

## Espermidina exógena atenua os efeitos do NaCl na germinação e crescimento inicial de leguminosas forrageiras<sup>1</sup>

Maria Letícia Guindalini Melloni<sup>2</sup>, Flávio José Rodrigues Cruz<sup>2\*</sup>, Durvalina Maria Mathias dos Santos<sup>2</sup>, Luiz Felipe Gevenez de Souza<sup>2</sup>, Jéssica da Silva<sup>2</sup>, Vanessa Aparecida Villanova Saccini<sup>2</sup>, Juliana Geseira Monteiro<sup>2</sup>

RESUMO – Objetivou-se nesse estudo avaliar o papel atenuador da espermidina exógena sobre a germinação, vigor de sementes e crescimento de plântulas de cultivares das forrageiras alfafa, guandu e labe-labe submetidas ao estresse salino. A semeadura foi realizada em caixas de plástico tipo “gerbox” forradas com papel de filtro umedecidos com soluções salinas nas concentrações de 0, 20, 40, 60, 80 e 120 mM de NaCl contendo 0 ou 0,5 mM de espermidina. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 6 x 2 (forrageiras x salinidade x espermidina) com cinco repetições de 25 sementes. As avaliações da germinação foram realizadas no quarto e décimo dias, juntamente com o índice de velocidade de germinação (IVG), avaliado até o nono dia após a semeadura. Determinou-se a concentração salina que reduz em 50% a germinação e a massa seca da parte aérea e raiz no décimo dia após a semeadura. A aplicação de espermidina exógena proporcionou maior acúmulo de massa seca das raízes de labe-labe cv. Rongai, além de ter possibilitado a germinação de 50% das sementes de guandu cv. Caqui até a concentração salina de 72,09 mM de NaCl, assim como maior IVG nas sementes das leguminosas alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai.

Termos para indexação: estresse salino, *Medicago sativa* L., *Cajanus cajan* (L.) Millsp, *Dolichos lablab* (L.), índice de velocidade de germinação.

## Exogenous spermidine alleviates the effects of NaCl on the germination and initial growth of forage legumes

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the mitigating role of exogenous spermidine on the seed germination, seed vigor and seedling growth of alfalfa forage cultivars, pigeon pea and lablab subjected to salt stress. The seeds were sown in plastic gerboxes lined with filter paper moistened with saline solutions at concentrations of 0, 20, 40, 60, 80 and 120 mM NaCl containing 0 or 0.5 mM spermidine. The experimental design was a completely randomized factorial 3 x 6 x 2 (forage x salinity x spermidine) with five replicates of 25 seeds. Germination was evaluated on the fourth and tenth days, along with the germination speed index, measured until the ninth day after sowing. The salt concentration had reduced germination and the dry weight of shoot and root by 50% on the tenth day after sowing. The application of exogenous spermidine resulted in a greater dry root weight of lablab cv. Rongai, 50% germination of pigeon pea seeds cv. Caqui at the salt concentration of 72.09 mM NaCl, and a higher GSI for alfalfa cv. Crioula and lablab cv. Rongai seeds.

Index terms: salt stress, *Medicago sativa* L., *Cajanus cajan* (L.) Millsp, *Dolichos lablab* (L.), germination speed index.

<sup>1</sup>Submetido em 11/10/2011. Aceito para publicação em 09/03/2012.

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 14884-900–Jaboticabal, SP, Brasil.

\*Autor para correspondência <fjrc@bol.com.br>

## Introdução

A salinização dos solos agrícolas é uma preocupação mundial não somente em relação ao cultivo em regiões áridas e semiáridas que são naturalmente salinizadas, mas especialmente quanto às terras irrigadas nas quais a água é o agente transportador de sais pelo perfil do solo (Ashraf et al., 2008). Em todo o mundo, os solos salinos são representados por 397 milhões de hectares (Munns, 2002), e estima-se que, mais de 6% dos solos mundiais e 30% das áreas irrigadas possuam problemas de salinização, sobretudo, em razão da intensa evapotranspiração, baixas precipitações, qualidade da água de irrigação e manejo inadequado do sistema de irrigação (Veatch et al., 2004; Brilhante et al., 2007).

A disponibilidade hídrica no substrato das sementes é geralmente um fator limitante para a germinação de sementes não dormentes, o que afeta a porcentagem, velocidade e a uniformidade do processo, pois a água está associada à mobilização de reservas e liberação de energia através da respiração, com papel importante na atividade enzimática, reguladores de crescimento e diluição do protoplasma com a retomada do crescimento do embrião pela ativação de seu metabolismo (Marcos -Filho, 2005). Nesse sentido, o papel negativo do estresse salino sobre a germinação de sementes decorre do fato da salinidade acarretar diminuição do potencial hídrico do substrato com o consequente aumento do gradiente osmótico entre ele e as sementes, o que dificulta o mecanismo de embebição e conduz ao decréscimo do processo germinativo (Dantas et al., 2007; Lopes e Macedo, 2008).

Diversos estudos têm associado às alterações do metabolismo de poliaminas com respostas das plantas aos estresses em plantas (Benavides et al., 1997; Hussain et al., 2011; Alet et al., 2012; Cvikrová et al., 2012; Wimalasekera et al., 2011). As poliaminas, representadas pela espermidina, espermina, putrescina e cadaverina são compostos que se caracterizam por serem nitrogenados e alifáticos, policatiônicos, orgânicos polivalentes de baixos pesos moleculares e hidrofílicos (Bagni et al., 2006; Tassoni et al., 2008; Roychoudhury et al., 2011). Dentre as muitas funções fisiológicas atribuídas às poliaminas inclui-se a participação na proteção das plantas aos múltiplos estresses abióticos (Liu et al., 2007), como o anóxico (Jia et al., 2010), oxidativo (Kubis, 2005), salino (Duan et al., 2008), regulação de canais de íons, expressão

gênica, detoxificação de radicais livres (Srivastava et al., 2007), além da interação com grupos aniônicos em membranas, prevenindo o extravasamento celular e promovendo estabilização em condições adversas, atenuando o estresse salino e seus efeitos deletérios (Yamaguchi et al., 2006). Sabe-se que a aplicação exógena de espermidina promove respostas fisiológicas, bioquímicas e histoquímicas (Kubis, 2008) que vão desde atenuação do efeito tóxico de sais na germinação de sementes (Çavusoglu et al., 2007), até o incremento do crescimento de plântulas de pepino submetidas à hipoxia (Jia et al., 2010).

Pelo fato de poliaminas estarem associadas a respostas de plantas a vários tipos de estresses (Hussain et al., 2011; Alet et al., 2012) e algumas pesquisas terem apresentado resultados positivos quando avaliaram o efeito de poliaminas exógenas sobre a atenuação do estresse promovido por diferentes agentes e potenciais osmóticos (Braga et al., 2009), a aplicação exógena de poliaminas, em particular a espermidina, tem sido adotada com a perspectiva de melhorar o desempenho germinativo de sementes submetidas ao estresse salino.

Portanto, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a ação atenuante da espermidina exógena sobre a interferência do estresse salino nos parâmetros germinativos e de crescimento das forrageiras leguminosas alfafa, guandu e labe-labe.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Fisiologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em Jaboticabal-SP. Sementes de leguminosas forrageiras guandu cv. Caqui (*Cajanus cajan* (L.) Millsp), alfafa cv. Crioula (*Medicago sativa* L.) e labe-labe cv. Rongai (*Dolichos lablab* (L.)), armazenadas em câmara seca por 10 dias a 20 °C e umidade relativa de 13% foram utilizadas para a condução deste estudo.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 6 x 2, (leguminosas forrageiras x concentrações de NaCl x concentrações de espermidina) com cinco repetições e cada unidade experimental foi constituída por 25 sementes.

Inicialmente, as sementes foram esterilizadas com hipoclorito de sódio a 2% por 5 minutos e posteriormente lavadas com água destilada estéril para retirar o excesso de NaClO. Foram semeadas

25 sementes de cada espécie leguminosa em caixas de plástico tipo “gerbox” (11,0 x 11,0 x 3,5 cm) esterilizadas contendo papel de filtro umedecidos com as respectivas concentrações de 0, 20, 40, 60, 80 e 120 mM de NaCl na presença de 0 ou 0,5 mM de espermidina exógena no substrato de germinação (Spermidine Free Base Molecular Biology da SIGMA S-0266). Com o objetivo de manter constante as concentrações NaCl e espermidina adotadas nesse experimento, aos 3, 6 e 9 dias da semeadura, as sementes germinadas ou não dos tratamentos acima foram transferidas para novas caixas de plástico tipo “gerbox” contendo papel de filtro umedecido com as respectivas soluções de NaCl e espermidina, com volume de solução equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco. As caixas foram postas em germinador de câmara vertical tipo BOD sob condições controladas de temperatura e fotoperíodo de 25 °C ± 1 °C e 12 horas, respectivamente.

Foi realizado um teste preliminar nas mesmas condições experimentais acima, com duração de quatro e dez dias para avaliar o efeito da temperatura de 25 °C sobre a germinação de sementes de alfafa a fim de padronizar a temperatura de germinação no interior das câmaras BOD, uma vez que a temperatura de germinação para esta espécie é de 20 °C (Brasil, 2009), observando-se, posteriormente, resultados similares aos encontrados no experimento efetivo (dados não mostrados). Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram extensão radicular igual ou superior a 2 mm (Borghetti e Ferreira, 2004) e sementes “duras” aquelas que não absorveram umidade do substrato sendo, por isso, consideradas como não germinadas.

A contagem de sementes germinadas foi realizada no quarto e décimo dia após a semeadura, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Foi avaliado o vigor das sementes, juntamente com a germinação (Labouriau e Agudo, 1987), por meio do índice de velocidade de germinação (IVG) até o nono dia após a semeadura (Carneiro et al., 2001) realizando-se a contagem diária das sementes germinadas e conforme a fórmula:  $IVG = 100/N \times \sum n/j$  Maguire (1962), onde N é o número de sementes usadas e n é número de sementes germinadas no dia j. Foi estimada a concentração de NaCl que causa a inibição de 50% da germinação (Fanti e Perez, 2004), no quarto e décimo dia após a semeadura, conforme o ajuste dos dados e obtenção de uma equação polinomial de até quarto grau:  $Y = a + bx + cx^2 + dx^3 + ex^4$ , onde y é a porcentagem de germinação e x é a concentração salina em mM.

No décimo dia, foi avaliada a massa seca das partes

vegetativas das plântulas, por meio da separação e secagem das partes aérea e raízes a 60 °C por 72 horas em estufa de circulação forçada até peso constante para posterior pesagem em balança analítica de precisão.

Os dados referentes à germinação foram transformados para arco seno  $(x/100)^{1/2}$  e posteriormente submetidos à análise de variância pelo teste F e, em caso de significância, os mesmos foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade para a comparação entre as médias dos tratamentos. A análise da regressão polinomial foi utilizada para o desdobramento dos graus de liberdade dos níveis crescentes de salinidade (Banzatto e Kronka, 2006).

## Resultados e Discussão

A porcentagem de germinação das sementes no quarto e décimo dia, para as três leguminosas forrageiras, foi não significativa ( $p \leq 0,05$ ) para a interação entre forrageiras e espermidina, assim como para a interação entre forrageiras, salinidade e espermidina (Tabela 1). Foi observado efeito significativo ( $p \leq 0,01$ ) do fator forrageira na germinação de sementes no quarto dia após a semeadura (Tabela 1), onde a forrageira labe-labe cv. Rongai apresentou maior porcentagem de germinação (83%), seguida pela alfafa cv. Crioula (56%) e guandu cv. Caqui (44%) (Tabela 2). O mesmo padrão de resposta foi observado no décimo dia no qual as forrageiras acima apresentaram 85, 64 e 54% de germinação, respectivamente (Tabela 2).

De acordo com o desdobramento da interação entre salinidade e espermidina pela regressão polinomial, tanto na presença como na ausência de espermidina, a germinação das sementes das três leguminosas apresentou tendência linear de redução com o incremento da salinidade no quarto (Figura 1A) e décimo dias (Figura 1B) de avaliação. Entretanto, foi observado maior percentual de sementes germinadas nos tratamentos de 0, 20, 40 e 60 mM de NaCl na presença de espermidina (0,5 mM), em ambos os dias de avaliação (Figuras 1A e 1B). Tal fato indica possível ação atenuadora promovida pela espermidina sobre os efeitos negativos da salinidade na germinação das sementes submetidas às essas concentrações de NaCl, na presença de 0,5 mM de espermidina exógena, em relação às sementes germinadas nas mesmas concentrações salinas, mas na ausência de espermidina.

Conforme estes resultados, supõe-se que a espermidina

exógena aplicada tenha desencadeado resposta protetora similar à observada em tecidos foliares de plântulas de arroz por Roychoudhury et al. (2011). Esses autores utilizaram três cultivares de arroz submetidas a 200 mM de NaCl na presença de 1 mM de espermidina exógena, e verificaram menores conteúdos do íon sódio e um equilibrado teor de íons potássio, o que indica ação protetora dessa substância sobre as membranas plasmáticas desses tecidos. Embora no presente trabalho não tenham sido quantificadas as concentrações endógenas de espermidina, é provável que este composto aplicado no substrato de germinação das leguminosas tenha agido sobre a integridade das

membranas possibilitando a manutenção do equilíbrio osmótico e continuidade do processo de embebição das sementes, com reflexos positivos na germinação de sementes. Conforme Kubis (2008), a aplicação exógena de espermidina em cultivares de arroz impediu o extravasamento de eletrólitos e/ou aminoácidos. Também, evitou danos à membrana plasmática com redução do influxo de sódio e alta relação K/Na em plântulas de trigo cultivadas na presença de NaCl (Zhao et al., 2007), o que sugere, no presente estudo, uma participação protetora desta poliamina contra os danos desencadeados pela ação tóxica do NaCl.

Tabela 1. Análise de variância da germinação de sementes (%) no quarto e décimo dias após a sementeira, massa seca de raízes e parte aérea no décimo dia após a sementeira, índice de velocidade de germinação (IVG) ao nono dia após a sementeira, de alfafa cv. Crioula, guandu cv. Caqui e labe-labe cv. Rongai, sob diferentes níveis de NaCl, com e sem adição de espermidina (E).

Causa de Variação	GL	Quadrados médios				
		Germinação (%) <sup>1</sup>		Massa seca (mg plântula <sup>-1</sup> )		Vigor
		4º dia	10º dia	Raízes	Parte aérea	IVG
Forageiras (F)	2	23819,26**	15276,33**	2079983,44**	22902231,1**	7433,19**
Salinidade (S)	5	701,71**	1442,13**	7190,64*	221115,68**	1774,44**
Espermidina (E)	1	252,75*	362,90**	16002,71*	10215,20 <sup>ns</sup>	42,37 <sup>ns</sup>
F x S	10	155,65**	296,26**	4576,87 <sup>ns</sup>	189786,61**	378,94**
F x E	2	48,02 <sup>ns</sup>	95,61 <sup>ns</sup>	10949,97*	1557,54 <sup>ns</sup>	195,42**
S x E	5	179,79*	200,36**	3394,71 <sup>ns</sup>	10181,11 <sup>ns</sup>	14,63 <sup>ns</sup>
F x S x E	10	90,56 <sup>ns</sup>	55,62 <sup>ns</sup>	3501,13 <sup>ns</sup>	10331,33 <sup>ns</sup>	67,04**
Resíduo	144	59,22	40,87	2993,02	10665,82	19,56
CV (%)		12,56	9,35	42,39	26,85	10,91

<sup>1</sup>Dados de % de germinação transformados para arcoseno ( $x/100$ )<sup>1/2</sup>; Coeficiente de variação (CV);

<sup>ns</sup>Não significativo; \* Significativo ( $p \leq 0,05$ ); \*\* significativo ( $p \leq 0,01$ ).

Tabela 2. Germinação de sementes (%) no quarto e décimo dias após a sementeira, massa seca (MS) de raízes e parte aérea no décimo dia após a sementeira, índice de velocidade de germinação (IVG) ao nono dia após a sementeira, de alfafa cv. Crioula, guandu cv. Caqui e labe-labe cv. Rongai, sob diferentes níveis de NaCl, com e sem adição de espermidina.

Forrageiras	Germinação (%) <sup>2</sup>		MS (mg plântulas <sup>-1</sup> ) <sup>3</sup>		Vigor
	4º dia	10º dia	Raiz	Parte aérea	IVG
Alfafa cv. Crioula	56,65 B <sup>1</sup>	64,95 B	5,57 C	21,33 B	47,16 A
Guandu cv. Caqui	44,05 C	54,34 C	38,39 B	34,57 B	27,75 B
Labe-labe cv. Rongai	83,11 A	85,11 A	343,21 A	1097,98 A	46,75 A

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade; <sup>2</sup>Dados de % de germinação transformados para arco seno ( $x/100$ )<sup>1/2</sup>; <sup>3</sup>MS: Massa seca.

Com relação à estimativa da concentração salina que acarreta a inibição de 50% da germinação ( $P_{50}$ ), foi observado efeito significativo ( $p < 0,05$ ) apenas para as sementes de guandu cv. Caqui, germinadas no quarto dia

após a sementeira, tanto na ausência como na presença de espermidina. A concentração estimada de NaCl em que ocorreu redução germinativa de 50% foi de 39,93 mM na ausência de espermidina (Figura 2A), enquanto que

na presença desta substância (Figura 2B), o valor estimado foi 72,09 mM. O fato de a aplicação exógena de espermidina no substrato de germinação atenuar os efeitos do estresse salino pelo aumento da tolerância de sementes de guandu cv. Caqui expresso por um  $P_{50\%}$  maior torna claro o papel positivo dessa substância sobre a germinação de sementes. Vários trabalhos têm revelado o efeito negativo do estresse salino sobre a germinação de sementes, como as restrições hídricas induzidas por níveis crescentes de NaCl causando redução na germinação de sementes de feijão cultivar IAC-Carioca 80SH (Machado Neto et al., 2006) e em três cultivares de milho pipoca (Moterle et al., 2006).

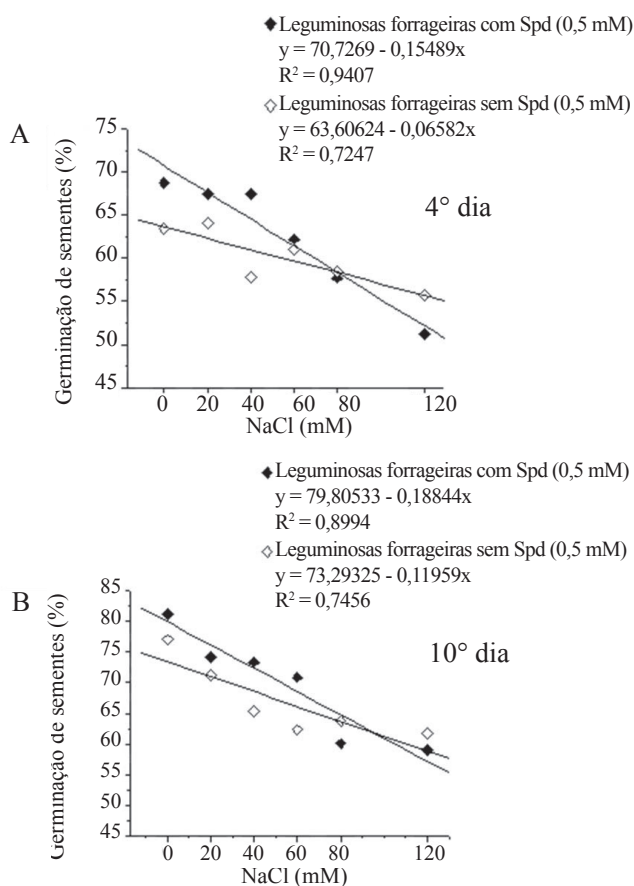


Figura 1. Germinação de sementes (%) de três leguminosas forrageiras, alfafa cv. Crioula, guandu cv. Caqui e labe-labe cv. Rongai sob estresse salino na presença ou ausência de espermidina no quarto (A) e no décimo dias após a semeadura (B).

Verificou-se efeito significativo ( $p < 0,05$ ) na interação entre forrageiras e espermidina no acúmulo de massa seca de raízes e não significativo ( $p > 0,05$ )

Entretanto, ao aplicar poliaminas, essas contribuem com o processo germinativo por ativar a síntese de proteínas (Serafini-Fracassini, 1991) e serem ativadores desse processo durante a germinação de sementes (Benavides et al., 1997) contribuindo sobremaneira na atenuação de estresses abióticos em sementes (Afzal et al., 2009) dada a importância da mobilização de reservas nitrogenadas para a síntese proteica durante o processo germinativo e retomada de crescimento do embrião. No presente estudo, foi responsiva a aplicação exógena de espermidina no substrato de germinação das sementes de guandu cv. Caqui até o nível estimado de NaCl que foi de 72,09 mM.

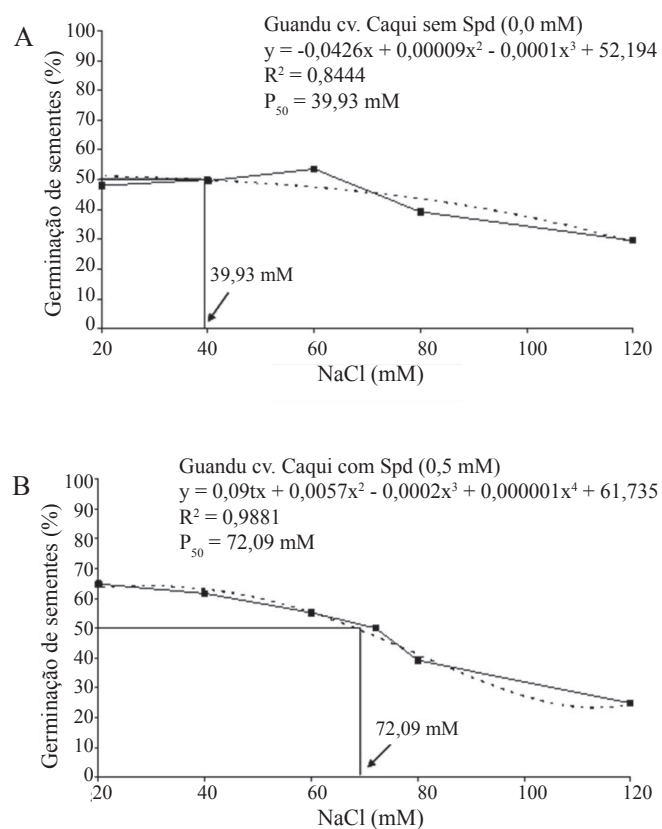


Figura 2. Inibição de 50% da germinação de sementes ( $P_{50}$ ) de guandu cv. Caqui submetidas às concentrações de NaCl no quarto dia após a semeadura na ausência de espermidina (0,0 mM) (A) e presença de espermidina (0,5 mM) (B). Linha cheia: resultados experimentais; Linha pontilhada: pontos teóricos.

para a massa seca da parte aérea de plântulas das forrageiras (Tabela 1). Com relação ao efeito isolado da salinidade sobre o acúmulo de massa seca da



parte aérea em plântulas de labe-labe cv. Rongai foi observada tendência quadrática de redução da massa seca (Figura 3). No entanto, não foi observado efeito significativo ( $p > 0,05$ ) na interação entre salinidade e espermidina tanto para massa seca radicular como para parte aérea (Tabela 1). Verificou-se maior resposta da espécie labe-labe cv. Rongai à aplicação de espermidina exógena (0,5 mM), a qual apresentou incremento de 13,58% na massa seca de raízes em relação às plântulas controle da mesma espécie e incrementos de 89% e 98,17%, em comparação às plântulas de guandu cv. Caqui e alfafa cv. Crioula dos tratamentos de 0,5 mM de espermidina exógena, respectivamente (Tabela 3). Entretanto, considerando o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) e isolado da salinidade sobre as sementes das três leguminosas (Tabela 1), observou-se tendência quadrática de redução no acúmulo de massa seca das raízes com o incremento dos níveis de NaCl (Figura 4).

Tabela 3. Massa seca de raízes no décimo dia após a semeadura e índice de velocidade de germinação (IVG) ao nono dia após a semeadura de alfafa cv. Crioula, guandu cv. Caqui e labe-labe cv. Rongai após diferentes tratamentos de NaCl com e sem adição de espermidina.

Espermidina (mM)	Massa seca de raízes <sup>1</sup> (mg plântula <sup>-1</sup> )		
	Alfafa cv. Crioula	Guandu cv. Caqui	Labe-labe cv. Rongai
0,0	4,41 Ab	36,28 Ab	318,19 Ba
0,5	6,73 Ac	40,50 Ab	368,23 Aa
Índice de velocidade de germinação			
0,0	49,82 Aa	26,18 Bb	47,68 Aa
0,5	45,82 Ba	29,18 Ab	45,13 Aa

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

Em estudo conduzido com sementes de feijão submetidas à deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos, Machado Neto et al. (2006) observaram decréscimos na massa seca de raízes e parte aérea de plântulas quando o agente osmótico utilizado foi o NaCl em diferentes potenciais. Esses resultados, juntamente com o verificado neste trabalho, confirmam o papel tóxico dos íons sódio e cloro, que interferem no potencial osmótico do substrato de germinação, além de contribuir para a desestabilização de membranas, o que possivelmente desloca o metabolismo para a realização de reparos nas estruturas celulares com a consequente redução do

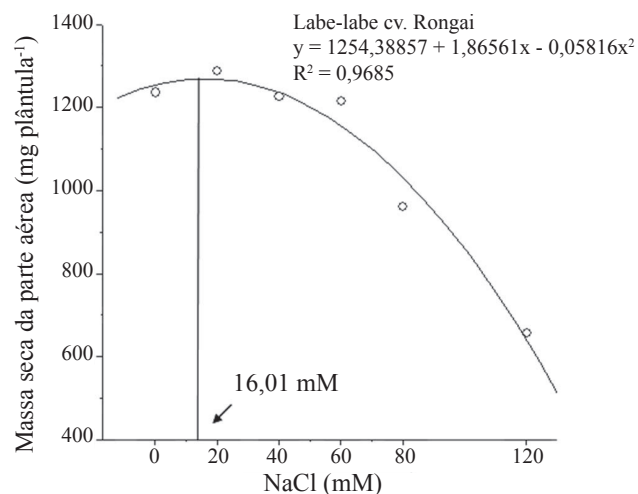


Figura 3. Massa seca da parte aérea de plântulas de labe-labe cv. Rongai, no décimo dia após a semeadura, submetidas a concentrações de NaCl.

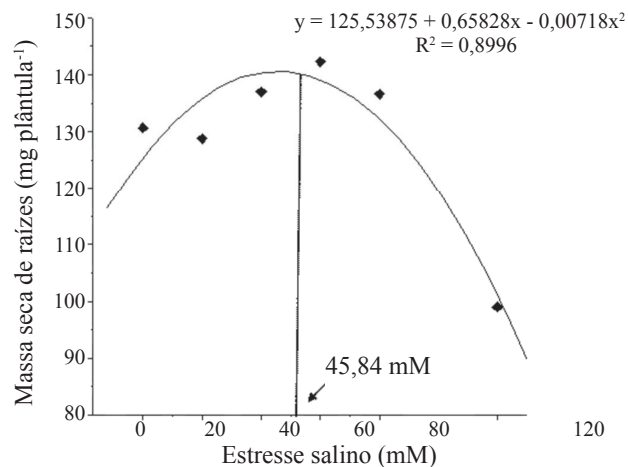


Figura 4. Massa seca de raízes de três leguminosas forrageiras, alfafa cv. Crioula, guandu cv. Caqui e labe-labe cv. Rongai no décimo dia após a semeadura, submetidas às concentrações de NaCl.

crescimento e acúmulo de massa seca radicular e da parte aérea (Machado Neto et al., 2006).

Por outro lado, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram uma resposta diferenciada da espécie labe-labe cv. Rongai quanto à aplicação de espermidina exógena sobre a massa seca de raízes (Tabela 3) e ao seu comportamento germinativo (Tabela 2), o que sugere maior capacidade de crescimento radicular e germinação desta espécie na presença dos níveis de NaCl adotados, quando da aplicação exógena de espermidina, em comparação às outras leguminosas.

Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) no índice de velocidade de germinação (IVG) entre as

sementes de alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai tanto na presença como na ausência de espermidina (Tabela 3). Entretanto, as sementes dessas duas leguminosas forrageiras diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao IVG apresentado pelas sementes de guandu cv. Caqui, o qual foi 47,45 e 45,09% menor que o IVG apresentado pelas sementes das forrageiras alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai na ausência de espermidina, respectivamente (Tabela 3). O mesmo padrão de resposta foi observado na presença de espermidina, onde as sementes da forrageira leguminosa guandu cv. Caqui apresentaram IVG 36,31 e 35,34% menores que os valores obtidos pelas sementes de alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai, respectivamente (Tabela 3). Com relação à interação entre forrageiras, salinidade e espermidina foi observado efeito significativo para o IVG (Tabela 1), no entanto, com tendências lineares de redução para as três leguminosas utilizadas (Figura 5), com destaque para a espécie guandu cv. Caqui a qual apresentou, na presença ou ausência de espermidina, menor IVG com o incremento do NaCl.

No que diz respeito à resposta das sementes na presença de espermidina, é possível que o maior IVG apresentado pelas leguminosas alfafa cv. Crioula e labe-labe cv. Rongai, em comparação ao apresentado pelo guandu cv. Caqui tenha sido potencializado pela soma dos efeitos dos níveis endógenos associados à aplicação exógena desta poliamina, assim como pela sua propriedade em regular o fluxo de íons nos tecidos vegetais, permitindo, assim, maior embebição. Zhao et al. (2007) observaram que a aplicação exógena de espermidina inibiu o transporte de  $\text{Na}^+$  das raízes à parte aérea sob condições de alta salinidade em plântulas de cevada. Esses autores observaram que a espermidina aplicada exogenamente bloqueou o influxo de  $\text{Na}^+$  no sistema radicular e o efluxo de  $\text{K}^+$  na parte aérea desencadeando, portanto, maior relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  e menor efeito tóxico do íon  $\text{Na}^+$  nos tecidos vegetais. Portanto, a capacidade da espermidina em controlar os níveis endógenos dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  em tecidos vegetais demonstra sua ação atenuadora em plântulas ou sementes submetidas à salinidade, possivelmente por impedir um estresse osmótico celular e, conseqüentemente, contribuir para a manutenção da homeostase celular.

Semelhante ao observado no presente trabalho para a leguminosa guandu cv. Caqui, foi verificado em sementes de pinhão manso (Andréo-Souza et al., 2010) e maxixe (Góis et al., 2008) redução no IVG das sementes dessas espécies quando submetidas a diferentes níveis de salinidade, porém com tendências quadráticas de redução. Com relação aos

estresses osmóticos ocasionados por sais, sabe-se que a salinidade reduz o potencial osmótico do substrato de germinação e conduz ao declínio do processo germinativo pela menor embebição das sementes. Conforme Andréo-Souza et al. (2010), o primeiro parâmetro a ser afetado pela salinidade é a velocidade de germinação de sementes, uma vez que, o gradiente de potencial osmótico torna-se desfavorável ou mesmo retardando à embebição de sementes, o que implica no prolongamento do tempo médio de germinação e emergência de plântulas, fato que explica o IVG apresentado pela forrageira guandu cv. Caqui.

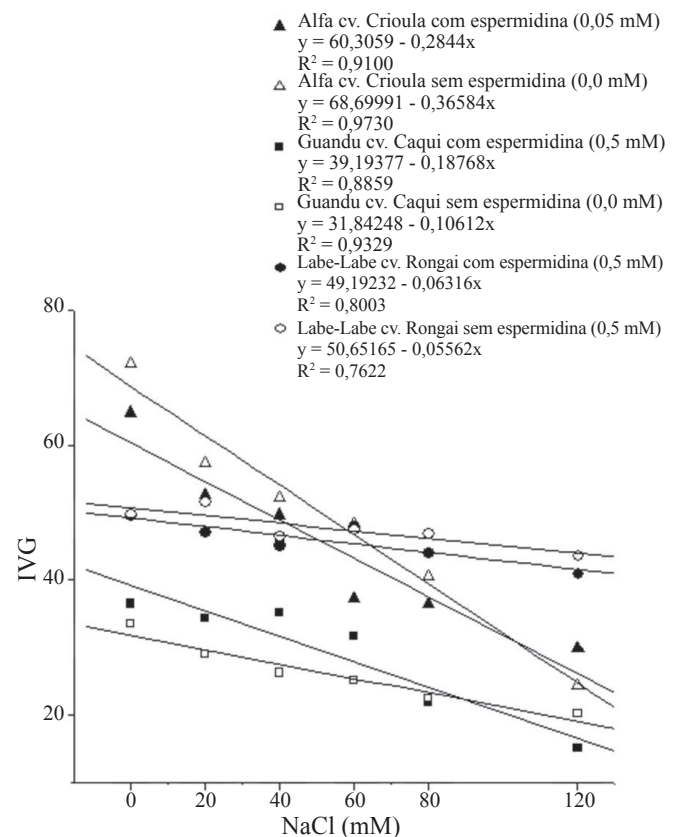


Figura 5. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de alfafa cv. Crioula, guandu cv. Caqui e labe-labe cv. Rongai submetidas a concentrações de NaCl na presença e ausência de espermidina.

## Conclusões

As sementes de labe-labe cv. Rongai são responsivas à espermidina exógena que possibilita maior acúmulo de massa seca de raízes primárias.

A espermidina exógena tem efeito positivo sobre as

sementes de guandu cv. Caqui ao possibilitar a germinação de 50% das sementes em concentrações salinas de até 72,09 mM de NaCl.

A aplicação exógena de espermidina acarreta maior IVG às sementes das leguminosas alfafa cv. Crioula e labele cv. Rongai.

## Referências

- AFZAL, I.; MUNIR, F.; AYUB, C.M.; BASRA, S.M.A.; HAMEED, A.; NAWAZ, A. Changes in antioxidant enzymes, germination capacity and vigour of tomato seeds in response of priming with polyamines. *Seed Science Technology*, v.37, n.3, p.765-110, 2009.
- ALET, A.I.; SANCHÉZ, D.H.; CUEVAS, J.C.; MARINA, M.; CARRASCO, P.; ALTABELLA, T.; TIBURCIO, A.F.; RUIZ, O.A. New insights into the role of spermine in *Arabidopsis thaliana* under long-term salt stress. *Plant Science*, v.182, p.94-100, 2012. [http://ac.els-cdn.com/S0168945211000902/1-s2.0-S0168945211000902-main.pdf?\\_tid=98bb7614d3ab2f0c615b4a0abdcd16d3&acdnat=1337982763\\_9ea4b7b14661443b134057703c844819](http://ac.els-cdn.com/S0168945211000902/1-s2.0-S0168945211000902-main.pdf?_tid=98bb7614d3ab2f0c615b4a0abdcd16d3&acdnat=1337982763_9ea4b7b14661443b134057703c844819)
- ANDRÉO-SOUZA, Y.; PEREIRA, A.L.; SILVA, F.F.S.; RIBEIRO-REIS, R.C.; EVANGELISTA, M.R.V.; CASTRO, R.D.; DANTAS, B.F. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. *Revista Brasileira de Sementes*, v.32, n.2, p.83-92, 2010. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v32n2/v32n2a10.pdf>
- ASHRAF, M.; ATHAR, H.R.; HARRIS, P.J.C.; KWON, T.R. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Advances in Agronomy*, v.97, n.7, p.45-110, 2008. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065211307000028>
- BAGNI, N.; RUIZ-CARRASCO, K.; FRANCESCHETTI, M.; FORNALE, S.; FORNASIERO, R.B.; TASSONI, A. Polyamine metabolism and biosynthetic gene expression in *Arabidopsis thaliana* under salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.44, n.11, p.776-786, 2006. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0981942806001665>
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. *Experimentação agrícola*. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237p.
- BENAVIDES, M.P.; AIZENCANG, G.; TOMARO, M.L. Polyamines in *Helianthus annuus* L. during germination under salt stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, v.16, n.4, p.205-211, 1997. <http://www.springerlink.com/content/21nacflqjben69vw/>
- BORGHETTI, F.; FERREIRA, A.G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.209-222.
- BRAGA, L.F.; SOUSA, M.P.; ALMEIDA, T.A. Germinação de sementes de *Enterolobium schomburgkii* (Benth.) Benth. submetidas à estresse salino e aplicação de poliamina. *Revista Brasileira Plantas Medicinaiis*, v.11, n.1, p.63-70, 2009. [http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf\\_v11\\_n1\\_2009/artigo11\\_p63-70.pdf](http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v11_n1_2009/artigo11_p63-70.pdf)
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretária de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395p. [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/laborat%20c3%b3rio/sementes/regras%20para%20analise%20de%20sementes.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/laborat%20c3%b3rio/sementes/regras%20para%20analise%20de%20sementes.pdf)
- 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. <http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v11n2/v11n2a07.pdf>
- CARNEIRO, L.M.T.A.; RODRIGUES, T.J.D.; FERRAUDO, A.S.; PERECIN, D. Ácido abscísico e giberélico na germinação de sementes de alfafa (*Medicago sativa* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, v.23, n.2, p.177-185, 2001. <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2001/v23n2/artigo25.pdf>
- ÇAVUSOGLU, K.; KILIÇ, S.; KABAR, K. Some morphological and anatomical observations during alleviation of salinity (NaCl) stress on seed germination and seedling growth of barley by polyamines. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.29, n.6, p.551-557, 2007. <http://www.springerlink.com/content/10208h6u14611068/fulltext.pdf>
- CVIKROVÁ, M.; GEMPERLOVÁ, L.; DOBRÁ, J.; MARTINCOVÁ, O.; PRÁSIL, I.T.; GUBIS, J.; VANKOVÁ, R. Effect of heat stress on polyamine metabolism in proline-over-producing tobacco plants. *Plant Science*, v.182, p.49-58, 2012. <http://www.deepdyve.com/lp/elsevier/effect-of-heat-stress-on-polyamine-metabolism-in-proline-over-5ckctfm7yd>
- 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. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v29n2/v29n2a14.pdf>
- DUAN, J.; LI, J.; GUO, S.; 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.
- FANTI, S.C.; PEREZ, S.C.J.G.A. Processo germinativo de sementes de paineira sob estresse hídrico e salino. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n.9, p.903-909, 2004. <http://www.scielo.br/pdf/pab/v39n9/22034.pdf>
- GÓIS, V.A.; TORRES, B.S.; PEREIRA, R.A. Germinação de sementes de maxixe submetidas a estresse salino. *Revista Caatinga*, v.21, n.4, p.64-67, 2008. <http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/sistema/article/view/798/412>
- HUSSAIN, S.S.; ALI, M.; AHMAD, M.; SIDDIQUE, K.H.M. Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology Advances*, v.29, n.11, p.300-311, 2011. <http://www.mendeley.com/research/polyamines-natural-engineered-abiotic-biotic-stress-tolerance-plants/#>
- JIA, Y.X.; SUN, J.; GUO, S.R.; LI, J.; HU, X.H.; WANG, S.P. Effect of



- root\_applied spermidine on growth and respiratory metabolism in roots of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings under hypoxia. *Russian Journal of Plant Physiology*, v.57, n.5, p.648-655, 2010. <http://www.springerlink.com/content/v0317p6380n74027/fulltext.pdf>
- KUBIS, J. Exogenous spermidine differentially alters activities of some scavenging system enzymes, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and superoxide radical levels in water-stressed cucumber leaves. *Journal of Plant Physiology*, v.165, n.4, p.397-406, 2008.
- KUBIS, J. The effect of exogenous spermidine on superoxide dismutase activity, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and superoxide radical level in barley leaves under water deficit conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.27, n.3, p.289-95, 2005.
- LABOURIAU, L.G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. II. Light-temperature interactions: preliminary results. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.59, n.1/2, p.57-69, 1987.
- LIU, J.H.; KITASHIBA, H.; WANG, J.; BAN, Y.; MORIGUCHI, T. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnology*, v.24, n.1, p.117-126, 2007. [http://www.jstage.jst.go.jp/article/plantbiotechnology/24/1/117/\\_pdf](http://www.jstage.jst.go.jp/article/plantbiotechnology/24/1/117/_pdf)
- 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. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v30n3/11.pdf>
- MACHADO NETO, N.B.; CUSTÓDIO, C.F.; COSTA, P.R.; DONA, F.L. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. *Revista Brasileira de Sementes*, v.28, n.1, p.142-148, 2006. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v28n1/a20v28n1.pdf>
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MARCOS-FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ, 2005, 495p.
- MOTERLE, L.M.; LOPES, P.C.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico e salino. *Revista Brasileira de Sementes*, v.28, n.3, p.169-176, 2006. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v28n3/24.pdf>
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, v.25, n.2, p.239-250, 2002. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x/pdf>
- ROYCHOUDHURY, A.; BASUP, S.; SENGUPTAB, 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.
- SERAFINI-FRACASSINI, D. Cell cycle-dependent changes in plant polyamine metabolism. IN: SLOCUM, R.D.; FLORES, H.E (EDS). *Biochemistry and physiology of polyamines in plants*. Boca Raton, FL: Crc Press, 1991. p.159-171.
- SRIVASTAVA, A.; CHUNG, S.H.; FÁTIMA, T.; DATSENKA, T.; HANDA, A.K.; MATTOO, A.K. Polyamines as anabolic growth regulators revealed by transcriptome analysis and metabolite profiles of tomato fruits engineered to accumulate spermidine and spermine. *Plant Biotechnology*, v.124, n.1, p.57-70, 2007. [http://www.jstage.jst.go.jp/article/plantbiotechnology/24/1/57/\\_pdf](http://www.jstage.jst.go.jp/article/plantbiotechnology/24/1/57/_pdf)
- TASSONI, A.; FRANCESCHETTI, M.; BAGNI, N. Polyamines and salt stress response and tolerance in *Arabidopsis thaliana* flowers. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.46, n.5/6, p.607-613, 2008. <http://www.mendeley.com/research/polyamines-and-salt-stress-response-and-tolerance-in-arabidopsis-thaliana-flowers/#page-1>
- VEATCH, M.E.; SMITH, S.E.; VANDEMARK, G. Shoot biomass production among accessions of *Medicago truncatula* exposed to NaCl. *Crop Science*, v.44, n.3, p.1008-1013, 2004. <https://www.crops.org/publications/cs/articles/44/3/1008>
- 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. <http://www.mendeley.com/research/polyamines-polyamine-oxidases-nitric-oxide-development-abiotic-biotic-stresses/#page-1>
- YAMAGUCHI, K.; TAKAHASHI, Y.; BERBERICH, T.; IMAI, A.; MIYAZAKI, A.; TAKAHASHI, T. The polyamine spermine protects against high salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letter*, v.580, n.30, p.6783-6788, 2006. [http://ac.els-cdn.com/S0014579306013652/1-s2.0-S0014579306013652-main.pdf?\\_tid=f90a4df903e3e29882859001a5f12974&acdnat=1337984478\\_72b5469db17ff02aae3c1f8bdf3ad720](http://ac.els-cdn.com/S0014579306013652/1-s2.0-S0014579306013652-main.pdf?_tid=f90a4df903e3e29882859001a5f12974&acdnat=1337984478_72b5469db17ff02aae3c1f8bdf3ad720)
- ZHAO, F.; SONG, P.S.; HE, J.; ZHU, H. Polyamines improve K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostasis in barley seedlings by regulating root ion channel activities. *Plant Physiology*, v.145, n.3, p.1061-1072, 2007. <http://www.plantphysiol.org/content/145/3/1061.full.pdf>