

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

**TEORES DE GLICINA BETAÍNA NO SISTEMA RADICULAR
DE GENÓTIPOS DE GUANDU SOB EFEITO DO
ESTRESSE SALINO ASSOCIADO À POLIAMINA
EXÓGENA**

Vanessa Cristiane Vollet

Bióloga

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Novembro de 2006

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

**TEORES DE GLICINA BETAÍNA NO SISTEMA RADICULAR
DE GENÓTIPOS DE GUANDU SOB EFEITO DO
ESTRESSE SALINO ASSOCIADO À POLIAMINA
EXÓGENA**

Vanessa Cristiane Vollet

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 obtenção de título de Mestre em Agronomia – Área de concentração Genética e Melhoramento de Plantas.

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Novembro de 2006

Vollet, Vanessa Cristiane
V923t Teores de glicina betaína no sistema radicular de genótipos de
guandu sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena /
Vanessa Cristiane Vollet. -- Jaboticabal, 2006
xi, 59 f. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006
Orientador: Durvalina Maria Mathias dos Santos
Banca examinadora: David Ariovaldo Banzatto, Paola Pedroso
Vantini
Bibliografia

1. Osmólito compatível 2. Espermidina. 3. Salinidade I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.52:635.654

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

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VANESSA CRISTIANE VOLLET - nascida em São José do Rio Preto, São Paulo, em 26 de maio de 1975, é Bióloga, pela UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – *Campus* de São José do Rio Preto – SP, título concedido em 28 de novembro de 1997. Foi professora de Ciências Físicas e Biológicas e Biologia do Colégio Oswaldo Cruz (COC) – São José do Rio Preto durante dois anos (1998 e 1999) até ser aprovada nos concursos para professores da Secretaria de Educação do Estado de São Paulo (em 2000) nas disciplinas: Ciências Físicas e Biológicas (classificação: 1601º lugar do Estado) e Biologia (classificação: 484º lugar do Estado). Premiada pelo Mérito Rotário concedido pelo Rotary Club de Matão – SP em reconhecimento e consideração à categoria profissional, como professora destaque da cidade de Matão no ano letivo de 2001. Aprovada em concurso da Secretaria de Educação do Estado de São Paulo na disciplina de Biologia (classificação: 607º lugar do Estado) novamente em 2003. Em agosto de 2004, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *Campus* de Jaboticabal, desenvolvendo a pesquisa da dissertação como bolsista da Secretaria de Educação do Estado de São Paulo, vinculada à área de concentração da Fisiologia do Estresse. Atua como professora efetiva na E.E “Dona Anita Costa” e na Faculdade Eduvale no município de Olímpia – SP desde 2003.

“O mestrado foi um marco em minha vida, sem olhar para trás...rumo ao novo...como Fênix que renasce das próprias cinzas...”

(Vanessa Cristiane Vollet)

“Enfim...um dia descobrimos que apesar de viver quase 100 anos, esse tempo todo não é suficiente para realizarmos todos os nossos sonhos, para dizer tudo o que tem que ser dito... O jeito é: ou nos conformamos com a falta de algumas coisas na nossa vida ou lutamos para realizar todas as nossas loucuras...”

(Mário Quintana)

OFEREÇO

À minha filha, Gabriela Vollet Cardozo, que sempre foi o motivo de toda minha luta, que com um abraço renova minhas forças e me faz sentir que tudo vale a pena...

À minha amada família: José Ernesto Vollet (pai), Rita M. Caetano da S. Vollet (mãe), Melissa Regiane Vollet (irmã), César Augusto Vollet (irmão), Fábio Reigado (cunhado) e o meu sobrinho Léo Vollet Reigado, que é meu alicerce... meu porto seguro... onde sei que sempre entenderei o significado do verdadeiro amor.

DEDICO

Aos meus queridos avós: Ernesta Confalonieri Vollet (in memoriam), José Vollet Filho (in memoriam), Sebastião Caetano da Silva e Maria Aparecida Corrêa da Silva por estarem sempre torcendo por mim e me acompanhando mesmo que em pensamento.

Ao meu tio Wilson Luiz Caetano da Silva por todo carinho desde a minha infância.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos, por ter me acolhido e orientado com uma amplitude além da profissional, fazendo-me entender o verdadeiro significado da palavra “Orientadora”.

Ao Prof. Nelson Carlos Antunes e Sr. Sebastião José de Oliveira, ambos da D.E. de Barretos, pelo grande empenho e responsabilidade para o recebimento da minha “Bolsa Mestrado” concedida pela Secretaria Estadual de Educação do Estado de São Paulo.

À minha amiga Débora Aparecida Verde de Andrade, por ter me trazido até a universidade e por ter me incentivado a não desistir dos meus sonhos.

Aos meus queridos diretores e coordenadora da Escola Estadual “Dona Anita Costa”: Profs. Neder Nadruz Filho, Maria Ângela Seno Lourenço e Monica Moreira da Silva Marretto, por grande incentivo, apoio e sensibilidade para entender a grande importância do meu crescimento profissional.

A todos os profissionais que trabalham na Secretaria e nos Serviços Gerais da Escola Estadual “Dona Anita Costa” e, principalmente, à Sirlei Baldan Sousa, por incentivo, grande carinho e auxílio no meu crescimento profissional.

Aos Professores da Escola Estadual “Dona Anita Costa”, pela receptividade, amizade, dias maravilhosos de convivência e grande incentivo de vida e profissional.

À Magda Bittar por me ensinar o verdadeiro significado da palavra amizade.

Aos meus alunos pelo grande incentivo, respeito e convivência diária.

Aos meus queridos: Antônio Carlos Paraguassu “Toninho” e Célia de Oliveira Paraguassu, pelo grande carinho que sempre tiveram por mim.

Aos meus queridos: Antônio Sérgio Gigante, Silvana Rodrigues Gigante, Daniel Rodrigues Gigante e Douglas Rodrigues Gigante, pela eterna amizade e pelos ótimos momentos vividos juntos.

Aos meus queridos amigos residentes no município de Cajobi, SP: Junio Vanzella, Carina Vanzella Sandrini, Luís Gustavo Sandrini e, principalmente, à

minha “*mãezona*” Dona Nilda Maria de Lima, por todo carinho, companheirismo e incentivo.

Aos estudantes de Pós-Graduação da FCAV/Unesp, Adão Marin, Juliana Moraes Boldini, Samira Domingues Carlin e Rodrigo Vezzani Franzé, pelo convívio e amizade.

À técnica Sônia Maria Raymundo Carregari, pela amizade e ajuda durante a condução do experimento.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal da FCAV/Unesp, sempre dispostos a auxiliar no que for preciso.

A Moacir Vinícius Pereira Destro, pela grande amizade e companheirismo na montagem do experimento e execução das análises realizadas neste trabalho.

Às minhas queridas irmãs e companheiras da república “Cantinho Farfaruei”: Natacha Deboni Cereser, Rafaela Josemara Barbosa Queiroz e Fernanda Malva Ramos Costa, pela amizade, incentivo, convivência alegre, descobertas e apoio nos momentos mais difíceis durante o andamento do mestrado.

À nova geração “Farfaruei”: Greicy Mitzi Bezerra Moreno e Sônia Regina Alves Tagliari, pela nova amizade e horas de descontração.

Às amigas Juliana Regina Rossi e Gisele Cristina Dedemo e aos amigos Elízio Ferreira Frade Junior, Ernesto Rinaldi Mouta, Roberto Savério Souza Costa e Leonardo Lucas Madaleno, pela amizade e momentos de alegria e descontração.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/Unesp), ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas (PG/GMP), pela oportunidade e contribuição em minha formação profissional.

À FUNESP, pelo apoio financeiro do projeto de mestrado (Proc. nº 00837/05).

À Secretaria Estadual de Educação do Estado de São Paulo, pela “Bolsa Mestrado” concedida no período de 2004-2006.

SUMÁRIO

	p.
RESUMO	VIII
SUMMARY.....	IX
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. GUANDU: LEGUMINOSA FORRAGEIRA -.....	3
2.1.1. Genótipos de Guandu.....	5
IAC Fava Larga.....	5
Caqui.....	6
2.2. ESTRESSE SALINO.....	6
2.2.1. Crescimento vegetal e estresse salino.....	7
2.3. TEORES DE GLICINA BETAÍNA.....	8
2.4. POLIAMINAS.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1. INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO EXPERIMENTAL.....	15
3.2. COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS.....	19
3.3. AVALIAÇÕES BIOQUÍMICO-FISIOLÓGICAS.....	19
3.3.1. Crescimento inicial do sistema radicular.....	19
3.3.2. Glicina betaína.....	20
3.4. TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1. CRESCIMENTO INICIAL DO SISTEMA RADICULAR.....	22
4.2. TEORES DE GLICINA BETAÍNA.....	37
5. CONCLUSÕES.....	40
6. REFERÊNCIAS.....	41

TEORES DE GLICINA BETAÍNA NO SISTEMA RADICULAR DE GENÓTIPOS DE GUANDU SOB EFEITO DO ESTRESSE SALINO ASSOCIADO À POLIAMINA EXÓGENA

RESUMO: Os objetivos deste trabalho foram: avaliar o crescimento inicial e quantificar os teores de glicina betaína (GB) do sistema radicular dos genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena (espermidina) visando, nestes genótipos, verificar a utilização da GB como marcador bioquímico-fisiológico à salinidade e o efeito atenuante da espermidina (Spd) quando associada ao estresse salino. Para tanto, foram utilizados diferentes níveis de NaCl (0; 20; 60 e 80 mM) e Spd (0,0 mM e 0,5 mM). Após 10 dias da sementeira, as plântulas foram aclimatadas por 20 dias em solução nutritiva, em sala de crescimento com condições semi-controladas. Para o crescimento das raízes foram avaliadas as variáveis diâmetro, densidade e massa seca. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados no esquema fatorial 2x2x4 (IAC Fava Larga e Caqui; 0,0 mM e 0,5 mM de Spd e 0; 20; 60 e 80 mM de NaCl), com cinco repetições. Foram determinados os teores de glicina betaína em raízes de plântulas 50 dias após a germinação. Os resultados evidenciaram que o diâmetro do sistema radicular do genótipo Caqui foi, significativamente, maior que o da Fava Larga no nível 0,0 mM de Spd, a adição de Spd causou aumento no diâmetro do IAC Fava Larga e redução da densidade e massa seca do sistema radicular de ambos genótipos, o estresse salino reduziu, acentuadamente, o diâmetro e a massa seca do sistema radicular de ambos genótipos, para o genótipo IAC Fava Larga, a GB pode ser considerada um marcador bioquímico-fisiológico sob estresse salino de 20 mM e 60 mM, a adição de Spd a 0,5 mM causou aumento nos teores de glicina betaína no sistema radicular do genótipo IAC Fava Larga e as raízes do genótipo IAC Fava Larga foram menos sensíveis ao estresse salino comparado as do Caqui.

Palavras-chave: Osmólito compatível, espermidina, salinidade, raízes, crescimento inicial.

GLYCINE BETAINÉ LEVELS IN GENOTYPES OF PIGEONPEA ROOTS UNDER SALT STRESS ASSOCIATED WITH EXOGENOUS POLYAMINE

SUMMARY: The objective of this work is to evaluate the initial growth and the levels of glycine betaine in pigeonpea roots under salt stress associated with exogenous polyamine (Spd) application, to evaluate the use of glycine betaine as biochemical marker for salt stress tolerance and the effect of Spd when associated to salt stress, as well as obtain forage legumes that can be used as soil salinity indicators. The genotypes IAC Fava Larga and Caqui were used in this study. Soil salinity was studied with NaCl concentrations of 0; 20; 60 and 80 mM, while Spd was applied at rates of 0.0 mM and 0.5 mM. Ten days after seeding, seedlings were acclimated for 20 days in hydroponic solution in a grow room under partially controlled conditions. Also, growths of roots were determined (density, diameter and dry mass). The experiment was arranged in randomized block design, in a 2x2x4 factorial with five replications. The levels of glycine betaine were determined in seedlings 50 days after germination. The results show that diameter in roots of Caqui genotype is bigger than IAC Fava Larga; Addition of Spd results in a increase of diameter and reduction of density and dry mass in both genotypes roots; The saline stress reduced the diameter and dry mass in both genotypes roots; The addition of 0.5 mM spermidine increased the concentration of glycine betaine in roots of the IAC Fava Larga genotype; Glycine betaine can be considered a biochemical marker for moderate salt stress in IAC Fava Larga roots.

Key words: Compatible osmolyte, spermidine, salinity, roots, initial growth.

1. INTRODUÇÃO

O guandu (*Cajanus cajan*) é uma leguminosa arbustiva, anual ou perene de vida curta, crescendo normalmente até uma altura de 4,0 m. Vem sendo cultivado há muito tempo, principalmente para a produção de grãos para consumo humano. No entanto, devido ao seu grande potencial de produção de forragem e alto valor nutritivo é um excelente suplemento protéico para ruminantes, podendo ser utilizado sob a forma de grãos ou farinha para aves e suínos ou ainda como cultura restauradora do solo (EMBRAPA, 2004).

Os solos salinos estão representados em 5% dos solos cultiváveis (77 milhões de ha), considerando 1,5 bilhões de ha das terras cultivadas no mundo (TESTER & DAVENPORT, 2003). O aumento da população mundial e, conseqüentemente, a urbanização tem fomentado os agricultores a utilizarem cada vez mais solos marginais, inclusive os salinos. Assim, torna-se fundamental o desenvolvimento de tecnologias alternativas de uso de solos salinos, bem como a busca de espécies potencialmente promissoras para essas áreas (MUNNS, 2005). O impacto da salinidade do solo sobre a produtividade agrícola é um sério problema devido à dependência de irrigação para garantir um adequado suprimento de água às culturas, principalmente, nas regiões áridas e semi-áridas (GOYAL et al., 2002).

O declínio na produtividade vegetal é devido, geralmente, ao excesso de íons sódio (Na^+), embora muitos outros elementos possam contribuir para a salinização dos solos, como Ca, Mg, K, Cl, S e o íon carbonato (TESTER & DAVENPORT, 2003). Este excesso de Na^+ conduz ao estresse hídrico, causando nas plantas a redução da taxa de absorção de água, que influencia os processos de divisão e alongamento celular (LIMA et al., 2004).

Em recentes estudos, foi descoberto que as poliaminas (PAs) possuem função na modulação de diversos processos fisiológicos nas plantas, tanto no crescimento e diferenciação celular quanto na tolerância aos estresses abióticos (MARTIN-TANGUY, 2001; BAIS & RAVISHANKAR, 2002). Esta função torna-se

evidente em plantas que acumulam PAs em condições de estresse salino, atenuando os efeitos da toxidez dos sais presentes no desenvolvimento vegetal (MANSOUR et al., 2002; ZHAO & QIN, 2004).

Algumas plantas, para tolerar os efeitos dos estresses abióticos, utilizam-se do mecanismo denominado ajustamento osmótico, que permite à célula preservar suas funções metabólicas mesmo em condições ambientais adversas para, assim, promover a tolerância ao estresse e manter o potencial osmótico relativamente alto (BAYUELO-JIMÉNEZ et al., 2002). Este mecanismo capacita à célula acumular substâncias denominadas osmólitos compatíveis, as quais preservam a integridade celular resultando na continuação das atividades vitais para o crescimento e desenvolvimento vegetal (BRAY et al., 2001).

A glicina betaína (GB) constitui um osmólito compatível com ampla ação protetora das funções fisiológicas de células sob estresses abióticos, destacando importante função na adaptação das plantas ao estresse salino (RHODES & HANSON, 1993; YANG et al., 2003). Portanto, a adaptação das plantas à salinidade durante os estádios do crescimento inicial da planta é fundamental para o estabelecimento das espécies, em ambientes salinos, influenciando na sua distribuição geográfica e, conseqüentemente, na agricultura (HASEGAWA et al., 2000; MUNNS et al., 2006).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o crescimento inicial e quantificar os teores de glicina betaína no sistema radicular de guandu, genótipos IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena (espermidina), com o intuito de propor: **a)** a utilização da glicina betaína como marcador bioquímico-fisiológico à salinidade. **b)** verificar o efeito atenuante da espermidina quando associada ao estresse salino.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Guandu: leguminosa forrageira -

Cajanus cajan (L.) Millsp., conhecida como guandu, pertence à família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Cajaninae, com sinonímia de *Cajanus indicus* Spreng, *Cajanus flavus* D.C, *Cytipus cajanus* L. e *Cajanus cajan* (L.) Druce (WUTKE, 1987). Apesar do centro de origem de *Cajanus cajan* permanecer incerto, é provável que seja originário da Índia, onde é muito cultivada, ou nativa da África, de onde teria se deslocado para a Índia e, posteriormente, introduzida na América Central e do Sul, na época do descobrimento do continente pelos europeus (WUTKE, 1987).

De modo geral, o gênero *Cajanus* é, freqüentemente, encontrado nas regiões tropicais e subtropicais, notadamente em países da Ásia, África e América Latina (NENE et al., 1990). A Índia concentra aproximadamente 90% da produção mundial (PONS, 2002).

A semeadura ocorre principalmente na estação chuvosa, desenvolvendo-se na estação seca subsequente por meio da água armazenada no solo, sendo exposta a períodos de seca passageira durante o desenvolvimento vegetativo (NENE et al., 1990). Além disso, as plantas de guandu apresentam um sistema radicular profundo e vigoroso, toleram bem a seca, podendo, entretanto, perder as folhas sob condições críticas. Cresce melhor em solos profundos e bem drenados (EMBRAPA, 2004), mas também crescem em solos pobres (ABRUNA et al., 1984), apresentando adaptação aos mais variados tipos de solo, desde arenosos aos argilosos pesados, desenvolvendo-se satisfatoriamente na faixa de pH de 5,0 a 7,0 (NENE et al., 1990).

O guandu adaptou-se às condições climáticas do Brasil, apresentando bons resultados como fornecedor de grãos e massa verde nos pastos em períodos de chuvas escassas (ALCÂNTARA & BUFARAH, 1988; ALVES & MEDEIROS, 1997;

BAYER et al., 2001). Por ser uma espécie rústica, atualmente tem sido também empregado em programas de recuperação de áreas degradadas, participando de projetos de re-vegetação de áreas, implantação de cordões de vegetação permanente e/ou paliçadas em regiões com princípios de erosão (COAN et al., 2004). A ampla utilização do guandu na região Nordeste do Brasil (FAVORETTO et al., 1989; SANTOS et al., 2000), é muito importante, pois é uma região normalmente com problemas de salinidade da água e do solo, apresentando salinização em 25% dos perímetros irrigados (HOLANDA, 1996). Geralmente, a baixa precipitação e a alta evaporação nas regiões áridas e semi-áridas são fatores que contribuem para a ocorrência de solos salinos e sódicos, os quais representam, em nível global, aproximadamente 900 milhões de hectares. Nessas condições, os sais são acumulados no solo e na água em quantidades prejudiciais ao crescimento normal das plantas (TESTER & DAVENPORT, 2003).

Devido à importância do guandu para a agricultura brasileira (SEIFFERT et al., 1988; SANTOS et al., 2000), atualmente os pesquisadores da Embrapa Cerrados (empresa vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), estão conduzindo um projeto de melhoramento vegetal, visando lançar genótipos adequados a regiões salinas. As linhagens selecionadas de guandu estão sendo utilizadas em ensaios específicos por diversas regiões do cerrado brasileiro.

De fato, para o produtor rural, o guandu proporciona baixos custos de produção que refletem diretamente no lucro da atividade pecuária e melhorias na fertilidade do solo, decorrentes da habilidade que esta leguminosa apresenta para a fixação simbiótica de nitrogênio no solo (RAO et al., 2002; ALVES et al., 2004).

2.1.1. Genótipos de Guandu

IAC Fava Larga

As plantas de IAC Fava Larga resultaram da seleção massal efetuada em diversos cultivos no período 1982-1985, dentro de material introduzido na Seção de Leguminosas, em 1953 do Instituto Agrônomo de Campinas. Apresenta plantas eretas, crescimento determinado, folíolos largos, haste verde tingida por antocianina, flores amarelas com o dorso do estandarte levemente raiado de vermelho, vagens largas, curvas, verdes com manchas marrons na sutura das valvas e nos septos entre sementes, quando imaturas, passando a cor de palha quando secas. As vagens contêm cinco a seis sementes, que apresentam tegumento de coloração bege pintalgado de marrom com hilo claro e peso médio de 16 gramas para 100 sementes. Para semeaduras efetuadas em fevereiro, as plantas apresentam altura entre 1,80 e 2,00 m no florescimento e ciclo de 225-230 dias da semeadura até a primeira colheita de grãos, enquanto para semeaduras efetuadas em outubro as plantas apresentam altura de 3,50 m e ciclo de 280 dias. O processo de colheita torna-se bastante facilitado devido às características da inflorescência, que apresenta concentração de flores nas extremidades dos ramos, formando cachos longos com poucas folhas intercaladas, e à maturação uniforme das vagens. A produtividade média de sementes observada no Centro Experimental de Campinas, para semeadura efetuada em fevereiro, foi da ordem de 1.683 kg ha^{-1} na primeira colheita, o que é muito significativo, considerando a contribuição em grãos, verdes ou secos, para a alimentação humana, e o aumento do potencial de produção de sementes no Estado de São Paulo. Em virtude do ciclo longo, possibilitando maior acúmulo de massa verde, o guandu IAC Fava Larga pode ser utilizado como adubo verde, contribuindo para cobertura do solo e para a restauração e manutenção da sua capacidade produtiva, e como planta forrageira (IAC, 1989).

Caqui

O genótipo Caqui é uma planta perene, forma de crescimento arbustiva, cultivada em todos os tipos de solo, desde que esteja bem drenado, possui elevada tolerância à seca e boa tolerância ao frio. O sistema radicular é vigoroso, com profundidade de 2,0/3,0 m. Muito utilizada para adubação verde (massa seca ha/ano de 10/12 t), no pastoreio direto com alta palatabilidade, fenação, ensilagem com milho e sorgo. As plantas Caqui são sensíveis à acidez do solo, devendo o pH ser corrigido antes da sua implantação. A melhor época de semeadura é na estação chuvosa (WOLF SEEDS DO BRASIL, 2005).

2.2. Estresse salino

O estresse salino representa um dos mais sérios fatores que limitam o crescimento e a produção das culturas, induzindo à modificações morfológicas, estruturais e metabólicas nas plantas superiores (NETO & TABOSA, 2000). O efeito da salinização indica que, a inibição do crescimento e da produção vegetal deve-se à redução no potencial osmótico da solução do solo, provocado pelo excesso e/ou ao efeito tóxico dos sais (SILVA et al., 2000; VIÉGAS et al., 2001; WANG et al., 2003). Este excesso de íons Na^+ , conduz ao estresse hídrico, que influencia a mobilização das reservas armazenadas e o crescimento vegetal (GOYAL et al., 2002; SOPORY, 2004).

A salinização pode conduzir ao abandono de áreas nobres para a agricultura, por torná-las inviáveis à exploração agrícola, devido às drásticas reduções na produtividade das culturas (VIÉGAS et al., 2001). É um problema que cresce ano a ano devido à escassez de chuvas e à demanda sempre crescente de água e fertilizantes pela agricultura moderna (NETO & TABOSA, 2000; ALEXIEVA et al., 2003).

Os efeitos imediatos da salinidade sobre as plantas podem ser resumidos em seca fisiológica provocada pela redução do potencial osmótico e desequilíbrio

nutricional devido à elevada concentração iônica e à inibição da absorção de outros cátions (Jeffrey & Izquierdo, 1989 citados por SILVA et al., 2000; YOKOI et al., 2002; CHINNUSAMY & ZHU, 2004).

O excesso de sais provoca a deficiência hídrica devido à redução do potencial osmótico (ψ_s) do solo (SILVA et al., 2000; TESTER & DAVENPORT, 2003), causando nas plantas a redução da taxa de absorção de água, que influencia os processos de divisão e alongamento celular (LIMA et al., 2004).

A tolerância das plantas à salinidade é descrita como a habilidade de evitar, por meio de uma regulação salina, que excessivas quantidades de sal provenientes do substrato alcancem o protoplasma, e também, de tolerar os efeitos tóxicos e osmóticos associados ao aumento da concentração de sais (LARCHER, 2000).

2.2.1. Crescimento vegetal e estresse salino

Em plantas sensíveis à salinidade, a tolerância aos níveis moderados de salinidade no solo depende em parte da capacidade das raízes de impedir que íons potencialmente prejudiciais alcancem as partes aéreas (MUNNS et al., 2006). Nas raízes, as estrias de Caspary impõem uma restrição aos movimentos de íons para o xilema, mas os íons alteram sua rota passando da via apoplástica à simplástica, atravessando as membranas celulares e, mesmo assim, esses íons são encontrados no xilema e floema de plantas sob estresse salino. Essa transição oferece às plantas tolerantes à salinidade um mecanismo para excluir, parcialmente, íons prejudiciais (MUNNS et al., 2006).

Os íons de Na^+ penetram nas raízes passivamente de modo que as células das raízes devem usar energia para expelir o Na^+ de volta para a solução externa. O Cl^- , em contrapartida, é expelido pelo potencial elétrico negativo através da membrana celular e baixa permeabilidade das membranas plasmáticas da raiz para este íon. O excesso de Na^+ provoca o estresse osmótico, impedindo o equilíbrio do turgor celular.

O estresse desempenha importante função na determinação de como o solo e o clima limitam a distribuição de espécies vegetais. O estresse é medido em relação à sobrevivência da planta, produtividade agrícola, crescimento (acúmulo de massa seca), processo primário de assimilação (absorção de CO₂ e de minerais), que estão relacionados ao crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O grau de tolerância de uma espécie ou cultivar pode ser determinado através da capacidade de acumular solutos compatíveis e eficiência com que essa planta altera os padrões de crescimento e de alocação de massa seca (BARTELS & SUNKAR, 2005).

2.3. Teores de glicina betaína

A habilidade de algumas espécies ou genótipos de ajustar osmoticamente suas células em condições de estresse salino é uma resposta bioquímica-fisiológica que indica a capacidade destes organismos em aumentar a tolerância a períodos de salinidade (TESTER & DAVENPORT, 2003).

A capacidade de acúmulo de solutos compatíveis é uma resposta comum em organismos sob condições adversas, e vem sendo investigada, nos últimos anos, em plantas (TESTER & DAVENPORT, 2003; CHINNUSAMY & ZHU, 2004). Estes solutos compatíveis são moléculas ou íons atóxicos que não interferem no metabolismo e se acumulam predominantemente no citoplasma, onde têm função de manter a turgescência celular, além de estabilizar proteínas e estruturas celulares nas condições subótimas dos fatores ambientais (BRAY et al., 2001).

Para algumas espécies vegetais, a síntese de moléculas osmoprotetoras, como a glicina betaína, é uma das principais estratégias empregadas para minimizar os efeitos da toxidez salina (ALEXIEVA et al., 2003; MELONI et al., 2004).

Os compostos envolvidos no ajustamento osmótico, no qual se inclui a glicina betaína, são denominados “solutos ou osmólitos compatíveis” (BRAY et al., 2001).

Existe uma correlação positiva entre a acumulação de glicina betaína e a tolerância ao estresse salino através do mecanismo de ajuste osmótico (TAKABE, et al., 1998; KJELL-OVE et al., 2000; BRAY et al., 2001; CHINNUSAMY & ZHU, 2004), isto é, a célula torna-se apta a acumular compostos e reduzir o potencial hídrico durante os períodos de estresse osmótico (BABU et al., 1999; TAIZ & ZEIGER, 2004).

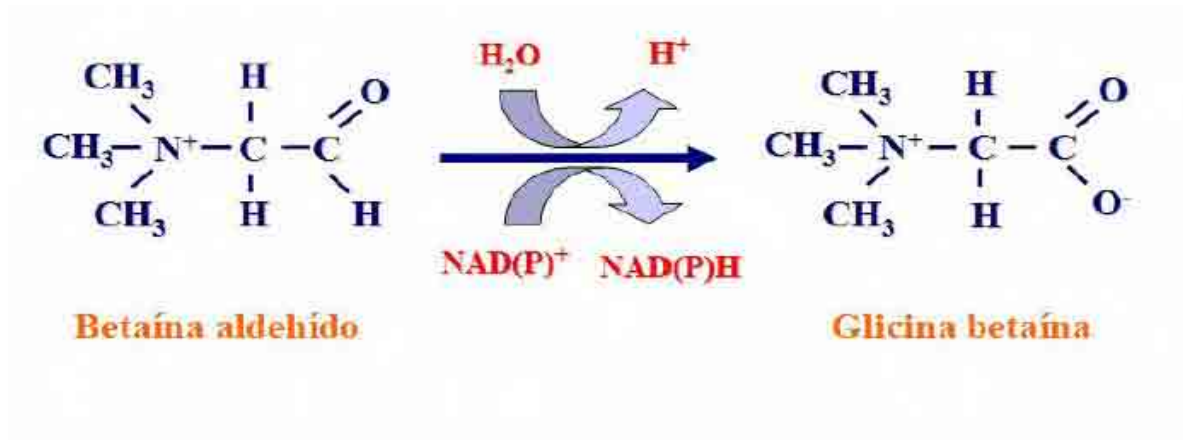
A glicina betaína (*N,N,N-trimetilglicina*), amina quaternária, QACs (SIRONI et al., 2001), é uma molécula anfótera, bipolar, mas eletricamente neutra em ampla faixa de valores de pH. Esta molécula possui a propriedade de interagir com macromoléculas tanto hidrofílicas quanto hidrofóbicas, enzimas e complexos protéicos, além de ser extremamente solúvel em água (SAKAMOTO & MURATA, 2002). Ademais, apresenta efetiva participação como osmoprotetor, soluto compatível ou osmólito compatível (Le RUDULIER et al., 1984; BRAY et al., 2001; MELONI et al., 2004), agindo na estabilização tanto da estrutura quaternária das proteínas quanto da complexa estrutura de membrana celular (Le RUDULIER et al., 1984).

De modo geral, as pesquisas sobre essa amina quaternária são de grande importância, pois está presente nos vegetais, animais e bactérias (MUNÔZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004).

A síntese deste osmoprotetor ocorre nos cloroplastos (*vide* na p. 10 a ilustração) através das enzimas betaínas aldeído desidrogenases (BADH) que catalizam a oxidação, irreversível, da betaína aldeído com redução de NAD^+ a NADP^+ (MUNÔZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004).

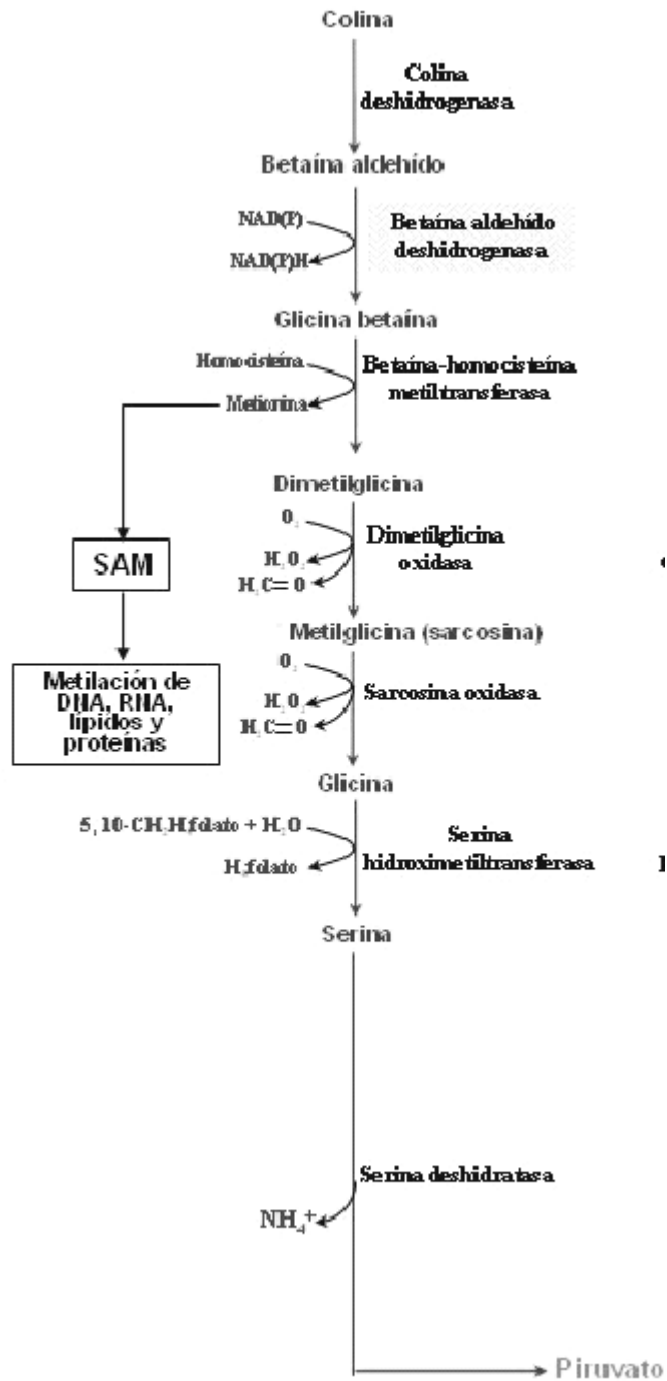


Síntese da glicina betaína no cloroplasto.
(MUNÓZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004)



Reação irreversível de oxidação da betaína aldeído à glicina betaína. (MUNÓZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004)

A glicina betaína não possui, exclusivamente, a função osmoprotetora nas células, pois esta molécula pode ser sintetizada a partir da colina ou os precursores para ser utilizada, em via metabólica (*vide* abaixo o esquema), para formar compostos ligados à síntese do hormônio etileno e da molécula piruvato, além de ser fonte de carbono, nitrogênio e energia (MUNÓZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004).



A glicina betaína pode agir como uma molécula sinalizadora que induz a expressão de genes associados à tolerância ao estresse salino (TAKABE et al., 1998; USDA, 2004). Desta forma, o estudo relacionado os teores de glicina betaína pode ser uma ferramenta importante na investigação da tolerância de genótipos de guandu ao estresse salino.

2.4. Poliaminas

Apesar das poliaminas estarem envolvidas em um grande número de processos do desenvolvimento vegetal, a sua inclusão à classe dos hormônios vegetais ainda gera controvérsias entre a comunidade científica, pois agem em concentrações superiores aos hormônios convencionais, o que diverge do conceito de hormônio vegetal (COLLI, 2004). No entanto, muitos pesquisadores incluem as poliaminas à classe dos hormônios vegetais, uma vez que regulam o desenvolvimento vegetal (CROZIER et al., 2001). Estas substâncias são moléculas orgânicas polivalentes de baixo peso molecular, hidrofílicas, que apresentam como característica fundamental a presença de dois ou mais grupos de aminas em sua constituição química, diferindo estruturalmente entre si quanto ao número e posição das aminas (KUZNESTSOV et al., 2002). Como a glicina betaína, as poliaminas também, podem ser sintetizadas a partir da ação de enzimas betaínas aldeído desidrogenases (BADH_s) em distintos substratos aldeídos intermediários (MUNÔZ-CLARES & VELASCO-GARCIA, 2004).

Nos vegetais, as poliaminas mais freqüentemente encontradas são diaminas (putrescina e cadaverina), triaminas (espermidina) e tetraminas (espermina), sobretudo, a espermidina (1,8-Diamino-4-azaoctane, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$) que é considerada um regulador de crescimento vegetal atuando na divisão e diferenciação celular (GALSTON & KAUR-SAWHNEY, 1994; ASHRAF & HARRIS, 2004).

A importância dessas substâncias em plantas pode ser corroborada em mutantes que perderam a habilidade de sintetizar poliaminas, o que ocasionou

alterações fenotípicas no crescimento e desenvolvimento; no entanto, a adição exógena de poliaminas, restaura os padrões normais de crescimento, evidenciando a função essencial das poliaminas no metabolismo celular (COLLI, 2004).

A aplicação exógena de poliaminas tem mostrado proteger o tecido vegetal dos efeitos danosos de uma ampla gama de estresses ambientais, tal como a salinidade (ZHAO & QIN, 2004). Durante o estresse salino, o conteúdo de poliaminas endógenas pode aumentar ou reduzir, dependendo do tecido, da espécie, teor de salinidade e duração do tratamento experimental (KASINATHAN & WINGLER, 2004). As plantas tolerantes geralmente têm uma ampla capacidade de aumentar a biossíntese de poliaminas em resposta ao estresse, elevando de duas a três vezes os níveis de poliaminas endógenas (KASUKABE et al., 2004).

O tratamento com inibidor da biossíntese de poliaminas aumenta a sensibilidade da planta ao estresse, mas o tratamento simultâneo com poliamina exógena restabelece a tolerância (ASHRAF & HARRIS, 2004), apoiando a hipótese de que as poliaminas desempenham funções essenciais na tolerância das plantas aos estresses ambientais. O estresse prolongado causa pequenas variações nos níveis de poliaminas, enquanto, no curto período, o estresse causa aumento significativo nos níveis de poliaminas (ASHRAF & HARRIS, 2004).

A função protetora das poliaminas é devida, principalmente, à sua natureza catiônica em pH celular, através da ligação a proteínas e lipídeos, podendo estabilizar as estruturas celulares (UPADHYAYA et al., 2001; KASINATHAN & WINGLER, 2004). Em plântulas de ervilha, as poliaminas mais freqüentes nas plantas atenuam o efeito do estresse salino (ASHAF & HARRIS, 2004) e a aplicação de poliaminas exógenas em aveias estressadas osmoticamente atrasa a degradação de proteínas, a perda de clorofila e estabiliza as membranas dos tilacóides (MARTIN-TANGUY, 2001). Em arroz, a aplicação exógena de poliaminas diminuiu a toxicidade salina (UPADHYAYA et al., 2001; NDAYIRAGIJE & LUTTS, 2006). Ainda, tendo em vista as funções das poliaminas como atenuante dos estresses ambientais, atualmente, existe crescente interesse em

pesquisas sobre a biossíntese e ação fisiológica destas substâncias visando tornar as plantas mais tolerantes aos estresses abióticos, entre eles, o estresse salino (UEDA et al., 2004).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Instalação e condução experimental

As sementes dos genótipos de guandu, IAC Fava larga e Caqui, utilizadas nos experimentos foram provenientes da empresa WOLF SEEDS DO BRASIL¹ do município de Ribeirão Preto, SP.

Para a obtenção de plântulas (Figura 1) foram utilizadas quatro bandejas de plástico para cada genótipo, contendo areia lavada e esterilizada. Após a semeadura foram deixadas em sala de crescimento, sob luminária com irradiância média de $190 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo controlado de 12 horas, a uma temperatura média de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (ar condicionado, 10.000 BTUs, Marca Springer) e umidade relativa média de 40%, do DBAA, FCAV, Unesp, *Campus* de Jaboticabal. Para evitar a deficiência hídrica foram realizadas regas diárias.

Após 10 dias da semeadura (Figura 1A), as plântulas de cada genótipo foram aclimatadas à solução nutritiva de Hoagland e Arnon (FERRI et al., 1974), em sala de crescimento. As plântulas foram transferidas para frascos de vidro tipo SNAP CAP, com capacidade de 190 mL, os quais foram previamente revestidos com papel alumínio para impedir o crescimento de algas na solução nutritiva (Figura 1B). Para a aclimação foi utilizada solução nutritiva na concentração equivalente a 50% (1/2 força) por cinco dias e, em seguida, foi aumentada a concentração da solução para 100% (1/1 força) por um período de 15 dias, totalizando 20 dias de aclimação. Após este período, as plântulas, com a idade de 30 dias, foram submetidas, simultaneamente, aos níveis de estresse salino e da espermidina (Figura 1C).

¹ WOLF SEEDS DO BRASIL. FEIJÃO GUANDU. Disponível em: <http://www.wolfseeds.com.br/_feijãoguandu.ht>



Figura 1. Aspecto geral da instalação e montagem experimental de genótipos de guandú, IAC Fava Larga e Caqui. **A.** Plântulas aos 10 DAS. **B.** Plântulas em solução nutritiva por 20 dias de aclimação. **C.** Plântulas transferidas para os tratamentos estresse salino e Spd.

A solução nutritiva de Hoagland e Arnon 1/1 força com os diferentes níveis de estresse salino, expressos em mM (0; 20, 60 e 80) de cloreto de sódio, NaCl, foi preparada segundo metodologia de GONELA (1999). Estes níveis de estresse salino correspondem, respectivamente, aos potenciais osmóticos (ψ) de 0; -0,089; -0,267; -0,357 MPa, calculados de acordo com a equação de J.H.Van't Hoff (citado por SALISBURY & ROSS, 1992) a saber: $\psi = -i \cdot C \cdot R \cdot T$, sendo ψ = potencial osmótico (MPa); i = coeficiente isotônico ($i_{\text{NaCl}} = 1,8$); C = concentração da solução (mol por litro de H₂O- 0; 20; 60 e 80 mM); R = constante universal dos gases (0,00831 MPa L K⁻¹ mol⁻¹); T = temperatura (K).

O pH da solução nutritiva foi monitorado utilizando-se de Phmetro Portátil Modelo PH206, sendo mantido em $6,1 \pm 0,1$ utilizando-se solução de HCl 0,1N ou NaOH 0,1N.

Também, foi realizado o monitoramento da condutividade elétrica (C.E.), utilizando-se de Condutivímetro Portátil Modelo CD 4303 Marca Lutron, visando verificar a variação da quantidade de NaCl na solução nutritiva de Hoagland e Arnon. Esta variação da concentração pode se dar pela evaporação e transpiração das plantas.

Devido ao fato de ocorrer variação da condutividade elétrica (C.E.) da solução nutritiva, induzindo alterações na absorção de água e nutrientes pelas plantas, a C.E. na solução nutritiva com NaCl foi aferida pela média de três leituras, a qual se tornou "C.E. padrão" (valor de referência), para o monitoramento dos experimentos a cada três dias (Tabela 1).

Para verificar os efeitos do estresse salino associado à espermidina (Spd) 0,5 mM em solução nutritiva no sistema radicular das plântulas nos genótipos de guandu, foram considerados os fatores: genótipos e estresse salino associado a Spd 0,5 mM. Também, houve o tratamento controle, no qual foi isento de Spd (0,0 mM) nas soluções de estresse salino.

Após 20 dias de aclimação, as plântulas, com a idade de 30 dias, foram colocadas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon 1/1 força com os diferentes níveis de estresse salino, expressos em mM (0; 20; 60 e 80) de cloreto de sódio

Tabela 1. Condutividade elétrica (C.E.) na solução nutritiva com NaCl e adição exógena de 0,5 mM de espermidina (Spd), referentes aos tratamentos salinos utilizados no experimento. Jaboticabal, SP. 2004-2006.

Estresse Salino NaCl (mM)	Condutividade Elétrica mS cm⁻¹
0	2,14
20	4,17
60	8,01
80	9,76
Estresse Salino NaCl (mM) + (Spd 0,5 mM)	Condutividade Elétrica mS cm⁻¹
0 + Spd	2,20
20 + Spd	4,27
60 + Spd	8,06
80 + Spd	9,82

Determinado por meio de condutímetro portátil Modelo CD 4303.
Médias de três leituras.

(NaCl), associados a Spd 0,0 mM e 0,5 mM. Contudo, às soluções salinas foi adicionado a Spd, Spermidine Free Base Molecular Biology SIGMA S-0266. O pH da solução nutritiva e a condutividade elétrica também foram monitorados, conforme a metodologia do experimento acima citado.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados no esquema fatorial 2x2x4 (IAC Fava Larga e Caqui; Spd a 0 mM e 0,5 mM e 0; 20; 60 e 80 mM de NaCl), com cinco repetições por tratamento.

3.2. Coleta e preparo das amostras

Ao final do experimento (50 DAS), as plântulas foram cortadas na altura do colo, separando-se o sistema radicular da parte aérea. Para a determinação dos teores de glicina betaína foram pesadas alíquotas de 10% da massa fresca de raízes de cada repetição experimental. O restante das raízes foram, cuidadosamente, separadas acondicionadas em frascos contendo solução de álcool a 20% (v/v) e conservadas sob refrigeração, para as posteriores determinações de densidade (mm de raiz cm^{-3} de solução nutritiva), diâmetro médio (mm) e massa seca das raízes (g).

3.3. Avaliações bioquímico-fisiológicas

3.3.1. Crescimento inicial do sistema radicular

Para verificar os efeitos do estresse salino no crescimento inicial do sistema radicular de ambos genótipos de guandu, foram determinadas as variáveis densidade (mm de raiz cm^{-3} de solução nutritiva), diâmetro médio (mm) e massa seca das raízes (g).

Para a determinação da densidade e do diâmetro médio das raízes, foi utilizado o sistema de análise de imagens Delta-T Devices LTD. Para tanto, o sistema radicular de cada planta foi submetido à coloração com azul de metileno por aproximadamente dois minutos e, em seguida, as raízes foram dispostas sobre uma bandeja com água onde foi realizada a leitura da imagem por um scanner Hewlett Packard modelo 5C. A imagem de cada sistema radicular foi analisada pelo software Delta-T Scan Root Analysis System, que determina a densidade (mm de raiz cm^{-3}) e o diâmetro médio (mm) das raízes. O comprimento de raízes, utilizado para cálculo da densidade, foi mensurado pelo método de HARRIS & CAMPBELL (1989). A densidade das raízes foi calculada dividindo-se o

comprimento encontrado pelo volume de solução nutritiva (mm de raiz cm^{-3} de solução nutritiva).

Após a mensuração da densidade e do diâmetro médio, as raízes foram colocadas em saco de papel e levadas para secar em estufa de circulação forçada de ar em temperatura de 80°C . Para determinação da massa seca, foi utilizada uma balança analítica Denver Instrument Company AA-200, com precisão de 1×10^{-8} g.

3.3.2. Glicina betaína

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

Após 20 dias sob os diferentes tratamentos de salinidade e adição exógena de Spd (plântulas com idade de 50 dias), foi realizada a determinação dos teores de glicina betaína do sistema radicular dos genótipos de guandu, de acordo com a metodologia de GRIEVE & GRATTAN (1983).

Para tanto, as raízes de cada tratamento foram acondicionadas em sacos de papel, previamente, identificados e levados para secar em estufa de circulação forçada de ar a 80°C por 96 horas. A seguir, os extratos foram preparados com adição de 2 mL de água deionizada para 0,05 g de material moído. Salienta-se que, na metodologia dos autores acima citados podem ser utilizados 20 mL de água deionizada para 0,5 g de material moído. Como não havia material suficiente (massa seca moída) foi utilizada uma quantidade menor considerando a proporção de água deionizada utilizada. Subseqüentemente, os extratos permaneceram durante 24 horas sob agitação em temperatura de 25°C e após este período os extratos foram filtrados e armazenados a -17°C até a realização das análises.

Para a determinação da glicina betaína, os extratos foram descongelados e misturados na proporção de 1:1 com H_2SO_4 2N. Em seguida, foi mantida, em água gelada, uma alíquota de 0,5 mL, durante 1 hora. Previamente, foi preparado o

reagente KI-I₂ resfriado, sendo diluídos 15,7 g de iodo e 20 g de KI em 100 mL de água destilada. Deste reagente, 0,2 mL foi adicionado ao extrato e levemente agitado. Os tubos com os extratos foram mantidos à temperatura de 0 a 4°C durante 16 horas para finalizar a reação. Em seguida, os extratos foram centrifugados a 11872 x g /15 minutos a 0°C.

Ressalta-se que, o diodeto de potássio mais o extrato, na presença do ácido sulfúrico, formaram cristais de periodato-betaína os quais precipitaram. Estes cristais foram dissolvidos em 9,0 mL de 1,2-dicloroetano, após a retirada cuidadosa do sobrenadante com uma micropipeta. Após 2 horas e 30 minutos, foi realizada a leitura da absorvância no comprimento de onda de 365 nm no espectrofotômetro Beckman DU 640.

3.4. Tratamento estatístico

No estudo das características individuais, realizou-se a análise de variância pelo teste F, utilizando-se do teste de Tukey (BANZATTO & KRONKA, 2006) para a comparação entre médias dos fatores qualitativos: Genótipos (G) e Espermidina (Spd). A análise da regressão polinomial (BANZATTO & KRONKA, 2006) foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade do fator quantitativo, estresse salino (ES) e de suas interações com outros fatores.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Crescimento inicial do sistema radicular

Pela análise de variância (Tabela 2) do crescimento do sistema radicular dos genótipos de guandu, IAC Fava larga e Caqui, verifica-se que houve efeito significativo nos fatores qualitativos. Para o fator genótipos (G) somente houve efeito significativo para a avaliação do diâmetro das raízes. O teste de Tukey evidenciou que as raízes das plântulas apresentaram maior densidade e massa seca em Spd a 0 mM e maior diâmetro em Spd a 0,5 mM. Em condições de estresse salino, as plântulas podem compensar o reduzido crescimento em comprimento pelo maior engrossamento das raízes (expansão celular lateral ou alargamento celular), podendo amenizar, em tese, o efeito da deficiência hídrica induzido pelo estresse salino pela acentuada redução do potencial osmótico do substrato. Quando as raízes estão sob o estresse salino com NaCl, o excesso de íons Na^+ conduz ao estresse hídrico, causando nas plantas a redução da taxa de absorção de água, que influencia os processos de divisão e alongamento celular (TESTER & DAVENPORT, 2003; LIMA et al., 2004)

O fator quantitativo estresse salino (ES) apresentou efeito significativo em relação ao diâmetro, densidade e massa seca. Os efeitos da salinidade sobre as plantas podem ser resumidos em: seca fisiológica, redução do crescimento inicial e desequilíbrio nutricional devido à elevada concentração iônica (CHINNUSAMY & ZHU, 2004).

Nas interações, observa-se efeito significativo: GxSpd para diâmetro, GxES para diâmetro e massa seca e SpdxES para densidade e massa seca.

TABELA 2. Análise de variância e resultados do teste de Tukey do crescimento inicial do sistema radicular (diâmetro médio em mm, densidade em mm de raiz cm^{-3} de solução nutritiva e massa seca em g) de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena. Jaboticabal, SP. 2004-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios		
		Diâmetro	Densidade	Massa seca
Genótipos (G)	1	0,0029*	2,1853 ^{ns}	0,0018 ^{ns}
Espermidina (Spd)	1	0,0426**	108,9371**	0,0132**
Estresse salino (ES)	3	0,0436**	34,1306**	0,1751**
Interação GxSpd	1	0,0043**	1,5944 ^{ns}	0,0021 ^{ns}
Interação GxES	3	0,0038**	1,1106 ^{ns}	0,0092**
Interação SpdxES	3	0,0013 ^{ns}	4,8817**	0,0033**
Interação GxSpdxES	3	0,0010 ^{ns}	1,9329 ^{ns}	0,0008 ^{ns}
Resíduo	60	0,0006	1,1698	0,0006
C.V.%		6,1515	13,4378	12,7594

Genótipos	Médias e teste de Tukey		
	Diâmetro	Densidade	Massa seca
IAC Fava Larga	-	8,2141A	0,1878A
Caqui	-	7,8835A	0,1973A
Spd 0,0 mM	-	9,2157A	0,2054A
Spd 0,5 mM	-	6,8819B	0,1797B
DMS		0,4840	0,0110

Massa seca em g; Densidade em mm de raiz cm^{-3} de solução nutritiva; Diâmetro em mm; ns: não significativo ($P > 0,05$); *: significativo ($P < 0,05$); **: significativo ($P < 0,01$); C.V.: coeficiente de variação; Médias seguidas de mesma letra maiúscula na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Pelo teste de Tukey (Tabela 3), observa-se que para a interação GxSpd, em relação ao diâmetro das raízes, que ambos genótipos apresentaram aumento dessa variável com a adição de Spd a 0,5 mM, o que demonstra que sem a adição da poliamina há influência dos sais no crescimento da raiz. O estresse salino causa declínio significativo na produtividade vegetal devido, geralmente, ao excesso de íons sódio (Na^+), embora muitos outros elementos possam contribuir para a salinização dos solos, como Ca, Mg, K, Cl, S e o íon carbonato (Pizarro, 1978 citado por FREIRE, 2000). Comparando-se os genótipos, observa-se que IAC Fava larga apresentou menor diâmetro que o genótipo Caqui com Spd a 0 mM. O aumento do diâmetro com a adição de Spd a 0,5 mM pode estar relacionado à produção de etileno, através da SAM, pois poderá ser sintetizado com a degradação da glicina betaína, como propõe o esquema da via metabólica da colina apresentado por MUNÔZ-CLARES & VELASCO-GARCIA (2004)

Na análise regressão polinomial para o desdobramento da interação GxES (Tabela 4), observa-se, para a variável massa seca, que o genótipo IAC Fava Larga apresentou o componente de terceiro grau significativo e o genótipo Caqui o de segundo grau significativo. O genótipo Caqui demonstrou (Figura 2) uma diminuição de massa seca acentuada com o aumento dos níveis salinos, enquanto IAC Fava larga apresentou maiores teores de massa seca entre os níveis salinos de 20 e 60 mM. Esse comportamento corrobora com a evidência apresentada nos teores de glicina betaína, onde esses teores também foram maiores nesses níveis salinos. De fato, se houve um ajustamento osmótico, as células radiculares mantiveram a turgescência celular, estabilização de proteínas e estruturas celulares mesmo em estresse salino (BRAY et al., 2001) e, por isso houve aumento da massa seca mesmo na presença da salinidade. Para a variável diâmetro (Tabela 5), o desdobramento da interação GxES, mostra regressões linear e cúbica significativas. Na regressão linear (Figura 3) pode-se observar que as plântulas de Caqui sob 0 mM de NaCl possuíam maior diâmetro que IAC Fava Larga e sob tratamento com níveis salinos ocorreu acentuado decréscimo nessa variável para o genótipo Caqui. Esse comportamento pode estar demonstrando a

maior sensibilidade desse genótipo ao estresse salino. O excesso de Na^+ conduz ao estresse hídrico, causando nas plantas a redução da taxa de absorção de água, que influencia os processos de divisão e alongamento celular (LIMA et al., 2004).

Tabela 3. Teste de Tukey para o diâmetro (mm) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena (Spd 0,5 mM). Jaboticabal, SP. 2004-2006.

Teste de Tukey		
Espermidina	Diâmetro (mm)	
(Spd)	Genótipos de Guandu	
	IAC Fava Larga	Caqui
0,0 mM Spd	0,3558 bB	0,3826 bA
0,5 mM Spd	0,4167 aA	0,4141 aA
DMS	0,0153	

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

Tabela 4. Regressão polinomial do desdobramento da interação GxES de massa seca (g) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino. Jaboticabal, SP. 2004-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Massa Seca (g)	
		Genótipos de Guandu	
		IAC Fava Larga	Caqui
R.L. para Estresse Salino	1	0,0471**	0,3756**
R.Q. para Estresse Salino	1	0,0957**	0,0087**
R.C. para Estresse Salino	1	0,1002**	0,0003 ^{ns}
Resíduo	60	0,0006	

^{ns} não significativo ($P > 0,05$); **significativo a 1% ($P < 0,01$); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica.

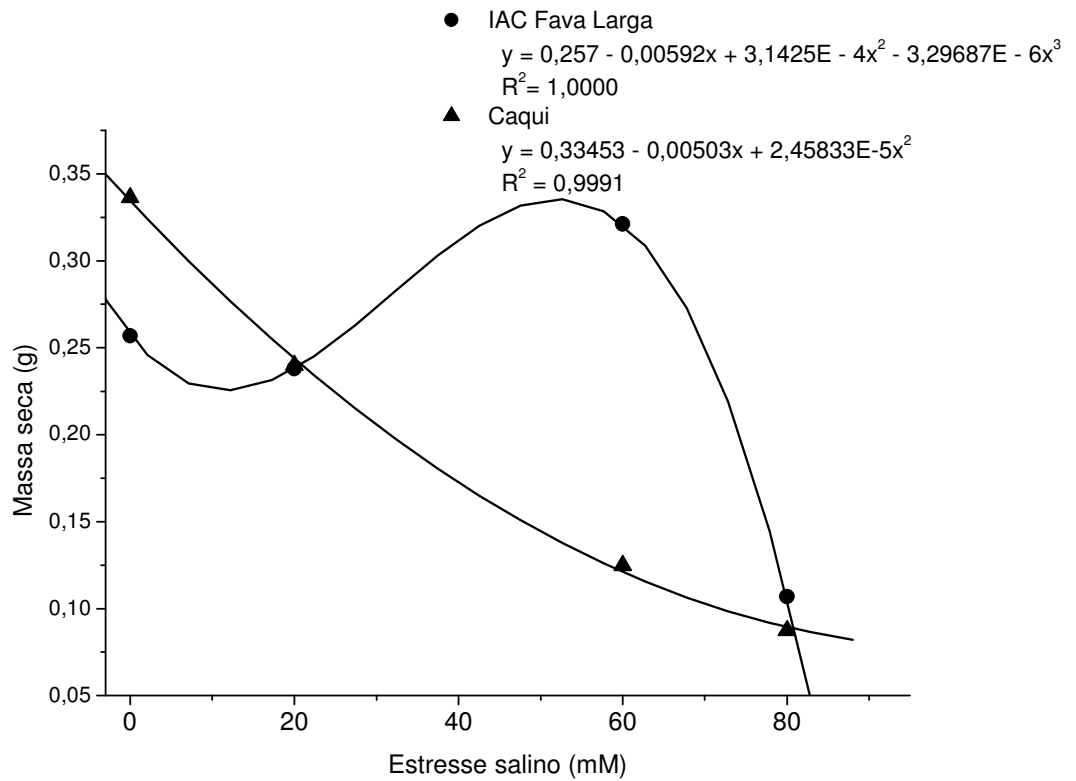


Figura 2. Massa seca (g) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino. Jaboticabal, SP, 2004-2006.

Tabela 5. Regressão polinomial do desdobramento da interação GxES de diâmetro (mm) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino. Jaboticabal, SP, 2004-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Diâmetro (mm)	
		Genótipos de Guandu	
		IAC Fava Larga	Caqui
R.L. para Estresse Salino	1	0,0359**	0,0898**
R.Q. para Estresse Salino	1	0,0027 ^{ns}	0,0023 ^{ns}
R.C. para Estresse Salino	1	0,0042**	0,0074**
Resíduo	60	0,0006	

^{ns} não significativo ($P > 0,05$); **significativo a 1% ($P < 0,01$); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica.

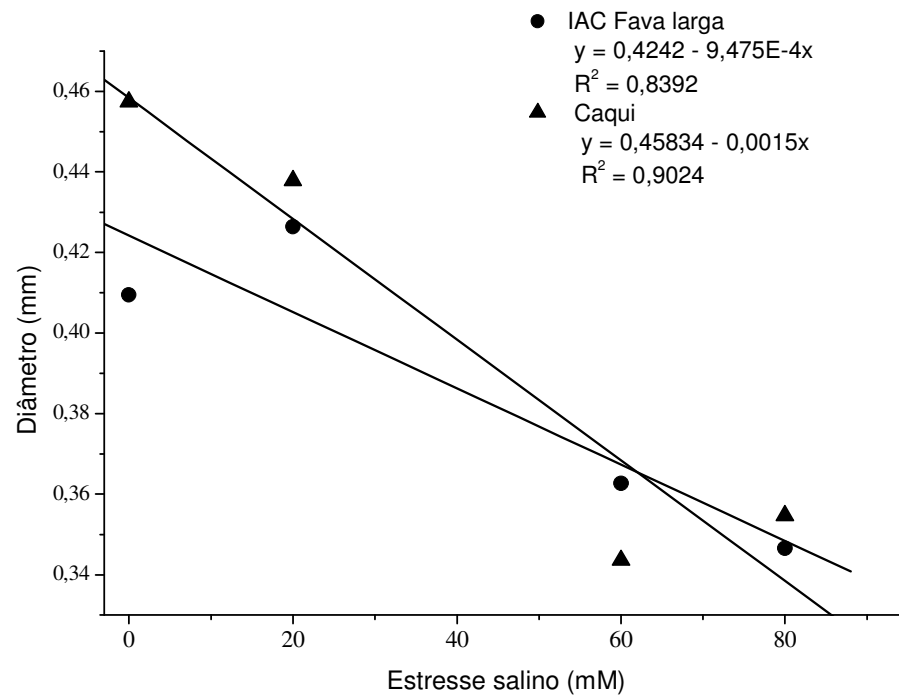


Figura 3. Diâmetro (mm) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino. Jaboticabal, SP, 2004-2006.

Na variável densidade para o desdobramento da interação SpdxES, a regressão polinomial (Tabela 6) evidenciou para Spd a 0 mM uma tendência quadrática e para Spd a 0,5 mM tendência linear para os seus componentes. Houve (Figura 4) um efeito negativo com a adição de Spd a 0,5 mM, pois a densidade foi maior nas plântulas com Spd a 0 mM.

Na interação SpdxES, para a variável massa seca (Tabela 7), na análise polinomial observa-se que houve tendência linear significativa para ambos tratamentos com Spd. Em massa seca ocorreu (Figura 5) um decréscimo acentuado da massa seca nos níveis de estresse salino nos tratamentos com Spd. Esse decréscimo demonstra que a poliamina, provavelmente, não tenha causado atenuação do estresse salino. Isto é muito interessante, pois a adição exógena de poliaminas induz a recuperação do crescimento sob estresse abiótico (COLLI, 2004).

Tabela 6. Regressão polinomial do desdobramento da interação SpdxES da densidade (mm cm^{-3} de solução nutritiva) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena. Jaboticabal, SP, 2004-2006.

Causa da Variação	G.L	Quadrados Médios	
		Densidade (mm cm^{-3} de solução nutritiva)	
		Espermidina (Spd)	
		0,0 mM Spd	0,5 mM Spd
R.L. para Estresse Salino	1	81,5355**	24,7526**
R.Q. para Estresse Salino	1	6,2016*	0,2786 ^{ns}
R.C. para Estresse Salino	1	4,2523 ^{ns}	0,0163 ^{ns}
Resíduo	60	1,1698	

^{ns} não significativo ($P > 0,05$); **significativo a 1% ($P < 0,01$); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica

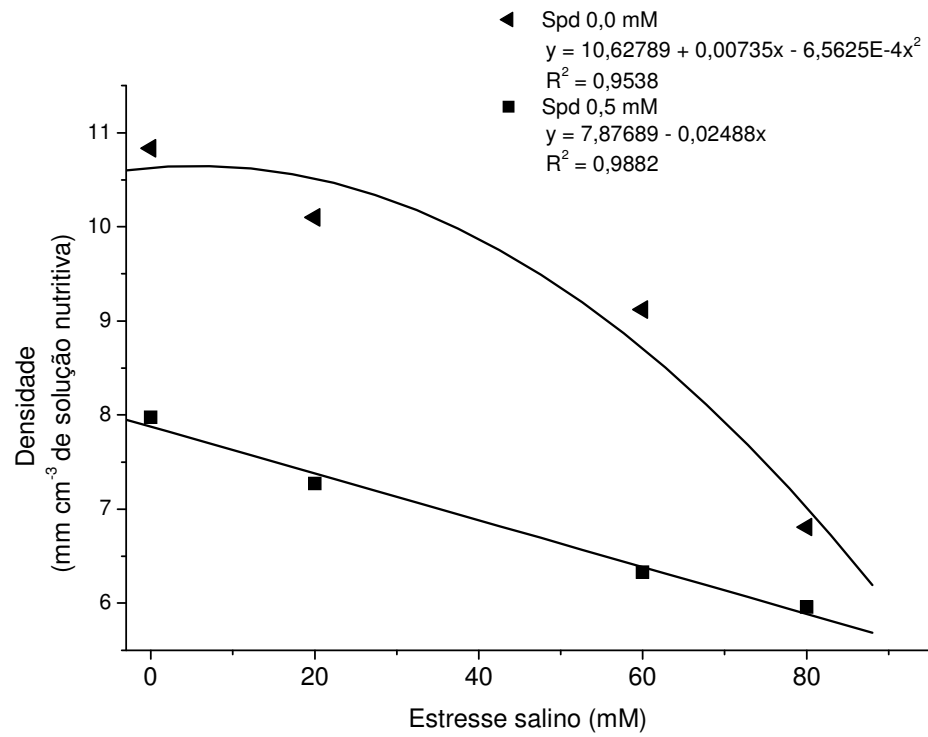


Figura 4. Densidade (mm cm⁻³ de solução nutritiva) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino. Jaboticabal, SP, 2004-2006

Tabela 7. Regressão polinomial do desdobramento da interação SpdxES de massa seca (g) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena. Jaboticabal, SP, 2004-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Massa Seca (g)	
		Espermidina (Spd)	
		0 mM Spd	0,5 mM Spd
R.L. para Estresse Salino	1	0,3369**	0,1946**
R.Q. para Estresse Salino	1	0,0011 ^{ns}	0,0021 ^{ns}
R.C. para Estresse Salino	1	0,0000 ^{ns}	0,0003 ^{ns}
Resíduo	60	0,0006	

^{ns} não significativo (P>0,05); **significativo a 1% (P < 0,01); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica.

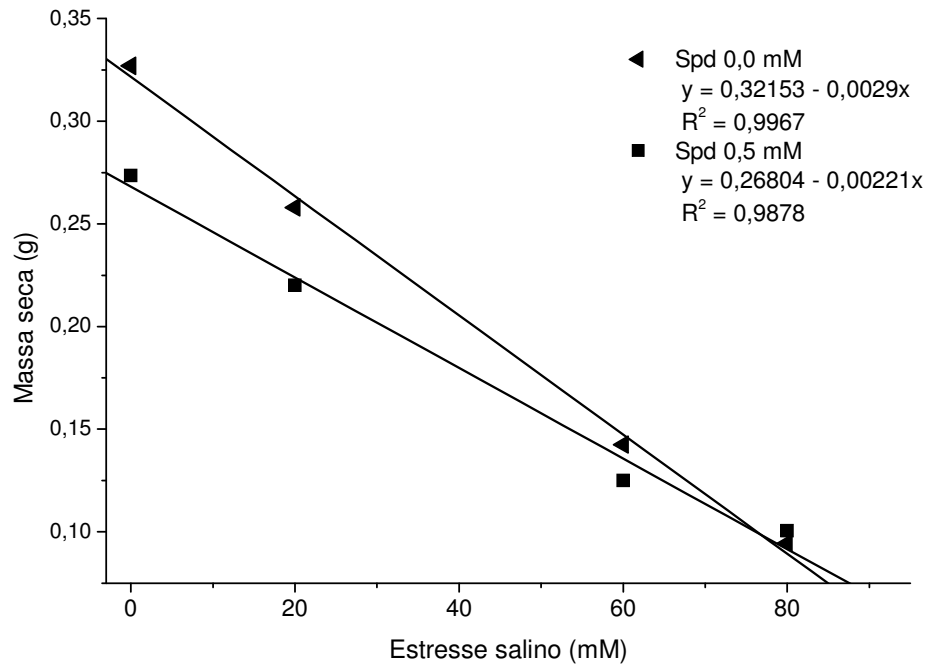


Figura 5. Massa seca (g) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena (Spd 0,5 mM). Jaboticabal, SP, 2004-2006.

4.2. Teores de glicina betaína

De acordo com a análise de variância (Tabela 8) dos teores de glicina betaína do sistema radicular dos genótipos de guandu, IAC Fava larga e Caqui, houve efeito significativo somente para o estresse salino (ES), para as interações genótipos e Spd (GxSpd) e genótipos e estresse salino (GxES).

Pelo teste de Tukey observa-se que, para a interação genótipos e Spd (Tabela 9) houve aumento acentuado de glicina betaína em IAC Fava larga no tratamento com 0,5 mM de Spd, quando comparado com o genótipo Caqui. O tratamento simultâneo com poliamina exógena atenuou o efeito do estresse salino, corroborando que as poliaminas desempenham funções essenciais na tolerância das plantas ao estresses ambientais (KASUKABE et al., 2004). Ainda, a aplicação exógena de poliaminas pode manter a integridade celular das raízes sob estresse salino (ZHAO & QIN, 2004).

Pelo teste de Tukey verifica-se que, houve diferença nos teores de glicina betaína para ambos os genótipos de guandu (Tabela 10), revelando que, conforme ocorreu o aumento do estresse salino no substrato, ocorreu acentuado decréscimo dos teores de glicina betaína, tanto para IAC Fava Larga e Caqui, respectivamente, em 20 mM e em 80 mM. Na concentração de 60 mM de NaCl, a redução da amina quaternária indicou valores intermediários. Por outro lado, é interessante notar que, houve diferença entre ambos genótipos, evidenciando que o IAC Fava Larga que, previamente, continha menor teor de glicina betaína, sob condições adversas das concentrações de estresse salino moderado (20mM e 60 mM), mostrou um incremento de glicina betaína comparando-se com o Caqui, que evidenciou menor quantidade de glicina betaína (Tabela 10). Este resultado também ocorre em plantas de arroz sob estresse salino, sendo observado que esta cultura possui baixíssima capacidade para acumular glicina betaína atuando com baixa intensidade na osmoproteção celular aos sais (CHA-UM et al., 2006).

Tabela 8. Análise de variância dos teores de glicina betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena. Jaboticabal, SP. 2004-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios
		Glicina Betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)
Genótipos (G)	1	208,1531 ^{ns}
Espermidina (Spd)	1	0,9434 ^{ns}
Estresse salino (ES)	3	4548,1378 ^{**}
Interação GxSpd	1	317,6707 [*]
Interação GxES	3	258,4370 ^{**}
Interação SpdxES	3	148,3666 ^{ns}
Interação GxSpdxES	3	37,4828 ^{ns}
Blocos	4	54,1261 ^{ns}
Resíduo	60	54,3750

^{ns} não significativo ($P>0,05$); ^{**}significativo a 1% de probabilidade ($P<0,01$);
^{*}significativo a 5% de probabilidade ($P<0,05$); CV%=5,8150

Tabela 9. Teste de Tukey dos teores de glicina betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino associado à poliamina exógena. Jaboticabal, SP. 2004-2006.

Espermidina (Spd)	Teste de Tukey	
	Glicina Betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)	
	Genótipos de Guandu	
	IAC Fava Larga	Caqui
0,0 mM Spd	126,5376aA	127,2970aA
0,5 mM Spd	130,3059aA	123,0944aB
DMS	4,6663	

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

Tabela 10. Teste de Tukey dos teores de glicina betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino. Jaboticabal, SP. 2004-2006.

Estresse Salino	Teste de Tukey	
	Glicina Betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)	
	Genótipos de Guandu	
NaCl (mM)	IAC Fava Larga	Caqui
0 mM	144,7135 B	152,2280 A
20 mM	129,4690 A	121,8204 B
60 mM	120,7803 A	114,0929 B
80 mM	118,7243 A	112,6413 A
DMS	8,7211	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na horizontal (entre genótipos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Ainda, salienta-se que, no estresse salino mais severo (80mM), ambos genótipos de guandu não diferiram na quantidade deste composto.

O estudo da regressão polinomial dos níveis de estresse salino corrobora com os resultados apresentados pelo teste de Tukey, evidenciando que a regressão quadrática do genótipo IAC Fava Larga foi menos acentuada que a do Caqui (Tabela 11). Embora a tendência seja de redução dos teores de glicina betaína (Figura 6), no IAC Fava larga houve significativo aumento de glicina

Tabela 11. Regressão polinomial do desdobramento da interação GxES dos teores de glicina betaína (μmol massa seca g^{-1}) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino. Jaboticabal, SP, 2004-2006.

Causa da Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Glicina betaína (μmol massa seca g^{-1})	
		Genótipos de Guandu	
		IAC Fava Larga	Caqui
R.L. para Estresse Salino	1	3680,4121**	7551,7317**
R.Q. para Estresse Salino	1	434,8413**	2096,1104**
R.C. para Estresse Salino	1	74,1614 ^{ns}	582,3341**
Resíduo	60	54,3750	

^{ns}não significativo ($P > 0,05$); **significativo a 1% ($P < 0,01$); R.L.: regressão linear; R.Q.: regressão quadrática; R.C.: regressão cúbica

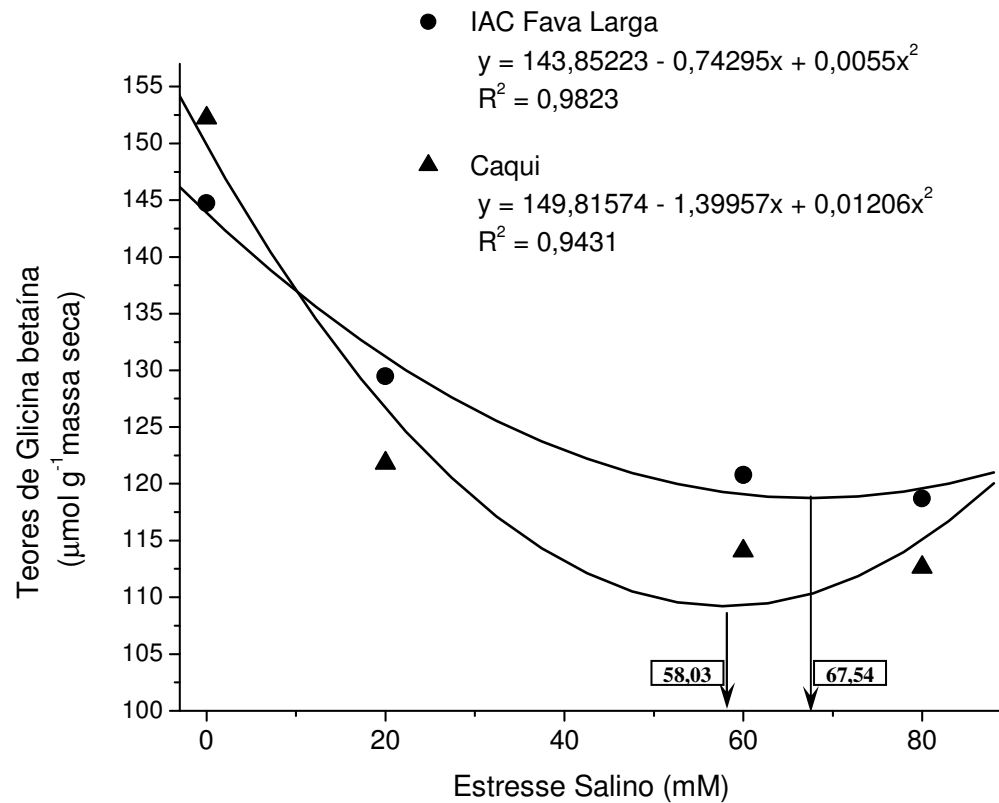


Figura 6. Teores de glicina betaína ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca) do sistema radicular de genótipos de guandu, IAC Fava Larga e Caqui, sob efeito do estresse salino. Jaboticabal, SP, 2004-2006.

betaína nas raízes sob estresse salino (118,76 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa seca de glicina betaína em 67,54 mM de NaCl) que o Caqui (109,21 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa seca de glicina betaína em 58,03 mM de NaCl), inferindo que, provavelmente, este genótipo seja incapaz e/ou com baixa capacidade de sintetizar betaínas que promovam a tolerância à salinidade (KJELL-OVE et al., 2000), como ocorre em arroz, tabaco, cenoura, mostarda entre outras importantes culturas (RHODES & HANSON, 1993; CHA-UM et al., 2006).

A principal função da glicina betaína é, provavelmente, proteger as células das plantas sob estresse salino pelo mecanismo de ajustamento osmótico (Gadallah, 1999 citado por CHA-UM et al., 2006), atuando como um osmoprotetor (BRAY et al., 2001; BAYUELO-JIMÉNEZ et al., 2002), isto é a célula torna-se apta a acumular solutos que não interferem na redução do potencial hídrico celular (ψ) durante os períodos de estresse osmótico (TESTER & DAVENPORT, 2003; MUNNS, 2005). Ainda, a glicina betaína, geralmente, atua como molécula sinalizadora que induz à expressão de genes associados à tolerância ao estresse salino (KJELL-OVE et al., 2000). Desta forma, a quantificação dos teores de glicina betaína pode ser uma ferramenta importante na investigação da tolerância de genótipos de guandu ao estresse salino.

Os dados do presente trabalho evidenciaram que a aplicação exógena de Spd na concentração de 0,5 mM não foi favorável ao crescimento inicial das raízes de guandu. Também, independentemente da Spd, no sistema radicular a glicina betaína, de modo geral, não pode ser considerada osmólito compatível em células radiculares de ambos genótipos de guandu.

5. CONCLUSÕES

- O diâmetro do sistema radicular do genótipo Caqui foi, significativamente, maior que o da IAC Fava Larga.
- A adição de Spd causou aumento no diâmetro do sistema radicular da IAC Fava Larga.
- A adição de Spd provocou redução da densidade e massa seca do sistema radicular de ambos genótipos de guandu
- O estresse salino reduziu, acentuadamente, o diâmetro e a massa seca do sistema radicular de ambos genótipos de guandu.
- A glicina betaína pode ser considerada um marcador bioquímico-fisiológico no sistema radicular do genótipo IAC Fava Larga sob estresse salino de 20 mM a 60 mM.
- A adição de Spd a 0,5 mM causou aumento nos teores de glicina betaína no sistema radicular do genótipo IAC Fava Larga comparando com o Caqui.
- As raízes do genótipo IAC Fava Larga foram menos sensíveis ao estresse salino comparadas às do Caqui.

6. REFERÊNCIAS

ABRUNA, F.; RIVERA, E.; RODRIGUEZ GARCIA, J. A. Crop response to soil acidity factors in Ultisols and Oxisols in Puerto Rico. **The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, Río Pedras, v. 68, p. 433-443, 1984.

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

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

ALVES, S. J.; MEDEIROS, G. B. Leguminosas em renovação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DE PASTAGENS, 3., 1997, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 1997. p. 251-272.

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

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

BABU, R. C.; PATHAN, M. S; BLUM, A.; NGUYEN, H. T. Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivar. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 150-158, 1999.

BAIS, H. P.; RAVISHANKAR, G. A. Role of polyamines in the ontogeny of plants and their biotechnological applications. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 69,p. 1-34, 2002.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 24, n. 1, p. 23-58, 2005.

BAYER, C.; MARTIN NETO, L.; MIELNICZUK, J.; PILLON, C. N.; SANGOI, L. Changes in soil organic matter fractions under subtropical no-till cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, n. 5, p. 1473-1478, 2001

BAYUELO-JIMÉNEZ; J. S.; DEBOUCK, D. G.; LYNCH, J. P. Salinity tolerance in *Phaseolus* species during early vegetative growth. **Crop Science**, Madison, v. 42, p. 2184-2192, 2002.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. (eds). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. 3a Impressão. 2001. **American Society of Plant Physiologists**, Rockville, Cap.22, p. 1167-1168.

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

CHINNUSAMY, V.; ZHU, J. K. Plant salt tolerance. In: Hirt, H.; Shinozaki, K. (eds.). *Plant Response to Abiotic Stress*. Series: **Topics in Current Genetics**. Publisher: Springer-Verlag berlin Heidelberg. v. 4, cap. 9, p. 241-261, 2004, XIV,p. 300.

COAN, L. F. B.; SENA, C.; BIANCO, D.; LICHTENBERG, P. S. F.; MILLER, P. R. M.; PEREIRA, A. A. A.; COMIM, J. J. **Recuperação de área degradada por construção de rodovia na praia mole, Florianópolis, SC**. UFSC, 2004. UFSC, Florianópolis, SC. Disponível em:<http://www.extensio.ufsc.br/20041/artigos_pdfs/CCA_Jucinei_Comin.pdf>.

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

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**. 3ª Impressão. 2001. Rockville. American Society of Plant Physiologists. Cap. 17, p. 911-915

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Germoplasma forrageiro para a formação de pastagens**, Rondônia, 2004.

FAVORETTO, V.; RODRIGUES, L. R.; CHIARELLO, A. G.; SAMPAIO, A. A. M.; VIEIRA, P. F.; MALHEIROS, E. B. Animal production from grasslands. Beef production in Guineagrass pastures with nitrogen or legumes. *In*: **Association Francaise pour la Production Fourragere**, Versailles (France). 16. International grassland congress, 4-11 October 1989, Nice (France). 16. Congres international des herbages, 4-11 octobre 1989, Nice (France). Versailles (France). AFPP. 1989. p. 1203-1204.

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: fisiologia**, curso experimental. São Paulo: Melhoramentos, Editora USP, 1974. 126 p.

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

FREIRE, A. L. de O. **Fixação do nitrogênio, crescimento e nutrição mineral de leucena sob condições de salinidade**. 2000. 92 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

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

- GONELA, A. **Tolerância ao NaCl em variedades de *Stylosantes guianensis* (Aubl.) Sw.** 1999. 128 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Genética e melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.
- GOYAL, S. S.; SHARMA, S. K.; RAINS, D. W. (Eds.). **Food Products.** Binghamton. Haworth Press, 2002. 452 p.
- GRIEVE, C. M.; GRATTAN, S. R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, The Hague, v. 70, p. 303-307, 1983.
- HARRIS, G. A.; CAMPBELL, G. S. Automated quantification of roots using a simple image analyser. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 935-938, 1989.
- HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, p. 463-499, 2000.
- HOLANDA, J. S. de. **Manejo de solo salino-sódico na região do baixo Açu-RN.** 1996. 84 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996
- INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS-IAC. **Guandu IAC Fava Larga.** Campinas, 1989. Não paginado. Boletim Técnico.
- KASINATHAN V.; WINGLER, A. Effect of reduced arginine decarboxylase activity on salt tolerance and on polyamine formation during salt stress in *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 121, p. 101-107, 2004
- KASUKABE, Y.; HE, L.; NADA, K.; MISAWA, S.; IHARA, I.; TACHIBANA, S. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v. 45, n. 6, p. 712-722, 2004

KJELL-OVE, H.; SOMERSALO, S.; MANDAL, A.; TAPIO, E.; PALVA, T. E.; WELIN, B. Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 343, p. 177-185, 2000.

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

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: R. Ma Artes e Textos, 2000. p. 215-220.

Le RUDULIER, D.; STROM, A. R.; DANDEKAR, A. M.; SMITH, L. T.; VALENTINE, R. C. Molecular biology of osmoregulation. **Science**, v. 224, p. 1064-1068, 1984.

LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 3, p. 335-340, 2004.

MANSOUR, M. M. F., SALAMA, K. H. A., AL-MUTANA, M. M., ABOUD HADID, A. F. Effect of NaCl and polyamines on plasma membrane lipids of wheat roots. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 45, n. 2, p. 235-239, 2002.

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

MELONI, D. A.; GULOTTA, M. R.; MARTINEZ, C. A.; OLIVA, M. A. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n. 1, p. 39-46, 2004.

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

- MUNNS, R.; JAMES, R. A.; LÄUCHLI, A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 5, p. 1025-1043, 2006.
- MUNÔZ-CLARES, R. A. ; VELASCO-GARCIA. R. Genio y figura de la betaína aldehído Deshidrogenasa. **Mensaje Bioquímico**, México, v. 28, p. 203-223, 2004.
- NDAYIRAGIJE, A.; LUTTS, S. Exogenous putrescine reduces sodium and chloride accumulation in NaCl-treated calli of the salt-sensitive rice cultivar I Kong Fao. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, n. 48, p. 51-63, 2006.
- NENE, Y. L.; HALL, S. D.; SHEILA, U. K. **The pigeonpea**. Cambridge: CAB, 1990. 490 p.
- NETO, A. D. A.; TABOSA, J. N. Estresse salino em plântulas de milho: parte I análise do crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, DEAg/UFPB., v. 4, n. 2, p. 159-164, 2000.
- PONS, L. Pigeonpea may fill seasonal forage gap. ARS News Service, Agricultural Research Service, 2002. Disponível em <http://www.ars.usda.gov/is/pr/2002/020806.htm>.
- RAO, S. C.; COLEMAN, S. W.; MAYEUX, H. S. Forage production and nutritive value of selected pigeonpea ecotypes in the Southern Great Plains. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 4, p. 1259-1263, 2002.
- RHODES, D.; HANSON, A. D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 44, p. 357-384, 1993.
- SAKAMOTO, A.; MURATA, N. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, p. 163-171, 2002.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1992. 682 p.

SANTOS, C. A. F.; ARAÚJO, F.P. de; MENEZES, E. A. Avaliação de genótipos de guandu em diferentes ciclos e portes no sertão pernambucano. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 12, n. 1/2, s/p. 2000.

SEIFFERT, N. A.; MONDARDO, E.; SALERNO, A. R.; MIRANDA, M. O potencial do guandu. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 1, n. 4, p. 18-20, 1988.

SILVA, F. A. M.; MELLONI, R.; MIRANDA, J. R. P.; CARVALHO, J. G. Efeito do estresse salino sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) cultivadas em solução nutritiva. **CERNE**, v. 6, n. 1, p. 52-59, 2000.

SIRONI, M.; FORNILI, A.; FORNILI, S. L. Water interaction with glycine betaine : A hybrid QM/MM molecular dynamics simulation. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Cambridge, v. 3, n. 6, p. 1081-1085, 2001.

SOPORY, S. K. **Book Reviews:** Crop Production in Saline Environments. **Current Science**, v. 86, n. 7, p. 1028, 2004.

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

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

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

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.

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

USDA-United States Department of Agriculture. **Glycine betaine project**. 2004. Disponível em: <<http://www.hos.ufl.edu/meteng/HansonWebpagecontents/GlycineBetaineProject.html>>.

VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G.; MELO, A. R. B.; Lima Junior, A.; Queiroz, J. E. Effects of NaCl-salinity on growth and inorganic accumulation of young cashew plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 216-222, 2001.

WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Berlin, v. 218, n. 1, p. 15-26, 2003.

WOLF SEEDS DO BRASIL. FEIJÃO GUANDU. Disponível em: <http://www.wolfseeds.com.br/_feijaoguandu.htm>.

WUTKE, E. B. **Caracterização fenológica e avaliação agrônômica de genótipos de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)**. 1987. 164 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.

YANG, W. J.; RICH, P. J.; AXTELL, J. D.; WOOD, K. V.; BONHAM, C. C.; EJETA, G.; MICKELBART, M. V.; RHODES, D. Genotypic variation for glycinebetaine in sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 162-169, 2003.

YOKOI, S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. Salt Stress Tolerance of Plants. **JIRCAS Working Report**, Tsukuba, p. 25-33, 2002.

ZHAO, F. G.; QIN, P. Protective effect of exogenous polyamines on root tonoplast function against salt stress in barley seedlings. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 42, p. 97-103, 2004.