western Australia. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, n. 50, p. 375–387. 1999.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 437-445, 2009.

SLOVÁKOVÁ, L.; MATUSÍKOVÁ, J. S.; HUDÁK, J. Effect of low temperatures on the structure of plant cells: Structural, Biochemical and Molecular Aspects. **Handbook of Plant and Crop Stress**. CRC Press, Boca Raton, 3^a Ed., 2011, 1193p.

SOLIMAN, W. S.; FUJIMORI, M.; TASE, K.; SUGIYAMA, S. Heat tolerance and suppression of oxidative stress: Comparative analysis of 25 cultivars of the C₃ grass *Lolium perenne*. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 78, p. 10-17, 2012.

SONG, J.; NADA, K.; TACHIBANA, S. Suppression of s-adenosylmethionine decarboxylase activities is a major cause for high temperature inhibition of pollen germination and tube growth in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Plant, Cell and Physiology**, Oxford, v. 43, p. 619-627, 2002.

STEFANELLO, R.; GARCIA, D. C.; MENEZES, N. L.; WRASSE, C. F. Influência da luz, temperatura e estresse hídrico na germinação e vigor de sementes de Anis. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 1, p. 45-50, 2006.

SUNG, D. Y.; KAPLAN, F.; LEE, K. J.; GUY, C. L. Acquired tolerance to temperature extremes. **Trends in Plant Science**, Netherlands, v. 8, n. 4, p.179-187, 2003.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, Netherlands, 2010.

SZABADOS, L.; KOVÁCS, H.; ZILBESTEIN, A.; BOUCHEREAU, A. Plants in extreme environments: importance of protective compounds in stress tolerance. **Advances in Botanical Research**, London, v. 57, p. 106-133, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Publisher: Sinauer Associates, Inc.; 5 edition, 2010, 560 p.

THAKUR, P.; KUMAR, S.; MALIK, J. A.; BERGER, J. D.; NAYYAR, H. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 67, p. 429-443, 2010.

TIBURCIO, A. F.; WOLLENWEBER, B.; ZILLBERSTEIN, A.; KONCZ, C. Abiotic stress tolerance. Editorial. **Plant Science**, Limerick, n. 182, p. 1-2, 2012.

TOBEH, A.; JAMAATI-E-SOMARIN, S. Low temperature stress effect on wheat cultivars germination. **African Journal of Microbiology Research**, Nairobi, v. 6, n. 6, p. 1265-1269, 2012.

TROVATO, M.; MATTIOLI, R.; CONSTANTINO, P. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. **Rendiconti Lincei**, Milano, v. 19, p. 325–346, 2008.

UEDA, A.; KATHIRESAN, A.; INADA, M.; NARITA, Y.; NAKAMURA, T.; SHI, W.; TAKABE, T.; BENNETT, J. Osmotic stress in barley regulates expression of a different set of genes than salt stress does. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, n. 406, p. 2213-2218, 2004.

VARSHNEY, R. K.; PENMETSA, R. V.; DUTTA, S.; KULWAL, P. L.; SAXENA, R. K.; DATTA, S.; SHARMA, T. R.; ROSEN, B.; CARRASQUILLA-GARCIA, E. N.; FARMER, A. D.; DUBEY, A.; SAXENA, K. B.; GAO, J.; FAKRUDIN, B.; SINGH, M. N.; SINGH, B. P.; WANJARI, K. B.; YUAN, M.; SRIVASTAVA, R. K.; KILIAN, A.; UPADHYAYA, H. D.; MALLIKARJUNA, N.; TOWN, C. D.; BRUENING, G. E.; HE, G.; MAY, G. D.; MCCOMBIE, R.; JACKSON, S. A.; SINGH, N. K.; COOK, D. R. Pigeonpea genomics initiative (PGI): an international effort to improve crop productivity of pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 26, p. 393-408, 2010.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: A review. **Amino Acids**, Wien, v. 35, p. 753-759, 2008.

VERSLUES, P. E.; BRAY, E. A. LWR1 and LWR2 are required for osmoregulation and osmotic adjustment in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 136, n. 1, p. 2831-2842, 2004.

VERSLUES, P. E. Quantification of water stress-induced osmotic adjustment and proline accumulation for *Arabidopsis thaliana* molecular genetic studies. In: SUNKAR, R. (ed.) **Plant Tolerance Stress: Methods and Protocols**, Humana Press, Hatfield, cap. 19, p. 301-315, 2010.

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Heat tolerance in plants: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, n. 61, p. 199-223, 2007.

WANG, W. B.; KIM, Y. H.; LEE, H. S.; DENG, X. P.; KWAK, S. S. Differential antioxidation activities in two alfalfa cultivars under chilling stress. **Plant Biotechnology Reports**, Germany, n. 3, p. 301-307, 2009.

WIMALASEKERA, R.; TEBARTZ, F.; SCHERER, G. F. E. Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. **Plant Science**, Limerick, v. 181, p. 593-603, 2011.

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.

ZHANG, W.; JIANG, B.; LI, W.; SONG, H.; YU, Y.; CHEN, J. Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. **Scientia Horticulturae**, Netherlands, v.122, p. 200-208, 2009.

ZINN, K. E.; TUNC-OZDEMIR, M.; HARPER, J. F. Temperature stress and plant sexual reproduction: Uncovering the weakest links. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 7, p. 1959–1968, 2010.