

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

**“PUTRESCINA EXÓGENA EM SEMENTES DE GUANDU
SOB ESTRESSE HÍDRICO E SALINO”**

Juliana Geseíra Monteiro

Engenheiro Agrônomo

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2013**

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

**“PUTRESCINA EXÓGENA EM SEMENTES DE GUANDU SOB
ESTRESSE HÍDRICO E SALINO”**

Juliana Geseíra Monteiro

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 Produção Vegetal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2013

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JULIANA GESEÍRA MONTEIRO – nascida em 20 de Fevereiro de 1986, na cidade de Silvânia, Goiás. Ingressou no curso de Agronomia em 2006, na Universidade Estadual de Goiás Campus de Ipameri, obtendo o título de Engenheiro Agrônomo em 16 de Agosto de 2010. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica do PIBIC, de 2008 a 2009. Em 2008 a 2010 estagiou na Embrapa Hortaliças – Gama-DF, na área de Fitotecnia. Em Agosto de 2010 ingressou no curso de Mestrado em Produção Vegetal, do Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP) Campus Jaboticabal (bolsista CAPES). Em Abril de 2012 começou a trabalhar na Secretaria da Agricultura e Abastecimento de Jaboticabal – SP.

*Senhor Tu me sondas, e me conheces.
Tu conheces o meu sentar e levantar; de
longe estendes o meu pensamento.
Esquadrinhas o meu andar, e
o meu deitar, e conheces todos os meus caminhos.
Sem que haja uma palavra na minha língua, eis que ,
ó Senhor, tu conheces.
Tu me cercaste em volta, e puseste sobre mim a tua mão.
Eu te louvarei, porque de um modo tão admirável
e maravilhoso fui formado; maravilhosas são as
tuas obras, e a minha alma o sabe muito bem.
Salmos 139, vers.: 1-5 e 14*

*A Deus pelo espetáculo da vida. Pelos momentos felizes e de dificuldades
que contribuíram para minha formação humana e acadêmica*

AGRADEÇO

*Aos meus maravilhosos pais José Roberto Monteiro e Vânia Bueno de Souza
Monteiro e aos meus irmãos José Roberto Monteiro Júnior e Robson Anderson
Monteiro e sobrinhas Tayla Monteiro e Mariana Monteiro pelos ensinamentos, apoio
e amor incondicional, responsáveis pelo meu sucesso.
Juntos vencemos mais uma etapa*

*DEDICO***AGRADECIMENTOS**

À Deus, pelo dom da vida e pela oportunidade de aprender e a crescer a cada dia;
A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Durvalina Maria Mathias dos Santos por não medir esforços ao transmitir conhecimentos, tanto como professora como orientadora, pela confiança, apoio, amizade, preocupação e paciência durante estes dois anos de convivência;

A FUNDUNESP e a CAPES, pelo apoio financeiro;

À Sônia Maria Raymundo Carregari, técnica do laboratório de Fisiologia Vegetal, por todos os momentos maravilhosos que vivemos, pela sua dedicação, apoio, preocupação e amizade;

A Família Meni, Stela, Vanderson, Ricardo, Marilza, Ariel e Joana pela direção espiritual e por ter me acolhido com tanto carinho e amor;

Aos amigos da Igreja Comunidade Cristã, Pastores Eduardo e Mauréa, Nando, Sônia, Elton, Adolfo, Crix, Aninha, Lucas, Jesuíno, Liziane, Nilva, Kálita e Marcos pela comunhão e amizade;

Ao Prof. Dr. José Carlos Barbosa pela ajuda no trabalho;

Aos amigos do laboratório de Fisiologia Vegetal, Flávio, Mariana, Jéssica Silva, Jéssica Servidone, Vanessa e Taís por toda sabedoria, alegria e trabalho em equipe;

A todos aqueles que de forma direta ou indireta possibilitaram a concretização deste trabalho;

A todos, o meu reconhecimento e gratidão;

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1. Guandu: leguminosa forrageira.....	4
1.1. Cultivares de Guandu	6
1.1.1. cv. Caqui.....	6
1.1.2. cv. BRS Mandarin	6
1.2. Estresses abióticos	7
1.2.1. Germinação de sementes e estresses abióticos	8
1.2.1.1. Estresse salino.....	9
1.2.1.2. Estresse hídrico	10
1.2. Poliaminas	11
1.2.1. Putrescina.....	13
1.3. Prolina livre	14
III. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Instalação e condução experimental	17
3.2. Tratamentos utilizados e avaliações	17
3.2.1. Estresse hídrico.....	17
3.2.2. Estresse salino	18
3.2.3. Ensaios de germinação	18
3.2.4. Teores de prolina livre	19
3.3. Tratamentos estatístico	19
IV.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1. Germinação de sementes de guandu sob estresse salino e hídrico	21
4.2. Acúmulo de prolina e crescimento inicial	27
V. CONCLUSÕES.....	38
VI. REFERÊNCIAS	39

LISTAS DE TABELAS

Página

Tabela 1. Análises de variância da germinação de sementes (%) de duas cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob estresse salino e hídrico, com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.....	31
Tabela 2. Médias do teste de Tukey da germinação de sementes (%) de duas cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob diferentes tratamentos de potencial osmótico com e sem adição de putrescina (Put). Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.....	32
Tabela 3. Análises de variância dos teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de duas cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob estresse salino e hídrico PEG 6.000, com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.....	37
Tabela 4. Teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) da parte aérea e raízes primárias de duas cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob estresse salino (NaCl), com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.....	39
Tabela 5. Teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula g^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de duas cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º após a semeadura, sob estresse hídrico (PEG) com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013...	42

LISTA DE FIGURAS

Página

- Figura 1. Germinação de sementes de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob estresse salino (NaCl) com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.....29
- Figura 2. Germinação de sementes de guandu cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob deficiência hídrica com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.....30
- Figura 3. Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de guandu cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob efeito de estresse salino. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.....34
- Figura 4. Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de guandu cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob deficiência hídrica. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.....36
- Figura 5. Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula g^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de guandu 0,0 mM de putrescina e 0,5 mM de putrescina, no 10º dia após a semeadura, sob deficiência hídrica, com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013..... 37

RESUMO - Os objetivos deste trabalho foram: avaliar germinação, teores de prolina e crescimento inicial das plúmulas e raízes primárias dos genótipos de guandu, BRS Mandarin e Caqui, sob efeito do estresse salino e estresse hídrico associado à poliamina exógena (putrescina) visando, nestes genótipos, verificar a utilização da prolina como marcador bioquímico-fisiológico à salinidade e potencial hídrico e o efeito atenuante da putrescina (Put) quando associada ao estresse salino e hídrico. Dois experimentos foram conduzidos, utilizando o delineamento experimental inteiramente casualizado no esquema fatorial 2x6x2 (BRS Mandarin e Caqui; 0,0; 20; 40; 60; 80 e 120 mM de NaCl e 0,0 mM e 0,5 mM de Put). Para o estresse hídrico o esquema fatorial 2x5x2 (BRS Mandarin e Caqui; 0,0; -0,2; -0,3; -0,4; -0,5 MPa de PEG e 0,0 mM e 0,5 mM de Put). Os resultados evidenciaram que o estresse salino e hídrico reduzem a germinação de sementes e o crescimento inicial de ambas as cultivares de guandu. A putrescina exógena atenua os efeitos deletérios apenas do estresse salino na germinação de sementes de ambas as cultivares de guandu. Os estresses salino e hídrico causam acúmulo de prolina podendo ser considerado osmólito indicador bioquímico-fisiológico dos efeitos destes estresses em plântulas de ambas as cultivares de guandu. A putrescina exógena causa acúmulo de prolina nas plântulas de ambas as cultivares de guandu sob estresse salino e apenas nos níveis moderados de estresse hídrico. O maior crescimento da cv. BRS Mandarin com putrescina exógena não está relacionado com o maior conteúdo de prolina.

Palavras chave: salinidade, forrageira, leguminosa, potencial osmótico, solutos compatíveis.

ABSTRACT - The objectives of this study were to evaluate germination, growth and proline contents of plumule initial and primary roots of the pigeon pea cultivars BRS Mandarin and Caqui under salt stress and water stress associated with exogenous polyamine (putrescine) order, these cultivars, check the use of proline as a marker biochemical-physiological salinity and water potential and the dampening effect of putrescine (Put) when associated to salt stress and drought. Two experiments were conducted using a completely randomized design in a factorial 2x6x2 (BRS Mandarin and Caqui, 0.0, 20, 40, 60, 80 and 120 mM NaCl and 0.0 mM and 0.5 mM Put) . For the water stress 2x5x2 factorial (BRS Mandarin and Caqui, 0.0; -0.2, -0.3, -0.4, -0.5 MPa PEG and 0.0 mM and 0.5 mM of Put). The results showed that salt stress and drought reduce seed germination and early growth of both varieties of pigeonpea. The exogenous putrescine only mitigates the deleterious effects of salt stress on seed germination of both cultivars of pigeon pea. The salt and water stresses cause accumulation of proline may be considered osmolyte physiological-biochemical indicator of the effects of stress on the seedlings of both cultivars of pigeon pea. The cause exogenous putrescine accumulation of proline in the seedlings of two cultivars of pigeon pea under salt stress and only moderate levels of water stress. The largest growth of cv. BRS Mandarin with exogenous putrescine is not related to the higher content of proline.

Keywords: *Cajanus cajan*, salinity, osmotic potential, compatible solutes.

I. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas estão ocorrendo em ritmo acelerado e tendem a aumentar no futuro próximo. Este cenário pode ser exemplificado pela maior escassez hídrica e excesso de sais nos solos agricultáveis contribuindo de forma negativa a produção vegetal. Existe uma forte preocupação da comunidade científica quanto a estes dois estresses, em busca de plantas capacitadas a serem produtivas e suprir as necessidades de alimento para população que irá, segundo expectativas, dobrar o crescimento nos próximos 50 anos (HUSSAIN et al., 2011; MUNNS, 2011; PELEG et al., 2012).

A carência hídrica e o estresse salino causam redução significativa do teor de água nas células vegetais pela influência negativa no potencial de turgor e no metabolismo devido aos efeitos deletérios nos processos bioquímicos e fisiológicos reduzindo a capacidade de maior produção vegetal. O estresse salino, presente em solos salinizados, e o estresse hídrico que induz à seca em solos cultiváveis, são dois dos mais importantes estresses abióticos que limitam a produção de culturas agrônômicas que servem como alimento básico para muitas populações ao redor do mundo (MUNNS, 2011; RAHDARI & HOSEINI, 2012). Deste modo, esta iminente a compreensão dos mecanismos de adaptação das plantas sob estresses constituindo um dos maiores desafios para introduzir melhorias significativas na produtividade vegetal em ambientes de seca e salinização (ASHRAF et al., 2011; MUNNS, 2011; MANTRI et al., 2012).

Para proteção aos estresses, as plantas se utilizam de vários processos, os quais podem induzir ao ajuste osmótico, considerado um dos mecanismos mais eficazes para manutenção da turgescência celular sob condições de baixo potencial hídrico no solo (CHA-UM et al., 2010). Neste mecanismo, ocorre o acúmulo de solutos compatíveis (glicina betaína, trealose, prolina, sacarose, poliaminas, manitol, pinitol, entre outros), no vacúolo ou no citosol, com função osmoprotetora, o que mantém o equilíbrio hídrico e preserva a integridade celular de proteínas, enzimas e membranas, para a continuidade das atividades vitais, além do mais constitui uma das estratégias adaptativas vegetais aos múltiplos efeitos causados pelos estresses (SHARMA & DUBEY, 2005; ASHRAF et al., 2011). Dentre estes solutos, a prolina é

o mais estudado devido à considerável importância a tolerância das plantas aos estresses, mediante ao mecanismo de ajuste osmótico (TROVATO et al., 2008; ASHRAF et al., 2011).

Outro mecanismo de defesa que algumas plantas utilizam contra as condições adversas, está relacionado com as poliaminas, que são bases orgânicas alifáticas pertencentes às aminas bioativas ou biologicamente ativas que desempenham importantes funções metabólicas e fisiológicas em animais, vegetais e microorganismos. Dessa forma, estão naturalmente presentes em baixas concentrações em todos os organismos vivos e, conseqüentemente, nos vegetais (BRINK et al., 1990; BARDÓCZ, 1995; LIMA & GLÓRIA, 1999). Com quatro tipos identificados nos vegetais, putrescina, espermidina, espermina e cadaverina, as poliaminas são compostos nitrogenados alifáticos, policatiônicos, hidrofílicos e orgânicos polivalentes de baixo peso molecular (KUSANO et al., 2008; HUSSAIN et al., 2011). O envolvimento destas aminas na proteção das plantas aos vários estresses ambientais, destacando a restrição hídrica e o estresse salino (HANDA & MATOO, 2010; WIMALASEKERA et al., 2011). As poliaminas exógenas têm sido utilizadas em promover efeitos de atenuação aos vários estresses, aumentando assim a resistência das plantas e, eventualmente, melhorias na produtividade vegetal (YIU et al., 2009; QUINET et al., 2010; SHARMA et al., 2011; AMRI & MOHAMMADI, 2012;).

A importância das plantas forrageiras no Brasil é incontestável, visto que o maior rebanho bovino do mundo encontra-se em território brasileiro. Dentre as pastagens, o guandu (*Cajanus cajan* L. Millsp), é muito utilizado pelo fato de ser adaptado às mais diferentes condições ambientais. A elevada produtividade em períodos adversos frente a outras forrageiras constitui-se importante alternativa para a provisão de alimento de alta qualidade e redução de custos com colheita e armazenamento de forragem no período da entressafra (COAN et al., 2012).

No presente trabalho foram verificadas as respostas das sementes de duas cultivares de guandu, cv. Caqui e cv. BRS Mandarin, sob estresses hídrico (deficiência hídrica) e salino (NaCl) e os efeitos da putrescina exógena nos teores de prolina livre. Este estudo teve por intuito verificar **a)** se a putrescina exógena atenua os estresses hídrico e salino pelo incremento dos teores de prolina e **b)** se a prolina

poderá, *quicá*, ser indicada como marcador bioquímico-fisiológico para ajustar osmoticamente as sementes das duas cultivares de guandu aos efeitos de ambos os estresses estudados.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Guandu: leguminosa forrageira

A importância das pastagens na produção de ruminantes no Brasil é inquestionável. Estima-se que 75% da superfície utilizada pela agricultura seja ocupada por pastagens, o que corresponde a aproximadamente 20% da área total do País (FAGUNDES et al., 2011). Além de sua grande abrangência, as plantas forrageiras são importantes, pelo papel que desempenham na alimentação dos animais, visto que 88% da carne produzida no país são oriundas de rebanhos mantidos exclusivamente a pasto (QUEIROZ et al., 2005).

Em um sistema de exploração pecuária com base na utilização de pastagens, o ganho de peso dos animais é determinado por vários fatores dentre eles, o valor nutritivo da pastagem, e principalmente o consumo de forrageiras. A planta forrageira assume papel primordial, uma vez que tanto a rentabilidade quanto a sustentabilidade do sistema dependem da escolha correta da forrageira (REIS et al., 2004; FONSECA & MARTUSCELLO, 2011).

O feijão guandu (*Cajanus cajan*) pertence à família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae e subtribo Cajaninae. Forrageira leguminosa que se caracteriza por apresentar crescimento satisfatório em períodos adversos que limitam o crescimento de outras forrageiras, constitui-se em importante alternativa para a provisão de alimento de alta qualidade e redução de custos com colheita e armazenamento de forragem no período da entressafra (RAO et al., 2002).

Esta espécie, por ser considerada cultura de subsistência nos trópicos e subtropicais, onde os efeitos adversos da escassez hídrica limitam o crescimento de plantas, é capaz de tolerar a seca e, portanto, o estresse osmótico durante os períodos de estiagem (BEGUM & PRODHAN, 2003).

Devido à amplitude de adaptação, o guandu, constitui importante fonte de proteína em muitos países da África, Ásia e nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, sendo frequentemente reconhecida como espécie de múltiplo uso por sua tolerância às condições adversas, como seca causada por longos períodos de estiagem (PROVAZI et al, 2007). O feijão guandu é a sexta cultura mundial em produção em

regiões secas (NENE et al., 1990). Como a maioria das cadeias produtivas de carne e leite do Brasil está localizada em áreas cuja ocorrência de deficiência hídrica é uma constante, então uma estratégia para o aumento da eficiência produtiva é a utilização de plantas forrageiras adaptadas a estas condições, podendo o guandu ser considerado cultura com elevado potencial socioeconômico para essas regiões (PROVAZI et al., 2007).

No Brasil, o cultivo do feijão guandu é amplamente difundida entre os pequenos estabelecimentos rurais, oferecendo a possibilidade tanto de consumo dos grãos como de comercialização em mercados locais, como também é adequada para integrar sistemas de produção de hortaliças com base agroecológica, devido à incorporação da biomassa no solo proveniente de sua poda, bem como constituir uma alternativa viável na regeneração de áreas degradadas através de sua introdução em sistemas agroflorestais (ALVES et al., 2004, AZEVEDO NETO et al., 2004; BELTRAME & RODRIGUES, 2007).

O guandu apresenta valores satisfatórios em termos de cobertura e quanto à massa seca. A estimativa de produção por hectare é expressiva, provavelmente devido ao fato desta espécie ser arbustiva, apresentando maior porcentagem de tecido lenhoso. Esta característica pode ser vantajosa em áreas intensamente compactadas, onde não há disponibilidade de matéria orgânica na superfície do solo, visto que a presença do material lenhoso proporciona maior resistência física ao escoamento superficial da água, minimizando os processos erosivos (LEME et al., 2005).

Com relação aos aspectos químicos do solo, o guandu como leguminosa promove, maior fertilidade dos solos, seja pela incorporação de matéria orgânica, com elevados teores de nitrogênio, ou pela fixação simbiótica nos solos. Também, possui sistema radicular profundo e ramificado que, além de torná-lo capaz de resistir à restrição hídrica do solo, possibilita-o romper camadas adensadas de solos, como “pé de arado”, sendo chamado de arado biológico (NENE et al, 1990; SAHA et al., 2011).

Como adubo verde, a incorporação do guandu no solo contribui em média com 141,9 kg ha⁻¹ de N; 10,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅; 62,2 kg ha⁻¹ de K₂O; 25,3 kg ha⁻¹ de Ca; 10,5 kg ha⁻¹ de Mg e 8,8 kg ha⁻¹ de S, fato que possibilita classificá-lo como uma

cultura promotora de melhorias físicas e químicas do solo (CÁCERES & ALCARDE, 1995). Segundo Bonamigo (2008) após um ano de cultivo de cultivares de porte baixo e arbóreo do guandu foi verificado um acúmulo aproximado de 190 e 600 kg ha⁻¹ de nitrogênio resultante da fixação simbiótica.

1.1. Cultivares de Guandu

1.1.1. Caqui

A cultivar Caqui é perene com forma de crescimento arbustiva, plantada em todos os tipos de solo, possui elevada tolerância a seca e boa tolerância ao frio. O sistema radicular é vigoroso, com profundidade de 2 a 3 metros. Muito utilizada na adubação verde (massa seca ha/ano de 10/12 t), no pastoreio direto (alta palatabilidade), na fenação e na ensilagem com milho e sorgo. As plantas da cv. Caqui são sensíveis à acidez do solo, devendo o pH ser corrigido antes do seu plantio. O início do florescimento ocorre aos 111 dias e a melhor época de plantio é na estação chuvosa. (GODOY et al., 2003; NATERRA, 2012).

1.1.2. BRS Mandarin

A Embrapa Pecuária Sudeste, localizada no município de São Carlos, SP, em parceria com a Unipasto e com a Embrapa Transferência de Tecnologia, lançou em abril de 2008 a cultivar de feijão guandu, "BRS Mandarin", destinada principalmente a pecuaristas e a produtores de cana. O nome "BRS Mandarin" foi dado devido à origem asiática do guandu. Essa cultivar apresenta alta produtividade de forragem com 10% superior as demais cultivares de feijão guandu e, portanto, constitui-se uma cultivar extremamente indicada para a alimentação de bovinos. Outra característica é a uniformidade de sementes, proporcionando assim plantas iguais e uniformes, o que não ocorre com as outras cultivares, que apresentam muita mistura. A BRS Mandarin tem ainda boa persistência, o que 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, pois o custo da

alimentação foi reduzido em 21%. Também verificou-se 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. Essa cultivar é também 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 cultivares 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, 2013).

1.2. Estresses abióticos

Em condições naturais e agricultáveis, as plantas são frequentemente expostas a estresses abióticos que limitam o desenvolvimento e crescimento de plantas. Caracteriza-se como um fator externo, que exerce influência desvantajosa sobre a planta, induzindo-a a mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo (TAIZ & ZEIGER, 2010), sendo, portanto, considerado como um obstáculo à manutenção de produtividades agrícolas constantes, podendo reduzir significativamente os rendimentos das plantas e pastagens, além de restringir as latitudes e os solos onde espécies comercialmente importantes possam ser cultivadas (WANG et al., 2003; PURCINO, 2012).

Dentre os estresses ambientais que reduzem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, a deficiência hídrica é considerada por muitos autores a principal limitação para a produção agrícola (MUNNS, 2011; PELEG et al., 2012). Contudo, além do estresse hídrico, o estresse salino tem ganhado importância equiparando-se aos estudos sobre aumento da produtividade vegetal em solos agrícolas com estresse hídrico. Isto é compreensível, visto que, a salinização dos solos vem ganhando espaço mundial, pois induz à redução da disponibilidade de água para a planta,

além do efeito tóxico acarretado pelo Na^+ e Cl^- . Muitos autores enfatizam que, a salinidade dos solos é um dos mais preocupantes estresses no âmbito mundial. Atualmente, os estudos sobre os efeitos da salinidade nas plantas ultrapassam em importância os efeitos de outros estresses. A salinização dos solos é um dos grandes problemas enfrentados não somente nas regiões áridas e semi-áridas do nordeste brasileiro (BRAGA et al., 2009), mas também, em muitas regiões de outros países do mundo (ASHRAF, 2009; NEDJIMI, 2009; MUNNS, 2011; RAHDARI & HOSEINI, 2012). Estimam-se que, mais de 6% dos solos mundiais e 30% das áreas irrigadas já possuam problemas de salinização (CHAVES et al., 2009), principalmente em razão da intensa evapotranspiração, baixas precipitações e irrigação com água apresentando algum nível de salinidade (BRILHANTE et al., 2007; CHAVES et al., 2009).

1.2.1. Germinação de sementes e estresses abióticos

A germinação constitui-se em um processo onde a protrusão de uma das partes do embrião está associada a algum sinal de crescimento, onde a primeira etapa da germinação ocorre com absorção de água pelas sementes, mediante embebição, com a ativação da respiração e das demais etapas do metabolismo. A embebição é um fenômeno importante por que em decorrência do período de repouso, os tecidos se encontram dessecados. Nesta etapa, vários processos enzimáticos de remobilização de reservas são iniciados devido à síntese “de novo” de enzimas hidrolíticas; a segunda etapa consiste no estabelecimento de uma fase de repouso, como um preparo para a retomada do crescimento e, por fim, o reinício do crescimento, com a protrusão da raiz, o que se convencionou como o padrão trifásico da germinação (MARCOS FILHO, 2005).

A observação da capacidade germinativa das sementes em condições de estresse é uma das metodologias mais difundidas para se determinar o nível de tolerância das plantas, pois corresponde a uma das fases mais críticas do ciclo de vida dos vegetais (MOTERLE et al., 2008), visto que o processo germinativo é dependente de disponibilidade de água no meio para que ocorra o andamento de todas as etapas germinativas. Portanto, a absorção de água pelas sementes inicia

uma série de processos físicos, fisiológicos e bioquímicos que permitem a reativação do metabolismo e consequente crescimento do eixo embrionário, resultando na emissão da raiz primária, com posterior estabelecimento da plântula (VARELA et al., 2005). Em ambientes sob condições adversas, as sementes constituem-se em um importante meio de reprodução de plantas podendo a germinação ser influenciada por um conjunto de fatores ambientais que causam variação no percentual germinativo e, conseqüentemente, na determinação do estande final da cultura (SOUZA FILHO, 2000; SILVA et al., 2005; PEREIRA et al., 2012).

Um dos métodos mais difundidos para a determinação da tolerância das plantas ao estresse salino ou hídrico é a observação da capacidade germinativa das sementes nessas condições. As respostas germinativas de sementes submetidas à condição de estresses artificiais são ferramentas para um melhor entendimento da capacidade de sobrevivência e adaptação destas espécies em condições de estresses naturais, como seca e solos salinizados, comuns em regiões agrícolas e florestais, bem como a avaliação da sensibilidade dessas espécies em estudo para o conhecimento da agressividade e estratégias de dominância das mesmas em ambientes adversos (DANTAS et al., 2011; PEREIRA et al., 2012).

Vários agentes contribuem para alterar as relações hídricas estabelecidas entre a semente e o substrato de germinação proporcionando algum nível de estresse osmótico como o induzido por NaCl ou polietilenoglicol 6.000 (DANTAS et al., 2011).

1.2.1.1. Estresse salino

A salinidade constitui uma das mais importantes estresses abióticos, limitando a produção agrícola em regiões áridas e semi-áridas, onde o conteúdo de sais no solo é naturalmente elevada e precipitação pode ser insuficiente para a lixiviação (ZHAO & QIN, 2004).

O termo salinidade refere-se à presença, no solo de vários solutos minerais em concentrações que são consideradas prejudiciais a muitas culturas agrícolas. Ocorre através de processos naturais ou humanos induzidos que resultam na acumulação de sais dissolvidos na água do solo para um ponto em que inibe o crescimento das plantas. Portanto, em decorrência das propriedades osmóticas dos

sais, o potencial hídrico do solo é reduzido de modo que o fluxo hídrico normal no sistema solo - planta - atmosfera é alterado, gerando, desta forma, um déficit hídrico (FLOWERS, 2004; ASHRAF & FOOLAD, 2007; YADAV et al., 2011).

A maioria das espécies vegetais submetidas à salinidade tem o crescimento reduzido, o que afeta a produtividade das culturas em virtude dos efeitos osmóticos dos sais, toxidez pelos íons Na^+ e Cl^- , desequilíbrio nutricional e hormonal (LORENZO et al., 2007; ASHRAF & FOOLAD, 2007; NEDJIMI, 2009).

Plantas que são especialmente adaptadas ao ambiente salino são consideradas como halófitas, enquanto que aquelas que não crescem em nesses ambientes são classificadas como glicófitas, pois desenvolvem sintomas de estresse fisiológico quando submetidas a condições ambientais salinizantes.

Com relação às sementes, a presença de sais na solução do solo reduz o potencial hídrico do substrato germinativo e, conseqüentemente, o gradiente de potencial hídrico entre o substrato (mais negativo) e as sementes dificultando, assim, o processo de embebição, com prejuízos à germinação e ao desenvolvimento de plântulas (LOPES & MACEDO, 2008; EASTON & KLEINDORFER, 2009; AMOOAGHAIE, 2011).

Para algumas espécies e cultivares, a avaliação do processo germinativo permite dar um indicativo do nível de tolerância ao estresse salino, pois pode antever as respostas de plantas em estágio posterior de desenvolvimento além de servir como ferramenta para disponibilizar subsídios a programas de melhoramento genético vegetal (DANTAS et al., 2007). Assim, a tolerância à salinidade pode ser definida como a capacidade de uma planta em crescer e completar seu ciclo de vida sob condições estressantes como NaCl ou, em associação com outros sais (YADAV et al., 2011).

A toxicidade iônica pode ainda ocasionar o atraso da emergência das plântulas e da mobilização das reservas ou até diminuir a viabilidade das sementes (MUNNS & TESTER, 2008; VOIGT et al., 2009).

1.2.1.2. Estresse hídrico

Entre as várias condições de estresses abióticos a deficiência hídrica é o fator mais devastador (ARAUS et al., 2008).

O teor de água no solo mais especificamente o potencial em que a água se encontra no solo exerce controle sobre as condições físicas para o crescimento das plantas. No solo não saturado, a água está submetida à ação dos potenciais: matricial, gravitacional e osmótico (TAIZ & ZEIGER, 2010).

Na planta, os componentes mais atuantes do potencial hídrico são o turgor (pressão) e o osmótico (solutos). O potencial de turgor representa a pressão hidrostática da solução. Quando positiva, no interior das células pode ser referida como pressão de turgescência. O valor do potencial de turgor pode ser negativo no xilema ou entre as paredes das células onde se pode desenvolver pressão hidrostática negativa. Por sua vez, o potencial osmótico, refere-se a presença de sais dissolvidos na solução, os quais reduzem o potencial hídrico da solução, fazendo com que haja diminuição da disponibilidade da água para a planta (TAIZ & ZEIGER, 2010).

As mudanças climáticas estão ocorrendo em ritmo acelerado e tendem a aumentar no futuro próximo. Com a população mundial em expansão vai exigir mais água para atender as demandas alimentares projetadas, mais culturas vão ser necessárias e estas deverão ser mais resistentes ao déficit hídrico (MUNNS, 2011; RAHDARI & HOSEINI, 2012).

O estado hídrico vegetal é dinâmico, alterando-se com a disponibilidade de água no solo, com a demanda evaporativa da atmosfera e, também, com os mecanismos de controle da planta (RODRIGUES et al., 2003).

1.2. Poliaminas

Poliaminas são compostos nitrogenados alifáticos, policatiônicos, hidrofílicos e orgânicos polivalentes de baixo peso molecular, que apresentam como característica química pH básico, a presença de dois ou mais grupos de aminas em sua constituição química, onde diferem estruturalmente entre si quanto ao número e posição das aminas (KUSANO et al., 2008; GILL & TUTEJA, 2010; HUSSAIN et al., 2011; WIMALASEKERA et al., 2011). Dentre a família das aminas, aquelas de maior frequência nos grupos vegetais são diaminas representadas pelas putrescina e cadaverina, as triaminas com um único representante, espermidina e, por último, as

tetraminas que também estão representadas por um único tipo de poliamina, a espermina (ASHRAF & HARRIS, 2004; HUSSAIN et al., 2011).

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, 2008). No entanto, Crozier et al. (2001), incluem as poliaminas à classe dos hormônios vegetais, uma vez que regulam o desenvolvimento vegetal.

Em se tratando de sementes, sabe-se que as poliaminas são substâncias mediadoras dos processos fisiológicos da germinação que transformam sinais ambientais específicos em respostas bioquímicas, produzindo modificações no estado fisiológico da semente. Tais modificações ocorrem nas propriedades físicas das membranas e atingem diretamente a taxa de hidratação, liberação de enzimas, transporte iônico, pH e conteúdo de inibidores, componentes estes que interferem na germinação das sementes (MATILLA, 1996; BOTELHO & PEREZ, 2001).

Estudos recentes têm focado o envolvimento das poliaminas nas reações de defesa das plantas aos vários estresses ambientais (GILL & TUTEJA, 2010; HANDA & MATOO, 2010; HUSSAIN et al., 2011; WIMALASEKERA et al., 2011). As pesquisas sustentam sua função aos efeitos de proteção aos estresses abióticos (MARTIN-TANGUY, 2001; ALCÁZAR et al., 2006; WIMALASEKERA et al., 2011), como o estresse hídrico (ALCÁZAR et al., 2010; MENDES et al., 2011; AMRI et al., 2012; RAHDARI & HOSEINI, 2012) e o salino (DUAN et al., 2008; TASSONI, et al., 2008; QUINET et. Al., 2010; SHARMA et al., 2011; ROYCHOUDHURY et al., 2011).

Sabe-se que, a função protetora das poliaminas é devida, principalmente, a sua natureza catiônica em pH celular (UPADHYAYA et al., 2001; KASINATHAN & WINGLER, 2004; PASCHALIDIS & ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2005; HUSSAIN et al., 2011). Esta característica de cátion orgânico possibilita as poliaminas de interagir com proteínas, ácidos nucleicos, membranas e constituintes da parede celular, estando envolvidas na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas (DUAN et al., 2008).

A importância dessas substâncias em plantas foi confirmada em mutantes que perderam a habilidade de sintetizar poliaminas, o que ocasionou alterações fenotípicas no crescimento e desenvolvimento, porém a adição exógena de poliaminas restaura os padrões normais de crescimento, o que evidencia a função essencial das poliaminas no metabolismo celular (COLLI, 2008).

De fato, a aplicação exógena de poliaminas tem mostrado proteger o tecido vegetal dos efeitos danosos de uma ampla gama de estresses ambientais (MATILLA, 1996; ZHAO & QIN, 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 e, também, tratamentos com poliaminas exógenas restabelecem a tolerância, sustentando a hipótese de que as poliaminas desempenham funções essenciais na tolerância das plantas aos estresses ambientais (KASUKABE et al., 2004; DUAN et al., 2008).

1.2.1. Putrescina

A diamina putrescina ($\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$) é considerada substância reguladora de crescimento de plantas, sendo essencial para o crescimento e desenvolvimento de plantas (GALSTON et al., 1997; IGARASHI & KASHIWAGI, 2010). Esta poliamina está presente no vacúolo, citosol, cloroplastos, núcleo, mitocôndrias e, principalmente, associadas às paredes celulares (HENNION & COUÉE, 2004; COLLI, 2008).

Em plantas, a putrescina é sintetizada pela descarboxilação da arginina ou ornitina pela ação enzimática da arginina descarboxilase ou pela ornitina descarboxilase, respectivamente (GROPPE & BENAVIDES, 2008; HUSSAIN et al., 2011).

É uma poliamina que dentre várias características contribui com as respostas de plantas às condições estressantes pelo fato de constituir o metabólito precursor das poliaminas espermina e espermidina. Um dos genes que codificam a síntese da enzima arginina descarboxilase que catalisa a formação da putrescina é expresso quando plantas são submetidas ao estresse, o que sugere a participação desta

poliamina na indução de tolerância de plantas a estresse (GROPPI & BENAVIDES, 2008; TAKAHASHI & KAKEHI, 2010; ROYCHOUDHURY et al., 2011).

Por outro lado, alguns estudos têm mostrado que a aplicação exógena de putrescina incrementa a tolerância de plantas aos estresses abióticos pelo fato do excedente aplicado ser convertido a espermidina espermina, como visto em sementes (COLLI, 2008; DUAN et al., 2008; KUBÍŠ, 2008; TASSONI et al., 2008; AHAMAD et al., 2009; TAKAHASHI & KAKEHI, 2010).

Plantas oriundas de sementes de tabaco pré-tratadas com putrescina mostraram-se mais tolerantes ao estresse induzido por frio pelo fato das enzimas do metabolismo antioxidantes mostrarem maior atividade e, portanto, inibirem o estresse oxidativo (XU et al., 2011).

1.3. Prolina livre

Em condições de estresse abiótico que implique em demanda por cultivares tolerantes, existe o crescente interesse da comunidade científica em compreender as estratégias fisiológicas de plantas que visam atenuar qualquer fator ambiental que induza as plantas ao estresse osmótico. A síntese e acúmulo de moléculas de baixo peso molecular constituem uma destas estratégias, para reduzir os efeitos negativos do potencial osmótico celular sem, no entanto, alterar as funções fisiológicas normais das plantas (ASHRAF et al., 2011; KANTAR et al., 2011). Esta estratégia permite a manutenção da integridade de estruturas celulares e subcelulares como membranas plasmáticas, ácidos nucleicos, proteínas em condições de deficiência hídrica e estresse salino, bem como a eliminação de radicais livres, reserva de nitrogênio e carbono, regulação do pH citosólico, liberação de 30 ATPs através da oxidação de apenas uma molécula de prolina e aumento da razão $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ permitindo o fluxo de carbono devido a via oxidativa da pentose fosfato (SZABADOS & SAVOURÉ, 2010; ASHRAF et al., 2011).

Diversas substâncias possuem função osmoprotetora destacando-se o aminoácido prolina que apresenta efeito osmoprotetor em diversas plantas sob estresses (TÜRKAN & DEMIRAL, 2009). Consiste em um dos osmólitos que em

maior quantidade se acumulam em plantas submetidas à deficiência hídrica e estresse salino (SILVA-ORTEGA et al., 2008).

A L-prolina é um dos 20 aminoácidos presentes nas proteínas de todos os organismos vivos. Diferentemente dos demais, a prolina é considerada um “ α – iminoácido”, por possuir um grupo amino ligado a dois átomos de carbono, conferindo características de neutralidade à molécula (MOLINARI, 2006). Na sua forma pura, a prolina apresenta-se como uma substância incolor, altamente solúvel em água, medianamente solúvel em álcoois, razoavelmente em benzeno e acetona e insolúvel em outros compostos (MILNER-WHITE et al., 1992). Em plantas, o precursor bioquímico da síntese de prolina é o ácido L-glutâmico sendo que duas enzimas chaves estão envolvidas neste processo, a pirrolina-5-carboxilato sintetase (P5CS) e pirrolina-5-carboxilato redutase (P5CR) (ASHRAF & FOOLAD, 2007).

Em plantas não estressadas, a prolina está presente em pequenas quantidades apresentando teores de aproximadamente 1 a 5 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa seca (NOGUEIRA et al., 2001). Sabe-se que o nível de prolina varia de espécie para espécie e pode apresentar valores 100 vezes maior nas plantas submetidas aos estresses quando comparado às plantas não estressadas (VERBRUGGE & HERMANS, 2008). Nestas condições em que as plantas acumulam grandes quantidades de prolina no citosol, ocorre substancial contribuição para que haja o ajuste osmótico citosólico, sendo este aumento associado à resistência das plantas aos efeitos de estresses (BHAMBURDEKAR et al., 2011). Então, apesar do aminoácido prolina ser particularmente reconhecido como osmólito chave em plantas sob deficiência hídrica (NAYYAR, 2003), a função deste soluto orgânico nas respostas aos estresses é questionada. 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. Outros autores salientam que, em plantas superiores, o acúmulo de prolina pode estar relacionado à síntese “de novo” e/ou à diminuição de seu catabolismo (TROVATO et al., 2008; SZABADOS & SAVOURÉ, 2010; ASHRAF et al., 2011). Ainda, a baixa utilização de prolina durante o estresse, em consequência da redução na síntese protéica e do aumento na proteólise, também pode contribuir para seu acúmulo (BRITO et al., 2008; ASHRAF et al., 2011). Estes autores enfatizam que toda 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.

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Instalação e condução experimental

Foram utilizadas sementes selecionadas de guandu cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, provenientes da empresa Wolf Seeds do Brasil, Ribeirão Preto, SP as quais foram acondicionadas em embalagens de papel e mantidas em câmara seca à temperatura de $\pm 20^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa $\pm 13\%$.

O experimento foi conduzido no laboratório de Fisiologia Vegetal, em germinador FANEN Mod. 347 CDG na temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas. Foram realizadas avaliações no 10º dia após a semeadura (DAS), como descrito a seguir:

3.2. Tratamentos utilizados e avaliações

3.2.1. Estresse hídrico

Para a obtenção das soluções com diferentes potenciais osmóticos (estresse hídrico), foram calculadas as concentrações de polietilenoglicol (PEG 6.000), baseando-se em Villela et al. (1991). Para avaliar a influência das poliaminas, nos referidos potenciais osmóticos, foram preparadas soluções contendo 0,5 mM de putrescina e tratamento controle de 0,0 mM.

A germinação foi avaliada em 25 sementes postas em caixa de germinação tipo gerbox previamente esterilizadas e revestidas com uma folha de papel de germinação umedecidas com as respectivas soluções de NaCl ou polietilenoglicol 6000.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial $2 \times 5 \times 2$, com os fatores cultivares de guandu (cv BRS Mandarin e cv. Caqui), cinco potenciais osmóticos de polietilenoglicol (PEG 6.000) para simular diferentes níveis de restrições hídricas, expressos em MPa, 0,0 (H_1); -0,2 (H_2); -0,3 (H_3), -0,4 (H_4) e -0,5 (H_5) e tratamentos de poliaminas exógenas (0,0 mM, 0,5 mM de

putrescina). Para a análise estatística foram considerados os melhores resultados de quatro repetições, pois foi descartada a repetição de menor homogeneidade.

Salienta-se que, foram utilizadas baixas concentrações de PEG, para se obter material vegetal suficiente para a obtenção dos teores de prolina nas sementes estressadas, e cada repetição constou de duas sub-repetições. Por exemplo, o tratamento -0,2 MPa com cinco repetições e cada repetição com 02 sub-repetições, totalizando para este tratamento 10 caixas gerbox. Os demais tratamentos seguiram o mesmo procedimento.

3.2.2. Estresse salino

A germinação foi avaliada em 25 sementes que foram colocadas em caixa de germinação tipo gerbox, previamente esterilizada, revestida com uma folha de papel germibox umedecida com as respectivas soluções. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial 2x6x2, com os fatores leguminosas forrageiras (guandu cv BRS Mandarin e cv. Caqui), níveis de NaCl (0,0 mM, 20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM e 120 mM) e tratamentos de poliaminas (0,0 mM, 0,5 mM de putrescina). Foram realizadas quatro repetições para cada tratamento, com 25 sementes por tratamento.

O experimento foi conduzido, no laboratório de Fisiologia Vegetal, em germinador FANEN Mod. 347 CDG na temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas. A contagem das sementes germinadas foi realizada em intervalos de 24 horas, sendo consideradas germinadas as que apresentaram extensão da raiz primária ≥ 2 mm e curvatura geotrópica positiva (DURAN & TORTOSA, 1985).

3.2.3. Germinação

A germinação de sementes no 10º dia foi avaliada como prescreve as Regras para Análise de Sementes para as culturas do guandu (BRASIL, 2009). Foram avaliados os seguintes parâmetros: **a)** porcentagem de sementes germinadas; **b)** massa da matéria seca das partes vegetativas das plântulas, em plúmulas e raízes primárias e remanescentes das sementes. Para tanto, todas as partes vegetativas

foram secas em estufa de circulação forçada de ar em temperatura de 80°C e os valores de massa da matéria seca foram aferidos em balança analítica Denver Instrument Company AA-200, com precisão de 1×10^{-8} g.

3.2.4. Teores de prolina livre

A quantificação dos teores de prolina foi realizada de acordo com a metodologia Bates et al. (1973), nas partes vegetativas (parte aérea e raiz primária) das plântulas oriundas das sementes germinadas no 10º dia após a semeadura.

Os teores de prolina livre foram determinados pelo procedimento que consiste na homogeneização manual em gral de porcelana de 0,5 g de massa fresca de material vegetal (cotilédones e eixo embrionário), 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 do material vegetal que reagiram com 2mL 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, para tanto, o espectrofotômetro Beckman DU 640. As absorbâncias obtidas foram comparadas com curva padrão de prolina. Os teores de prolina foram calculado para a curva padrão e calculado com base na massa fresca, conforme a fórmula $[(\mu\text{g prolina/mL} \times \text{mL tolueno})/115,5 \mu\text{g}/\mu\text{mole}] / [(\text{g amostra})/5] = \mu\text{moles de prolina/g massa fresca}$.

3.3. Tratamentos estatístico

Para efetuar a análise estatística dos dados obtidos, primeiramente, procedeu-se a transformação em $\arcsen \sqrt{x/100}$, para a normalização da distribuição

dos desvios que ocorrem quando se analisa a germinação de sementes. A seguir, foi empregado o tratamento estatístico das variáveis onde os dados foram analisados através da análise de variância pelo teste F utilizando-se do teste de Tukey para a comparação entre médias. A análise da regressão polinomial foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade dos níveis de estresse salino e hídrico (BANZATTO & KRONKA, 2006).

IV.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Germinação de sementes de guandu sob estresse salino e hídrico

As análises de variância para germinação de sementes de duas cultivares de guandu, BRS Mandarin e Caqui, no 10º dia após a semeadura, com e sem adição de putrescina e sob estresse salino e hídrico, estão evidenciadas na Tabela 1. Os resultados significativos das variáveis estudadas estão evidenciados nas Tabela 2 e Figuras 1 e 2.

Houve redução da germinação em ambas cultivares de guandu com a imposição dos tratamentos salinos. Sementes não tratadas exógena (putrescina) mostraram redução na germinação em comparação às sementes tratadas com este aminoácido (Figura 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Fonseca & Perez (2001), em sementes de *Adenanthera pavonina*, em que observaram diminuição na porcentagem de germinação à medida que aumentaram as concentrações salinas, mesmo com a adição de poliaminas (putrescina) às soluções.

Outros pesquisadores também relataram que a salinidade inibiu a germinação das sementes e alterou toda fisiologia e anatomia das plantas, reduzindo a produção (AMOOAGHAIE, 2011; MANTRI, 2012; SEKMEN, 2012). A redução na porcentagem na germinação, pelos efeitos de NaCl, pode ser explicada que o meio negativo leva a diminuição do potencial de água entre as sementes.. Assim a mobilização de reservas armazenadas e a síntese de proteínas não são capazes de começar os processos de germinação (AMOOAGHAIE, 2011).

Em sementes tratadas com o aminoácido putrescina sob estresse salino houve aumento na germinação comparado a testemunha (Figura 1). As pesquisas demonstram que, as poliaminas estão envolvidas em vários processos fisiológicos em resposta à luz, hormônios, injúrias e estresse, e aplicações exógenas de poliaminas podem influenciar estes processos (HANDA & MATTOO, 2010; HUSSAIN et al., 2011; AMRI & MOHAMMADI, 2012; MELLONI et al., 2012). Perez et al. (1999), verificaram que em sementes de *Peltophorum dubium*,

Tabela 1. Análises de variância da germinação de sementes de duas cultivares de guandu, BRS Mandarin e Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob estresse salino e hídrico, com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

Quadrados Médios Estresse Salino¹		
Causa da Variação	G.L.	Germinação de Sementes
Cultivares (C)	1	3,7604 ^{ns}
Estresse salino (S) ¹	5	363,3187 ^{**}
Putrescina (P)	1	304,5937 ^{**}
Interação (CxS)	5	2,4854 ^{ns}
Interação (CxP)	1	3,0104 ^{ns}
Interação (SxP)	5	18,4187 ^{**}
Interação (CxSxP)	5	0,7854 ^{ns}
Resíduo	72	2,0243
C.V.(%)		1,5151
Quadrados Médios - Estresse hídrico²		
Cultivares (C)	1	3,2000 ^{ns}
PEG (H)	4	1550,3000 ^{**}
Poliaminas (P)	2	0,8000 ^{ns}
Interação (CxH)	4	43,7000 [*]
Interação (CxP)	2	115,2000 [*]
Interação (HxP)	8	13,3000 ^{ns}
Interação CxHxP)	8	22,7000 ^{ns}
Resíduo	90	16,8000
C.V. (%)		4,7715

¹Estresse salino: 0, 20, 40, 60, 80, 120 mM de NaCl; ² Estresse hídrico: 0;-0,2;-0,3;-0,4;-0,5 MPa de PEG 6.000; ns: não significativo (P > 0,05); *: significativo (P < 0,05); ** significativo (P < 0,01).

Tabela 2. Germinação de sementes (%) de duas cultivares de guandu, BRS Mandarin e Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob diferentes tratamentos de potencial osmótico com e sem adição de putrescina (Put). Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

Concentração de Putrescina (mM)	Germinação de sementes (%) ²	
	Cultivares de Guandu	
	BRS Mandarin	Caqui
0,0	85,2 aA	87,0 aA
0,5	87,2 aA	84,4 bB

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical (dentro de cultivares) e maiúscula na horizontal (entre cultivares) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P> 0,05). DMS = 2,5927 sem putrescina. DMS = 2,5927 com putrescina.

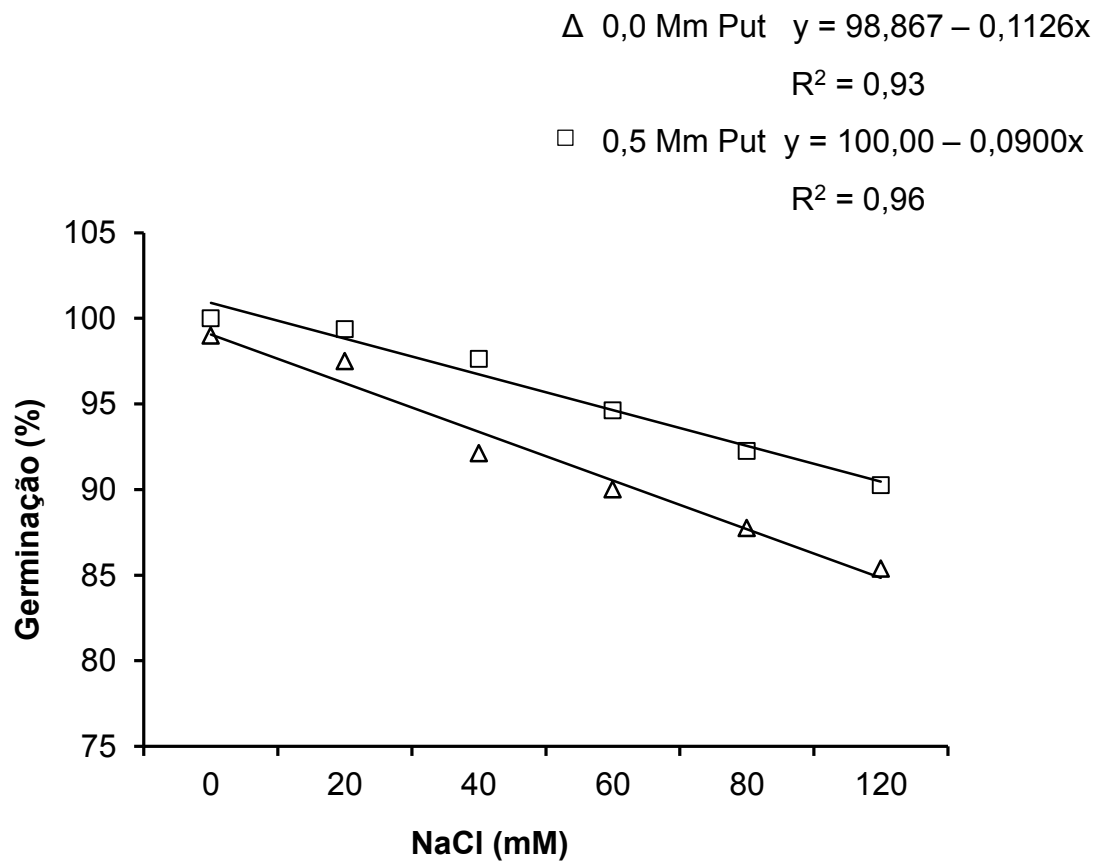


Figura 1. Germinação de sementes de guandú, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob estresse salino (NaCl) com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

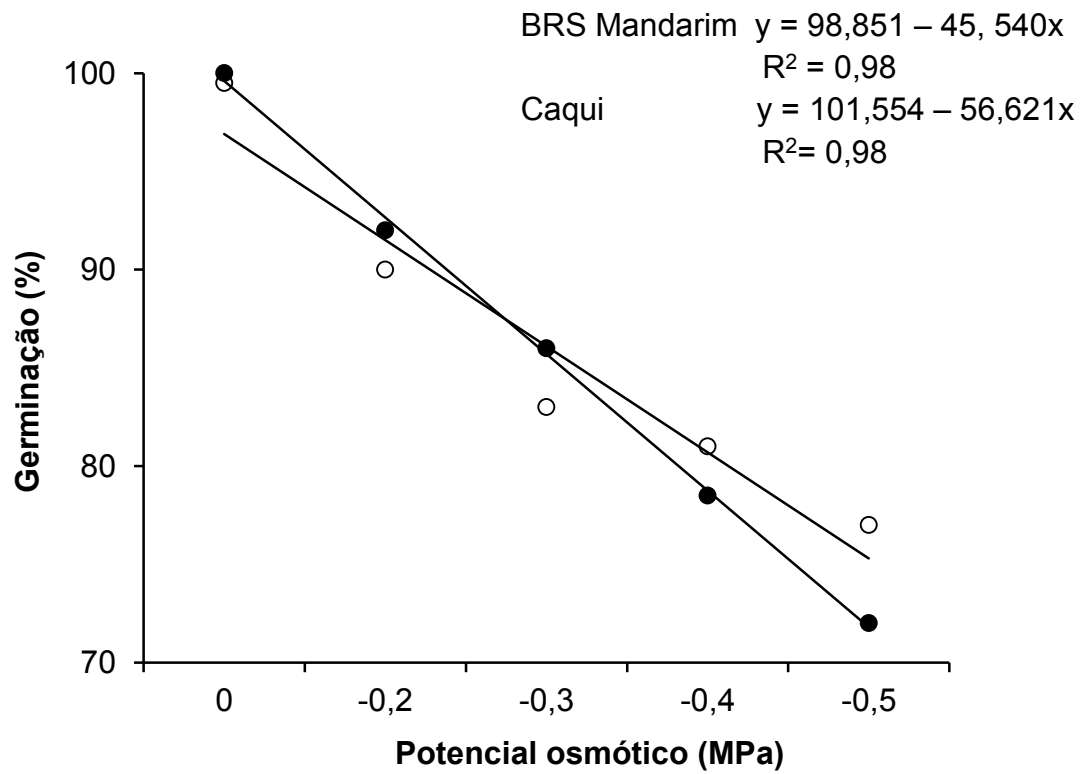


Figura 2. Germinação de sementes de guandu cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob deficiência hídrica. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

a adição de putrescina atenuou o efeito do estresse com NaCl.

Em sementes de tomate a aplicação exógena de 0.5 mM de putrescina, causou aumento da germinação, concordando com os resultados encontrados no presente estudo, onde a concentração de 0,5 mM de putrescina melhorou a germinação das sementes de guandu, o que evidencia o papel das poliaminas na germinação de plantas submetidas a estresses (AFZAL et al., 2009).

A restrição hídrica, causada pelo agente osmótico PEG no presente trabalho, provocou acentuada redução na germinação, pelo fato do déficit hídrico afetar os processos fisiológicos e bioquímicos, os quais são vitais para o vegetal (Figura 2). Pesquisas recentes demonstram que, plantas submetidas à deficiência hídrica apresentam menor porcentagem de germinação (DANTAS, 2011; KUMAR et al., 2011; PEREIRA et al., 2012). A primeira etapa da germinação ocorre com absorção de água pelas sementes, mediante embebição.

A capacidade germinativa das sementes em condições de estresse é uma das metodologias mais difundidas para se determinar a tolerância das plantas, pois a germinação corresponde a uma das fases mais críticas do ciclo de vida dos vegetais (MOTERLE et al., 2008; KUMAR et al., 2011).

Nota-se que, embora tenha havido a redução da germinação, tanto na presença quanto na ausência de putrescina, a diminuição foi menos intensa no tratamento de 0,5 mM de putrescina na cv. BRS Mandarin (Tabela 2). Inúmeras pesquisas sobre aplicação de poliamina em plantas sob deficiência hídrica (ALCÁZAR et al., 2010; DANTAS et al., 2011; AMRI & MOHAMMADI, 2012).

Zeid & Shedeed (2007) verificaram que, a adição de putrescina em sementes de alfafa sob deficiência hídrica aumentou de 88% para 97% a germinação das sementes, mostrando que a poliamina reduz a sensibilidade da alfafa ao estresse hídrico. Vários estudos reportam o papel positivo de poliaminas nas respostas de plantas a estresses abióticos (CIVIKROVÁ et al., 2012). Em plantas, essas respostas parecem estar associadas à capacidade que as poliaminas tem, em interagir com biomoléculas como ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos de membranas e os constituintes da parede celular promovendo a estabilização dos mesmos (ROYCHOUDHURY et al., 2011). Tais efeitos benéficos da aplicação exógena de putrescina, possivelmente estejam ligados à manutenção da integridade das

estruturas celulares e subcelulares das sementes a ponto de viabilizar a embebição das mesmas e atenuar o efeito osmótico e tóxico do Na^+ . Entretanto, o efeito da aplicação exógena de putrescina parece estar associada à capacidade desta poliamina em ser convertida enzimaticamente em outras poliaminas como espermina e espermidina, as quais desencadeiam respostas fisiológicas em plantas (KUSANO et al., 2008; ALCAZÁR et al., 2010).

4.2. Acúmulo de prolina e crescimento inicial

As análises de variância para os teores de prolina e crescimento inicial da parte aérea e raízes primárias de duas cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, com e sem adição de putrescina e sob estresse salino e hídrico, estão apresentadas na Tabela 3. Os resultados dos testes de médias encontram-se nas tabelas 4 e 5 enquanto que as curvas relativas à análise de regressão polinomial encontram-se nas figuras 3 e 5.

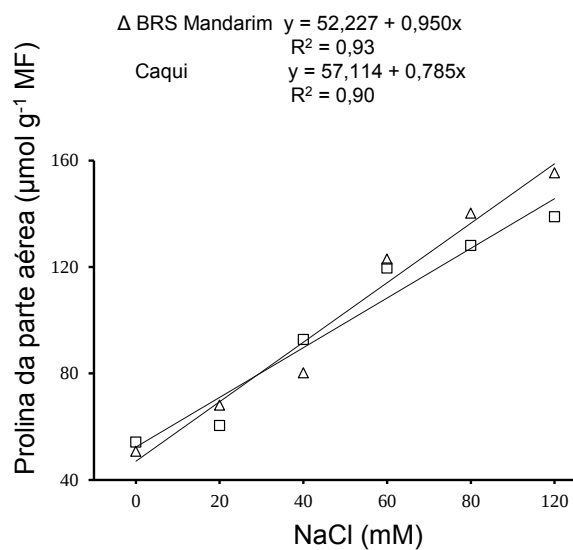
Nota-se que, quanto maior a severidade do estresse salino e hídrico, maior conteúdo de prolina nas plântulas das cultivares de guandu (Figura 3A, 3B, 4A, 4B). Ainda, pode ser verificado que, o estresse salino causou, a partir da concentração 60 mM, maior acúmulo de prolina nas raízes primárias da BRS Mandarin que na Caqui (Figura 3B). Pesquisas demonstram que, o aumento de prolina em plantas estressadas conduz ao ajuste osmótico, mecanismo este que preserva o metabolismo vegetal contra os efeitos danosos dos estresses (AGARWAL & PANDEY, 2004; TROVATO et al., 2008; SZABADOS & SAVOURE, 2010; ASHRAF et al., 2011; BHAMBURDEKAR & CHAVAN, 2011; SZABADOS et al., 2011). Diante disto, é coerente afirmar que, em ambas cultivares de guandu o aumento de prolina ocorreu pelo fato dos estresses salino ou hídrico, após 10 dias, provocarem aumento de solutos (pressão osmótica) e redução do potencial hídrico celular, o que intensifica a deficiência hídrica do vegetal. Este aumento também foi constatado em plântulas de *Arabidopsis thaliana* (SZABADOS et al., 2011).

Tabela 3. Análises de variância dos teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula $^{-1}$) da parte aérea e raízes primárias de duas cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob estresse salino e hídrico PEG 6.000, com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2012.

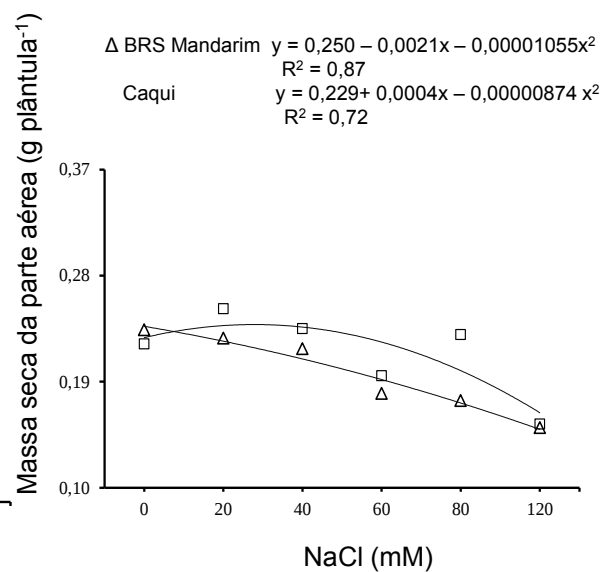
Quadrados Médios do Estresse Salino ¹				
Causa da	G.L.	Teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	Crescimento inicial (g plântula $^{-1}$)	
Varição				
Cultivares (C)	1	371,8371 ^{**}	11950,5532 ^{**}	0,0279 ^{**}
Estresse salino (S) ¹	5	24168,1390 ^{**}	33019,0123 ^{**}	0,0180 ^{**}
Putrescina (P)	1	2333,7368 ^{**}	7615,7030 ^{**}	0,0058 ^{**}
Interação (CxS)	5	453,8574 ^{**}	3440,6659 ^{**}	0,0084 ^{**}
Interação (CxP)	1	1,3084 ^{ns}	45,0628 ^{ns}	0,0000 ^{ns}
Interação (SxP)	5	84,4373 ^{ns}	297,3983 ^{ns}	0,0017 ^{**}
Interação (CxSxP)	5	46,6774 ^{ns}	378,2510 ^{ns}	0,0041 ^{**}
Resíduo	72	42,0388	202,1998	0,0006
C.V.(%)		6,4220	10,6403	12,8301
				8,4279
Quadrados Médios Estresse hídrico ²				
Cultivares (C)	1	0,4175 ^{**}	0,1560 ^{ns}	0,4526 ^{**}
PEG (H)	4	0,4175 ^{**}	58,6193 ^{**}	33,0169 ^{**}
Poliaminas (P)	2	7,2800 ^{**}	1,6398 ^{**}	0,4702 ^{**}
Interação (CxH)	4	7,2800 ^{**}	1,1576 ^{**}	1,0234 ^{**}
Interação (CxP)	2	4,2348 ^{**}	2,4696 ^{**}	8,4065 ^{**}
Interação (HxP)	8	2,4946 ^{**}	0,5166 ^{**}	1,1935 ^{**}
Interação CxHxP)	8	0,5856 ^{**}	0,5904 ^{**}	0,7370 ^{**}
Resíduo	90	0,0092	0,0135	0,0052
C.V. (%)		4,1719	3,8451	3,5246
				3,6180

¹ Estresse salino: 0, 20, 40, 60, 80, 120 mM de NaCl; ² Estresse hídrico: 0,0, -0,2, -0,3, -0,4, -0,5 MPa de PEG 6.000; ns : não significativo (P > 0,05); *: significativo (P < 0,05); **: significativo (P < 0,01).

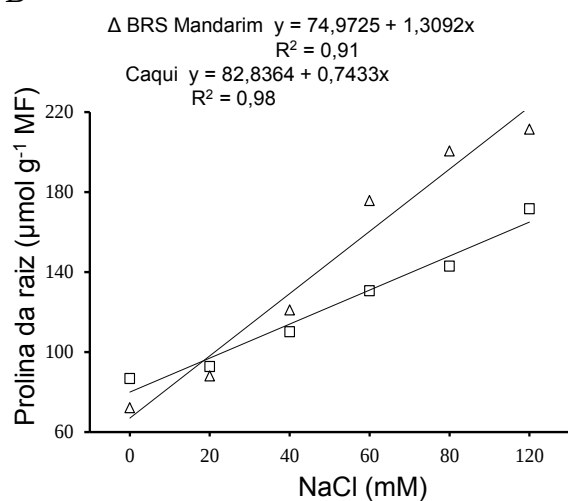
A



C



B



D

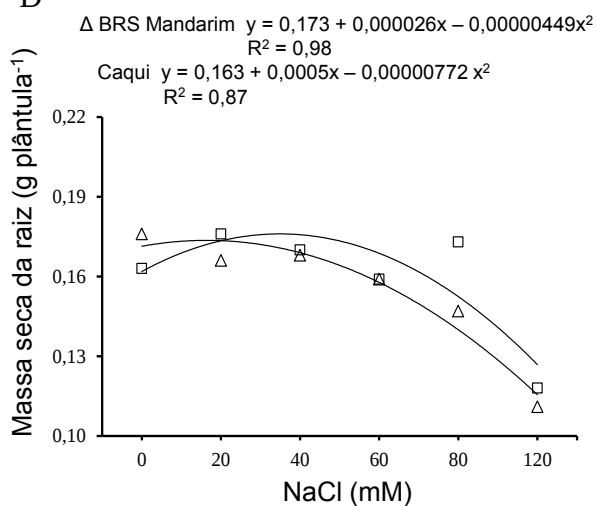


Figura 3. Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de guandu cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob efeito de estresse salino. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

Tabela 4. Teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) da parte aérea e raízes primárias de duas cultivares de guandu, cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob estresse salino (NaCl), com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

Concentração de Put (mM)	Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	
	Cultivares de Guandu	
	Parte aérea	Raízes primárias
0,0	96,0302 b	124,7329 b
0,5	105,8915 a	142,5464 a

¹Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste Tukey ($P > 0,05$). DMS = 2,6383 parte aérea. DMS = 5,7862 raízes primárias.

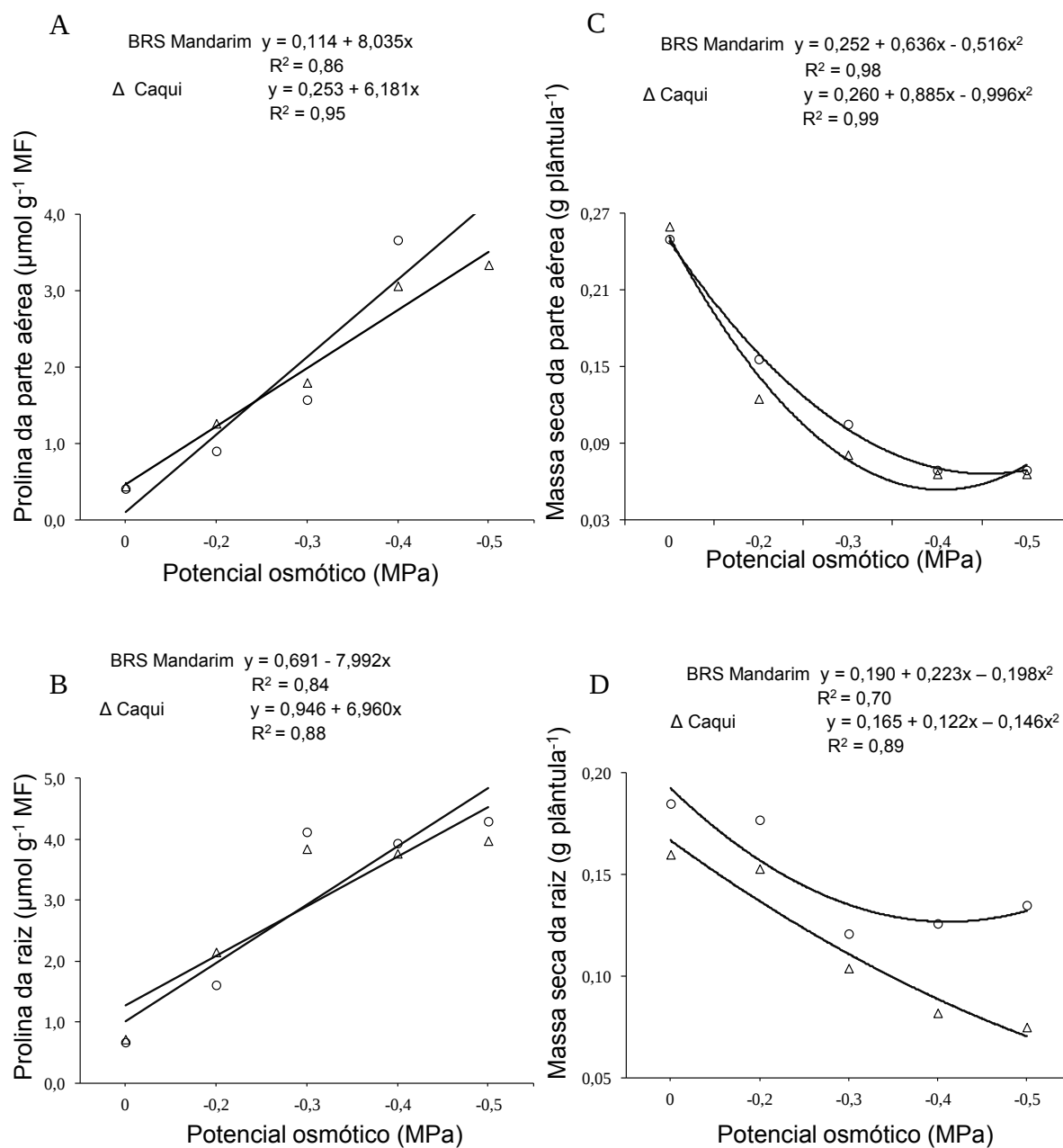


Figura 4. Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de guandu cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º dia após a semeadura, sob deficiência hídrica. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

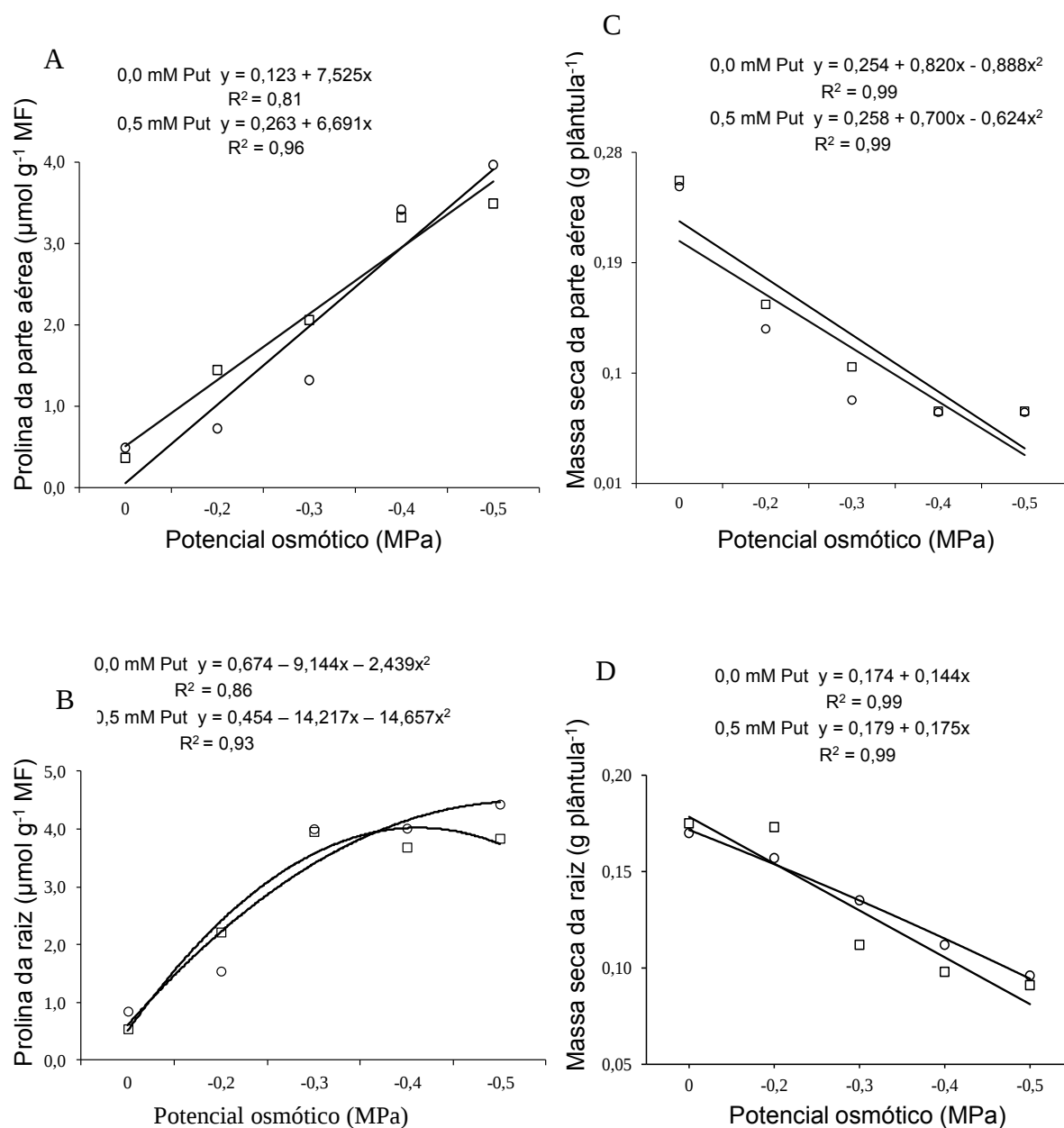


Figura 5. Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula g^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de guandú 0,0 mM de putrescina e 0,5 mM de putrescina, no 10º dia após a semeadura, sob deficiência hídrica, com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

Tabela 5. Teores de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e crescimento inicial (g plântula g^{-1}) da parte aérea e raízes primárias de duas cultivares de guandú,

cv. BRS Mandarin e cv. Caqui, no 10º após a semeadura, sob estresse hídrico (PEG) com e sem adição de putrescina. Jaboticabal, SP. 2010 - 2013.

Concentração de Putrescina (mM)	Prolina da Parte aérea ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)		Prolina das raízes primárias ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	
	BRS Mandarin	Caqui	BRS Mandarin	Caqui
0,0	2,382 aA	1,584 bB	3,2197 aA	2,7238 bB
0,5	1,887 bB	2,385 aA	2,6396 bB	3,0661 aA

	Crescimento inicial da Parte aérea (g plântula^{-1})		Crescimento inicial das Raízes primárias (g plântula^{-1})	
	BRS Mandarin	Caqui	BRS Mandarin	Caqui
0,0	0,119 bA	0,122 aA	0,148 bA	0,120 aB
0,5	0,141 aA	0,117 aB	0,150 aA	0,109 bB

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical (dentro de cultivares) e maiúscula na horizontal (entre cultivares) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P> 0,05).

Em plântulas de milho (ANJUM et al., 2011) e de trigo (QAYYUM et al., 2011) após 10 dias sob estresse hídrico foi verificado o acúmulo de prolina. De fato, em plantas sob deficiência hídrica, o aminoácido prolina é considerado osmólito-chave para induzir o ajuste osmótico (NAYYAR, 2003).

Nas plantas, o acúmulo de prolina, pode estar relacionado à síntese “de novo” e à diminuição de seu catabolismo, porém, a baixa utilização de prolina durante o estresse, em consequência da redução na síntese protéica e do aumento na proteólise pode inclusive contribuir para seu acúmulo (TROVATO et al., 2008; SZABADOS & SAVOURÉ, 2010; ASHRAF et al., 2011).

Todavia, apesar do aumento da prolina não foi constatado maior crescimento das plântulas de guandu sob os estresses. Na realidade, quanto mais severo os estresses maiores foram à redução da massa de matéria seca das partes vegetativas (Figuras 3C, 3D, 4C, 4D).

Muitos estudos evidenciam que níveis crescentes de NaCl causam a acentuada redução do crescimento das plantas cultivadas (AMOOAGHAIE, 2011; MACEDO, 2012; MANTRI et al., 2012). Esta diminuição do crescimento pode ter sido causada não somente pela redução do potencial hídrico induzido pelo sal, mas pelos efeitos tóxicos do NaCl no metabolismo da planta. O estresse salino causa, inclusive, acúmulo de Na^+ e Cl^- , conduzindo à toxicidade iônica e desbalanço nutricional (KARAN & SUBIDHI, 2012). Os íons Na^+ afetam a integridade da membrana plasmática das células radiculares (KARAN & SUBIDHI, 2012), o que explicaria o reduzido crescimento das raízes primárias encontradas no presente trabalho (Figura 3D) e consequentemente ao menor desenvolvimento da parte aérea (Figura 3C). Também, a restrição hídrica causada pelo agente osmótico PEG no presente trabalho, provoca acentuada redução do crescimento, pelo fato do turgor celular estar diretamente relacionado com a expansão das células na região de alongamento celular; o déficit hídrico afeta os processos fisiológicos e bioquímicos, os quais são vitais para a produtividade vegetal. Apesar de constar na literatura inúmeras pesquisas sobre o acúmulo de prolina em plantas sob deficiência hídrica (TROVATO et al., 2008; SZABADOS & SAVOURÉ, 2010; ASHRAF et al., 2011; GRANT, 2012; MANTRI et al., 2012), os resultados encontrados neste trabalho não correlacionam o acúmulo deste aminoácido ao incremento no crescimento em plantas sob deficiência hídrica. É importante salientar que, o acúmulo de

prolina, *per se*, não causou efeito deletério no crescimento, pois, Ashraf et al. (2011) salientam que, poucas literaturas indicam que, o aumento de osmólitos, utilizados como ferramenta na engenharia genética de plantas que não estão ainda estressadas, reduzem o crescimento, evidenciando que o acúmulo pode até não favorecer o crescimento, mas também não é, geralmente, prejudicial à produtividade do vegetal.

Observou-se o aumento dos teores de prolina da parte aérea em plantas de guandu submetida ao estresse hídrico, com e sem adição de putrescina em ambas cultivares de guandu (Figura 5A). Este resultado mostra que, a putrescina não promoveu o aumento de prolina na parte aérea, pois na ausência da mesma mostrou-se o mesmo resultado (Figura 5A). O mesmo ocorreu com relação às raízes primárias em que houve um incremento crescente dos teores de prolina com e sem adição de 0,5 mM de putrescina (Figura 5B). O estresse hídrico ocasiona o acúmulo de prolina em plantas, visto que a prolina em condições de deficiência hídrica atua no ajuste osmótico, osmoproteção, proteção de biomoléculas contra a desnaturação (TROVATO et al., 2008; SZABADOS et al., 2011).

Foi verificado redução do crescimento na parte aérea com a diminuição do potencial osmótico do substrato (Figura 5C) com tendências quadráticas para ambas as concentrações de putrescina 0,0 e 0,5 mM. A mesma tendência de resposta foi observada para o crescimento das raízes primárias, entretanto com tendência linear de redução na presença e ausência de putrescina.

A adição exógena de 1,0 mM de putrescina em condições *in vitro* promoveu o crescimento do número e comprimento de raízes visto que poliaminas, como a putrescina, modulam eventos associados ao crescimento e multiplicação celular (KUSANO et al., 2008; MENDES et al, 2011). Entretanto, no presente estudo essa função não foi evidenciada visto que as concentrações de NaCl adotadas neste estudo promoveram redução da massa seca de ambas estruturas (parte aérea e raízes primárias) na mesma intensidade.

A aplicação exógena de 0,5 mM de putrescina promoveu incrementos nos teores de prolina na parte aérea e raízes primárias em plântulas de cv. Caqui (Tabela 5) da ordem de 33, 6 e 11,% em relação ao tratamento controle. Entretanto, essa mesma resposta não foi observada tanto na parte aérea como

nas raízes primárias de plântulas de guandu cv. BRS Mandarin. Entre as cultivares de guandu, a adição de 0,5 mM de putrescina promoveu incrementos de prolina na ordem de 21% em relação a cv. BRS Mandarin. A mesma tendência de resposta foi observada nas raízes primárias, onde a cv. Caqui apresentou incremento da ordem de 14% em relação a cv. BRS Mandarin, sugerindo maior responsividade da prolina à aplicação de 0,5 mM nesta cultivar de guandu. Por outro lado, a aplicação de 0,5 mM de putrescina promoveu incremento da ordem de 15, 6% na massa seca da parte aérea na cv. BRS Mandarin em comparação a cv. Caqui (Tabela 4), não sendo verificada, entretanto, a mesma tendência de resposta no crescimento das raízes primárias de ambas cultivares que não diferiram significativamente ($P > 0,05$).

Verificou-se resposta crescente dos teores de prolina da parte aérea com a redução do potencial osmótico em ambas cultivares (Figura 4A), bem como nas raízes primárias (Figura 5B). Nas plantas, o acúmulo de prolina pode estar relacionado à síntese “de novo” e à diminuição de seu catabolismo, porém, a baixa utilização de prolina durante o estresse, em consequência da redução na síntese protéica e do aumento na proteólise pode inclusive contribuir para seu acúmulo (BRITO et al., 2008; TROVATO et al., 2008).

Apesar do incremento dos teores de prolina na parte aérea e raízes primárias (Figura 4A e 4B), não foi observada uma resposta semelhante com relação ao crescimento da parte aérea e radicular em ambas cultivares, embora a prolina seja considerada como um dos principais osmólitos compatíveis que se acumulam em um número considerável de espécies de plantas (TROVATO et al., 2008).Entretanto, os resultados encontrados no presente estudo mostram que a participação da prolina não foi efetiva em melhorar a resposta das cultivares quanto ao crescimento frente à restrição hídrica imposta, mesmo quando da presença exógena de 0,5 mM de putrescina, possivelmente pelo fato deste aminoácido participar de outras vias de ação na mitigação dos efeitos nocivos dos tratamentos hídricos que não aquele que proporcione ganhos em massa seca em condições de deficiência hídrica.

Verificou-se que, com o aumento da severidade dos estresses hídrico ou salino houve acúmulo nos teores de prolina e redução acentuada do crescimento inicial de ambas cultivares. A putrescina exógena incrementou os

teores de prolina de plântulas de ambas cultivares de guandu sob estresse salino independente da severidade do estresse, porém para o estresse hídrico a putrescina causou aumento da prolina em concentrações moderadas de potencial osmótico. No estresse hídrico mais severo a adição desta poliamina reduziu os teores de prolina. O crescimento da parte aérea e das raízes primárias nas cultivares sob estresse hídrico não sofreram melhora na presença de putrescina. A adição de putrescina causou aumento de prolina nas plântulas sob estresse hídrico somente da Caqui, contudo o crescimento da BRS Mandarin foi maior que da Caqui, indicando que a adição de putrescina pode induzir o acúmulo de prolina.

A participação da prolina não foi efetiva em melhorar a resposta das cultivares de guandu quanto ao crescimento frente à restrição hídrica imposta mesmo quando da presença exógena de 0,5 mM de putrescina, possivelmente pelo fato deste aminoácido participar de outras vias de ação na mitigação dos efeitos nocivos dos tratamentos hídricos que não aquele que proporcione ganhos em massa seca em condições de deficiência hídrica.

V. CONCLUSÕES

- O estresse salino e hídrico reduzem a germinação de sementes e o crescimento inicial de ambas as cultivares de guandu.
- A putrescina exógena atenua os efeitos deletérios apenas do estresse salino na germinação de sementes de ambas as cultivares de guandu.
- A putrescina não foi efetiva em melhorar a resposta de sementes e plântulas de guandu submetidas à deficiência hídrica.
- Os estresses salino e hídrico causam acúmulo de prolina podendo ser considerado osmólito indicador bioquímico-fisiológico dos efeitos destes estresses em plântulas de ambas cultivares de guandu.
- A putrescina exógena causa acúmulo de prolina nas plântulas de ambas cultivares de guandu sob estresse salino e apenas nos níveis moderados de estresse hídrico.
- O maior crescimento da cv. BRS Mandarin com putrescina exógena não está relacionado com o maior conteúdo de prolina.
- A cv. BRS Mandarin é mais resistente ao estresse hídrico que a cv. Caqui.

VI. REFERÊNCIAS

- AFZAL, I.; MUNIR, F.; AYUB, C.M.; BASRA, S.M.A.; HAMEED, A. AND NAWAZ, A. Changes in antioxidant enzymes, germination capacity and vigour of tomato seeds in response of priming with polyamines. **Seed Science & Technology**, v.37, p. 765-770, 2009.
- AGARWAL, S. AND V. PANDY. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. **Biologia Plantarum**, v.48, p.550-560, 2004.
- 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**, v. 66, n. 3, p. 409-417, 2009.
- ALCÁZAR, R.; PLANAS, J.; SAXENA, T.; ZARZA, X.; BORTOLOTTI, C.; CUEVAS, J.; BITRIÁN, M.; TIBURCIO, A. F.; ALTABELLA, Y. Putrescine accumulation confers drought tolerance in transgenic arabidopsis plants over-expressing the homologous Arginine decarboxylase 2 gene. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p.547-552, 2010.
- 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**, v. 28, n. 23, p. 1867-1876, 2006.
- ALVES, S. M. C.; ABOUD, A. C. S.; RIBEIRO, R. L. D.; ALMEIDA, D. L. Balanço do nitrogênio e fósforo em solo com cultivo orgânico de hortaliças após a incorporação de biomassa de guandu. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1111-1117, 2004.
- AMOOAGHAIE, R. The effect of hydro and osmopriming on alfalfa seed Germination and antioxidant defenses under salt stress. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n.33, p. 6269-6275, 2011.
- AMRI, E.; MOHAMMADI.; Effects of timing of drought stress on pomegranate seedlings (*Punica granatum* L. cv 'Atabaki') to exogenous spermidine and putrescine polyamines. **African Journal of Microbiology Research**, n. 6, v, 25, pp. 5294-5300, 2012.
- ANJUM, S.A.; XIE, X.Y.; WANG, L.C.; SALEM, M.F.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.
- ARAUS, J. L., SLAFER, G. A., ROYO, C., & SERRET, M. D. Breeding for yield potential and stress adaptation in cereals. **Critical Reviews in Plant Sciences**, n. 27, p. 377-412, 2008.
- ASHRAF, M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 84-93, 2009.
- 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**, v. 111, p. 249-296, 2011.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p.206-216, 2007.

- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v.166, p.3-16, 2004.
- AZEVEDO NETO, A.D.; PRISCO, J.T.; ENEAS-FILHO, J.; LACERDA, C.F.; SILVA, J.V.; COSTA, P.H.A.; GOMES-FILHO, E. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 31-38, 2004.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237p.
- BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science and Technology*, v. 6, p. 341-346, 1995.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v.39, n. 1, p. 205-207, 1973.
- BEGUM, S.; PRODHAN, A.K.M. Anatomy of the root of pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 15, p. 1296-1303, 2003.
- BELTREME, T.P.; RODRIGUES, E. Feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na restauração de florestas tropicais Guandu bean (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) on tropical forest restoration. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 19-28, 2007.
- BHAMBURDEKAR S.B, CHAVAN P.D. Effect of some stresses on free proline content during pigeonpea (*cajanas cajan*) seed germination. **Journal of Stress PHYSIOLOGY & BIOCHEMISTRY**, VOL. 7, P. 235-241, 2011.
- BONAMIGO, L. A. Recuperação de pastagens com guandu em sistema de plantio direto. **Informações Agronômicas**, n. 88, dez. 1999. Disponível em: <[http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d5fbc829a2f54298832569f8004695c5/\\$FILE/Encarte%2088.pdf](http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d5fbc829a2f54298832569f8004695c5/$FILE/Encarte%2088.pdf)>. Acesso em: 10 jan. 2008.
- BOTELHO, B. A.; PEREZ, S. C. J. G. A. Growth regulators and water stress in canafistula seed germination. **Scientia Agricola**, Piracicaba, SP., v.58, n.1, p.43-49, 2001.
- BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; ALMEIDA, T. A. Germinação de sementes de *Enterolobium schomburgkii* (Benth.) Benth. submetidas a estresse salino e aplicação de poliamina. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 1, p. 63-70, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- BRILHANTE, J. C. A.; SILVEIRA, J. A. G.; ROCHA, I. M. A.; MORAIS, D. L.; VIÉGAS, R. A. Influência do tempo de aclimação na resposta do cajueiro à salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 2, p. 173-179, 2007.
- BRINK, B.T.; DAMINK, C.; JOOSTEN H.M.L.J.; HUIS IN'T VELD, J.H.J. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 11, p. 73-84, 1990.

BRITO, L. K. F. L. de; SILVEIRA, J. A. G.; LIMA, L. L. F. de; TIMÓTEO, A. R. de S.; CHAGAS, R. M.; MACEDO, C. E. C. de. Alterações no perfil de frações nitrogenadas em calos de cana-de-açúcar induzidas por deficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 683-690, 2008.

CÁCERES, N. T.; ALCARDE, J. C. Adubação verde com leguminosas em rotação com cana-de-açúcar (*Saccharum* spp). **STAB**, v. 13, n. 5, p. 16-20, 1995.

CHA-UM, S.; TAKABE, T.; KIRDMANEE, C. Osmotic potential, photosynthetic abilities and growth characters of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings in responses to polyethylene glycol-induced water deficit. **African Journal of Biotechnology**, v.9, n.39, p. 6509-6516, 2010.

CHAVES M. M.; FLEXAS J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v.103, n. 4, p. 551-560, 2009.

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. **EXTENSIO – Revista Eletrônica de Extensão**, Florianópolis, mai. 2004. Disponível em: <http://www.extensio.ufsc.br/20041/artigos_pdfs/CCA_Jucinei_Comin.pdf> Acesso em: 05 jan. 2012.

COLLI, S. Outros Reguladores: Brassinosteróides, Poliaminas, Ácido Jasmônico e Salicílico. In KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: Guanabara Koogan ed. Cap. 14. p. 296-302, 2008.

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. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, USA. Cap.17, p. 911-915.

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

DANTAS, B. F.; RIBEIRO R. S.; ARAGÃO C. A. Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p.106-110, 2007.

DANTAS, C. V. S.; SILVA, I. B.; PEREIRA, G. M.; MAIA, J. M.; LIMA, J. P. M. S.; MACEDO, C. E. C. Influência da sanidade e deficit hídrico na germinação de sementes de *Carthamus tinctorius* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3 p. 574 - 582, 2011.

DUAN, J.; LI, J.; GUO, S. R.; KANG, Y. Exogenous spermidine affects polyamine metabolism in salinity-stressed *Cucumis sativus* roots and enhances short-term salinity tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n.15, p. 1620-1635, 2008.

DURAN, J. M.; TORTOSA, M. E. The effect of mechanical and chemical scarification on germination of charlock *Sinapsis arvensis* L. seeds. **Seed Science & Technology**, v. 13, p. 155-163, 1985.

EASTON, L. C.; KLEINDORFER, S. Effects of salinity levels and seed mass on germination in Australian species of *Frankenia* L. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 65, p. 345-352, 2009.

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

FONSECA, S.C.L.; PEREZ, S.C.G.A. Germinação de sementes de olho-de-dragão (*Adenanthera pavonina* L.): Ação de poliaminas na atenuação do estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.14-20, 2001.

GALSTON, A. W.; KAUR-SAWHNEY, R.; ATABELLA, T.; TIBURCIO, A. F.; Plant Polyamines in Reproductive Activity and Response to Abiotic Stress, **Botanic Acta**, , v. 110, n. 4, p.197-207, 1997

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. **Plant Signaling & Behavior**, 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**, v. 32, n. 3, p. 546-555, 2003.

GRANT, O, M. Understanding and Exploiting the Impact of Drought Stress on Plant Physiology. In: AHMAD, I (ed). **Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability**. 1ª ed. Springer Science Business Media, Cap. 5. p.89-104, 2012.

GROPPIA, M. D.; BENAVIDES, M. P. Polyamines and abiotic stress: recent advances. **Amino Acids**, v. 34, p. 35-45, 2008.

HANDA, A. K.; MATTOO, A. K. Differential and functional interactions emphasize the multiple roles of polyamines in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 540-546, 2010.

HARDEGREE, S. P., EMMERICH, W. E. Seed germination in response to polyethylene glycol solution. **Seed Science & Technology**, v. 22, p. 1-7, 1994.

HENNION, H.; COUÉE, F. I. Characterization of environmental stress responses during early development of *Pringlea antiscorbutica* in the field at Kerguelen. **New Phytologist**, v. 162, p. 705-715, 2004.

HUSSAIN, S.S; ALI, M; AHMAD, M; SIDDIQUE, K.H.M. Polyamines: Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. **Biotechnology Advances**, Volume 29, Issue 3, May-June 2011, Pages 300-311, 2011

IGARASHI, K.; KASHIWAGI, K. Modulation of cellular function by polyamines. Review. [The International Journal of Biochemistry & Cell Biology](#), v. 42, n. 1, p. 39-51, 2010.

KANTAR, M.; LUCAS, S.J.; BUDAK, H. Drought Stress: Molecular Genetics and Genomics Approaches. **Advances in Botanical Research**, v, 57, p. 446-473, 2011.

KARAN, R.; SUBUDHI, P, K. Approaches to Increasing Salt Tolerance in Crop Plants. In: AHMAD, I (ed). **Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability**. 1ª ed. Springer Science Business Media, Cap. 4. p.63-88, 2012.

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**, 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**, v. 45, n. 6, p. 712-722, 2004.

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**, v. 165, n. 4, p. 397-406, 2008.

KUMAR, R. R.; KARJOL, K.; NAIK, G. R. Variation of sensitivity to drought stress in pigeon pea (*Cajanus cajan* [L.] Millsp) cultivars during seed germination and early seedling growth. **World Journal of Science and Technology**, v.1, n. 1, p. 11-18, 2011.

KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; TAKAHASHI, Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, v. 228, n. 3, p. 367-381, 2008.

LEME R.; FILHO N. L.; COUTO L. B.; BARROS E.; FARIA S. M.; GRIBEL R. Desenvolvimento de três gramíneas e sete leguminosas forrageiras para revegetação de área de empréstimo de argila na Amazônia Central. **CEMAC - Centro de Excelência em Matas Ciliares**, Lavras, 2005. Disponível em: <[http://www.cemac-ufla.com.br/trabalhospdf/trabalhos %20 voluntarios/Protoc% 20175.pdf](http://www.cemac-ufla.com.br/trabalhospdf/trabalhos%20voluntarios/Protoc%20175.pdf)>. Acesso em: 29 maio 2012.

LIMA, A.S.; GLÓRIA, M.B.A. Aminas bioativas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 70-79, 1999.

LOPES, C. J.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de couve chinesa sob influência do teor de água, substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 3, p. 79-85, 2008.

LORENZO, L., MERCHAN, F., BLANCHET, S., MEGY´AS, M., FRUGIER, F., CRESPI M., SOUSA, C. Differential expression of the regulatory Pathway in response to salt stress between *Medicago truncatula* genotypes. **Plant Physiology**, v. 145, p. 1521-1532, 2007.

MACEDO, A, F. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism to Productivity. In: AHMAD, I (ed). Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. 1ª ed. **Springer Science Business Media**, Cap. 3. p.41-61, 2012.

MANTRI, N.; PATADE, V.; PENNA, S.; FORD, R.; PANG, E.; Abiotic Stress Responses in Plants: Present and Future. . In: AHMAD, I (ed). Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. 1ª ed. **Springer Science Business Media**, Cap. 1. p.1-20, 2012.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARTIN-TANGUY, J. Metabolism and function of polyamines in plants: free and bound polyamines changes after uv-b irradiation 65 recent development (new approaches). **Plant growth regul**, v. 34, p. 135- 148, 2001.

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

MELLONI, M. L. G.; CRUZ, F. J. R.; SANTOS, D. M. M.; SOUZA, L. F. G.; SILVA, J.; SACCINI, V. A.; MONTEIRO, J. G. Espermidina exógena atenua os efeitos do NaCl na germinação e crescimento inicial de leguminosas forrageiras. **Revista Brasileira de. Sementes**, v.34, n.3, 2012.

MENDES, A. F. S.; CIDADE, L. C.; OTONI, W. C.; SOARES-FILHO, W. S.; COSTA, M. G. C. Role of auxins, polyamines and ethylene in root formation and growth in sweet orange. **Biologia Plantarum**, v. 55, n.2, p. 375-378, 2011.

MILNER-WHITE, E. J.; BELL, L. H.; MACCALUM, P. H. Pyrrolidine ring puckering in *cis* and *trans*-proline residues in proteins and polypeptides: Different puckers are favoured in certain situations **Journal of Molecular Biology**, v. 228, n. 3, p. 725-734, 1992.

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

MORAES, G. A. F.; MENEZES, N. L. Desempenho de sementes de soja sob condições diferentes de potencial osmótico. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 219-226, 2003.

MOTERLE, L.M.; SCAPIM, C.A.; BRACCINI, A.L.; RODOVALHO, M.A.; R.R. BARRETO Influência do estresse hídrico sobre o desempenho fisiológico de sementes de híbridos simples de milho-pipoca. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1810-1817, 2008.

MUNNS, R. & TESTER M., Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**. v. 59, p. 651-681, 2008.

MUNNS, R. Plant Adaptations to Salt and Water Stress: Differences and Commonalities. In: TURKAN, I (ed). Plant Responses to drought and Salinity stress: developments in a post-genomic era. 1^a ed. **Academic Press Advances in botanical research**, v. 57, Cap. 5. p.1-32 2011.

NATERRA - Nacional de Sementes Comercial e Importadora Ltda. **Feijão guandu**. Disponível em <<http://www.naterra.com.br/produtos/produtos.asp?id=39>> Acesso em: 29 maio 2012.

NAYYAR, H. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. **Environmental and Experimental Botany**, v. 50, n. 2, p. 253-264, 2003.

NEDJIMI, B. Salt tolerance strategies of *Lygeum spartum* L.: A new fodder crop for Algerian saline steppes. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 204, n. 10, p. 747-754, 2009.

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

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**, v. 13, n. 1, p. 755-787, 2001.

ORTEGA, C.S.; ALFARO, A.O.; ERRO, R.A.; SATACRUZ, G.A.A.; BREMONT, J. PASCHALIDIS, K.A.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. Spatial and temporal distribution of polyamine levels and polyamine anabolism in different organs/tissues of the tobacco plant. Correlations with age, cell division/expansion, and differentiation. **Plant Physiology**, v. 138, p. 142–152, 2005.

PELEG, Z.; WALIA, H.; BLUMWALD, E. Integrating genomics and genetics to accelerate development of drought and salinity tolerant crops. **Plant Biotechnology and Agriculture**, v. 18, p. 271-286, 2012.

PEREIRA, M.R.R.; MARTINS, C. C.; SOUZA, G.S.F.; MARTINS. Influência do estresse hídrico e salino na germinação de *Urochloa decumbens* e *Urochloa ruziziensis*. **Biosci. J.**, v. 28, n. 4, p. 537-545, 2012.

PEREZ, S.C.J.G.A.; ANDRADE, A.C.S.; MARTINS FILHO, C.A.S.; HOJAS, M.H.C. Eficiência de reguladores de crescimento na atenuação do estresse salino em sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng) Taub). **Revista de Tecnologia do Ambiente**, v.5, n.2, p.63-76, 1999.

PROVAZI, M.; CAMARGO, L. H. G.; SANTOS, P. M.; GODOY, R. Descrição botânica de linhagens puras selecionadas de guandu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 328-334, 2007.

PURCINO, A. A. C. (Coord.). **Plano de gestão dos grupos temáticos da Embrapa**. Disponível em < <http://www.cnpms.embrapa.br/nucleos/nea/nea.html> > Acesso em 20 maio. 2012.

QAYYUM, A.; RAZZAQ, A.; AHMAD, M.; JENKS, M.A. Water stress causes differential effects on germination indices, total soluble sugar and proline content in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.64, p. 14038-14045, 2011.

QUEIROZ, D.S; FONSECA, D.M; MOREIRA, L.M. Importância do manejo do pastejo sobre a persistência e sustentabilidade da pastagem. **Informe Pecuário**. EPAMIG, v.26 n. 226, p.54-65, 2005.

QUINET, M.; NDAYIRAGIJE, A.; LEFÈVRE, I.; LAMBILLOTTE, B.; DUPONT-GILLAIN, C. C.; LUTTS, S. Putrescine differently influences the effect of salt stress on polyamine metabolism and ethylene synthesis in rice cultivars differing in salt resistance. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 10, p. 2719-2733, 2010.

RAHDARI, P.; HOSEINI, S. M. Drought Stress: A Review. **International journal of Agronomy and Plant Production**, v. 3, n.10, p. 443-446, 2012.

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.

REIS, R. S.; BERTIPAGLIA, L. M. A.; FREITAS, D.; MELO, G. M. P.; BALSALOBRE, M. A. A. Suplementação protéico-energética e mineral em sistemas de produção de gado de corte nas águas e nas secas. In: **Simpósio sobre bovinocultura de corte: Pecuária de corte intensiva nos trópicos**, Piracicaba: FEALQ, 2004. p. 171-226.

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 03 janeiro. 2013.

RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; ROMAN, E. S. Avaliação do Potencial Hídrico Foliar em Plantas de Trigo. Passo Fundo, RS: **Embrapa Trigo**, 2003. 12 p. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/ci/p_ci15.htm. Acesso em: 06 janeiro. 2013.

ROYCHOUDHURY, A.; BASU, S.; SENGUPTA, D. N. Amelioration of salinity stress by exogenously applied spermidine or spermine in three varieties of indica rice differing in their level of salt tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v.168, n.4, p.317-328, 2011.

SAHAA, S.; CHAKRABORTYA, D.; LATA.; PALC, M.; NAGARAJANA, S. Impact of elevated CO₂ on utilization of soil moisture and associated soil biophysical parameters in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). **Agriculture, Ecosystems and Environment**, n.142, p. 213– 221, 2011.

SEIFFERT, N.F.; THIAGO, L.R.L. Legumineira: cultura forrageira para *produção de proteína*. Campo Grande: **Embrapa Gado de Corte**, 1983. 52 P. (Circular Técnica, 13).

SEKMEN, A. H.; TURKAN, I.; TANYOLAC, Z.O.; OZFIDAN, C.; DINC, A. Different antioxidant defense responses to salt stress during germination and vegetative stages of endemic halophyte *Gypsophila oblanceolata* Bark. **Environmental and Experimental Botany**, n. 77, p. 63– 76, 2012.

SHARMA, D. K.; DUBEY, A. K.; SRIVASTAV, M.; SINGH, A. K.; SAIRAM, R. K.; PANDEY, R. N.; DAHUJA, A.; KAUR, C. Effect of Putrescine and Paclobutrazol on Growth, Physiochemical Parameters, and Nutrient Acquisition of Salt-sensitive Citrus Rootstock Karna khatta (*Citrus karna* Raf.) under NaCl Stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 30, n.3, p. 301-311, 2011.

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**, v. 162, n. 8, p. 854-862, 2005.

SILVA, J. B.; RODRIGUES, T. J. D.; VIEIRA, R. D. Desempenho de sementes de soja submetidas a diferentes potenciais osmóticos em polietilenoglicol. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1634-1637, 2006.

SILVA, L. M. M.; AGUIAR, I. B.; MORAIS, D. L.; RICARDO, A.; VIÉGAS, R. A. Estresse hídrico e condicionamento osmótico na qualidade fisiológica de sementes de *Cnidioscolus juercifolius*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 1, p. 66-72, 2005.

SILVA-ORTEGA, C.O.; OCHOA-ALFARO, A.E.; REYES-AGUERO, J.A.; AGUADO-SANTACRUZ, G.A.; JIMENEZ-BREMONT, J.F. Salt stress increases

the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. **Plant Physiology and Biochemistry**, n.46, p. 82-92, 2008.

SOUZA FILHO, A. P. S. Influência da temperatura, luz e estresses osmótico e salino na germinação de *Leucaena leucocephala*. **Pasturas Tropicales**, v. 22, n. 2, p. 47-53, 2000.

SZABADOS, L. S.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends Plant Science**, v. 15, p. 89-97, 2010.

SZABADOS, L.; KOVACS, H.; ZILBERSTEIN, A.; BOUCHEREAU, A. Plants in extreme environments: importance of protective compounds in stress tolerance. **Advances in Botanical Research**, v. 57, p. 105-133, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4^a ed. Trad. Eliane Romanato Santarém et al. Porto Alegre: Artmed. 2010. 819p.

TAKAHASHI, T.; KAKEHI, J.I. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. **Annals of Botany**, n. 105, p. 1–6, 2010.

TASSONI, A., FRANCESCHETTI, M., BAGNI, N. Polyamines and salt stress response and tolerance in *Arabidopsis thaliana* flowers. **Plant Physiology and Biochemistry**, Denton, v. 46, n. 5/6, p. 607-613, 2008.

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

TÜRKAN & DEMIRAL. Recent developments in understanding salinity tolerance. **Journal of Experimental Botany**, n. 67, p. 2-9, 2009.

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

VARELA, V. P.; RAMOS, M. B. P.; MELO, M. F. F. Substrate moisture and temperature in germination of angelim pedra (*Dinizia excelsa* Ducke) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 2, p. 130-135, 2005.

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

VILLELA, F.A.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6.000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p. 1957-1968,1991.

VOIGT, E.L.; ALMEIDA, T.D.; CHAGAS, R.M.; PONTE, L.F.A.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Source-sink regulation of cotyledonary reserve mobilization during cashew (*Anacardium occidentale*) seedling establishment under NaCl salinity. **Journal of Plant Physiology**, v.166, p.80-89, 2009.

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

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

XU, S.; HU, J.; LI, Y.; MA, W.; ZHENG, Y.; ZHU, S. Chilling tolerance in *Nicotiana tabacum* induced by seed priming with putrescine. **Plant Growth Regul**, n. 63, p. :279–290, 2011.

YADAV, S.; IRFAN, M.; AHMAD, A.; HAYAT, S. Causes of salinity and plant manifestations to salt stress: A review. **Journal of Environmental Biology**, v. 32, p. 667- 685, 2011.

YIU, J. C.; JUANG, L. D.; FANG, D. Y. T.; LIU, C. W.; WU, S. J. Exogenous putrescine reduces flooding-induced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. **Scientia Horticulturae**, v. 120, p. 306-314, 2009.

ZEID, I.M.; SHEDEED, Z.A. Alterations in Nitrogen Metabolites after Putrescine Treatment in Alfalfa under Drought Stress. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.10, p. 1513-1518, 2007.

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