

## Poliaminas e atividade da peroxidase em *colocasia esculenta* micropropagadas tratadas com NaCl

### Polyamines and peroxidase activity in micropropagated *colocasia esculenta* treated with NaCl

Giuseppina Pace Pereira LIMA<sup>1</sup>, Chrystiane Borges FRÁGUAS<sup>1</sup>, Juan Jose González PLAZA<sup>2</sup>, Paulo Roberto Rodrigues RAMOS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Depto de Química e Bioquímica – Instituto de Biociências – UNESP - Botucatu-SP, CP 510, CEP 18618-000, gpplima@ibb.unesp.br (autor correspondente).

<sup>2</sup>Universidad de Málaga/Espanha, Licenciatura Biología, comodinho@hotmail.com

<sup>3</sup>Depto de Biofísica – Instituto de Biociências – UNESP - Botucatu-SP, CP 510, CEP 18618-000, pramos@ibb.unesp.br

#### Resumo

O efeito da salinidade em plantas de *Colocasia esculenta* (taro) foi estudado pela análise do teor de poliaminas e atividade da peroxidase. Plantas micropropagadas, cultivadas *in vitro*, foram submetidas a tratamentos com 0; 50 e 100 mmol L<sup>-1</sup> de NaCl, por 30 dias, e em intervalos de 10 dias foram analisados os teores de putrescina, espermidina e espermina, além da atividade da peroxidase e o teor de sódio. Putrescina foi mais abundante na testemunha, tanto na parte aérea como em raízes, enquanto espermidina e espermina apresentaram as maiores variações em plantas tratadas com NaCl. A atividade da peroxidase foi maior aos 30 dias, tanto em folhas como em raízes, sendo que a encontrada nas raízes foi maior se comparada com a parte aérea. Os maiores níveis de sódio ocorreram em plantas cultivadas em meio contendo 50 e 100 mmol L<sup>-1</sup> de NaCl. O aumento das concentrações de sódio ocorreu, paralelamente, ao aumento da atividade da peroxidase, sugerindo uma capacidade de sobrevivência devido a uma possível reação de detoxificação promovida por enzimas, entre as quais a peroxidase. Todas as poliaminas estudadas tendem a variar diretamente de acordo com a concentração salina, e a espermina na parte aérea e raízes mostrou a maior correlação com o aumento da salinidade no meio de cultivo.

**Palavras-chave adicionais:** taro; peroxidase; salinidade; putrescina; espermidina; espermina.

#### Abstract

The effect of salinity on plants of *Colocasia esculenta* (taro) has been investigated through the determination of polyamines content and peroxidase activity. Micropropagated plants were submitted to three treatments : 0, 50, and 100 mmol L<sup>-1</sup> NaCl, for 30 days, and the putrescine, spermidine and spermine levels, peroxidase activity and Na concentrations were analyzed. Putrescine was the most abundant polyamine in the aerial part (leaves), and in the roots of the control, while spermidine showed the largest variations in plants cultivated with NaCl. The peroxidase activity was highest at 30 days both in leaves and roots but that found in roots was larger than that found in leaves. The largest Na concentrations occurred in plants cultivated in 50 and 100 mmol L<sup>-1</sup> NaCl. The increase of sodium concentrations occurred parallel to the increase of the activity of peroxidase, suggesting a survival capacity due to a possible reaction of detoxification promoted by enzymes, among which the peroxidase. All the studied polyamines tend to vary directly with saline concentration. Spermine both from the aerial (leaves) and root parts showed the biggest correlation with the increase of salinity in the culture medium.

**Additional keywords:** taro, peroxidase activity; salinity; putrescine; spermidine; spermine.

#### Introdução

No Brasil, são encontradas diversas regiões onde o nível de salinidade no solo é alto, podendo causar problemas no crescimento

e, conseqüentemente, na produção de diversas plantas. O ajuste osmótico, que é necessário para o crescimento em meio salino, pode ser acompanhado pelo acúmulo de solutos orgânicos e íons inorgânicos (NAIDOO & NAIDOO,

2001). Os solutos orgânicos são geralmente compartimentalizados no citoplasma para balancear o potencial osmótico do vacúolo. Osmólitos compatíveis, aparentemente, não interferem com as reações bioquímicas normais e agem como osmoprotetores durante o estresse osmótico (GREENWAY & MUNS, 1980). Muitos desses compostos são nitrogenados, tais como enzimas e poliaminas.

As poliaminas (putrescina, espermidina e espermina), policações que ocorrem em vegetais e animais, estão relacionadas com diversos processos celulares importantes, tais como proliferação, estabilidade de membranas, síntese de proteínas, resistência a estresse, entre outros (LIN & KAO, 1999; MANSOUR, 2000). O estresse salino causa desequilíbrio iônico e déficit de água, podendo promover desestabilização das membranas. Espermidina e espermina têm sido relacionadas com a manutenção da estabilidade das membranas de tilacóides de aveia quando cultivados sob estresse osmótico (TIBURCIO et al., 1994).

As plantas desenvolvem estratégias contra o estresse salino, baseado na ativação de transporte iônico, ajuste osmótico e indução de enzimas antioxidantes (GIBSON et al., 1984). Uma alta concentração salina pode promover a produção de espécies de oxigênio ativo (CRAMER et al., 1994), induzindo o transporte de elétrons em diferentes compartimentos subcelulares, gerando espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxilas (MANSOUR, 2000). O excesso dessas espécies reativas inicia reações fitotóxicas, tais como peroxidação de lipídeos, degradação de proteínas e mutação de DNA (Smirnof, 1993). O aumento de peróxido de hidrogênio é controlado por peroxidase ou catalase (NAKANO & ASADA, 1981), as quais apresentam alterações da atividade como resposta bioquímica do estresse. Dessa forma, algumas enzimas são utilizadas como possíveis marcadores bioquímicos em plantas cultivadas sob estresse.

Como diversos compostos nitrogenados sofrem alterações em plantas cultivadas em estresse salino, objetivou-se, neste trabalho, estudar os níveis de poliaminas e a atividade da peroxidase em plantas micropropagadas de *Colocasia esculenta*, cultivadas em meio contendo diferentes concentrações de NaCl, assim como determinar os níveis de sódio nas plantas.

## Material e Métodos

Plântulas de aproximadamente 2,5 cm, obtidas de gemas do cormo, oriundas do cultivo *in vitro* em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), sem adição de reguladores vegetais, foram inoculadas em meio nutritivo MS, contendo sacarose (3%), solidificado com 5 % de ágar (Merck) e acrescido de diferentes concentrações de NaCl (0; 50 e 100 mmol L<sup>-1</sup>), constituindo três tratamentos. Os vidros com 20 mL de meio, contendo 3 plântulas com 3 folhas cada e aproximadamente 4 cm de altura, foram distribuídos ao acaso, em sala de crescimento, com temperatura de 25 ± 1 °C, luminosidade de 35 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas de luz. Durante 30 dias, sem troca de meio, com intervalos de 10 dias, foram coletadas amostras da parte aérea e raiz, e realizadas análises do teor de poliaminas (putrescina, espermidina e espermina), atividade da peroxidase (EC 1.11.1.7) e teor de sódio.

O experimento foi realizado de modo inteiramente casualizado, contendo três tratamentos (concentrações de NaCl), 9 repetições e três épocas de coleta. A análise estatística dos dados seguiu o delineamento experimental inteiramente casualizado, com aplicação de análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de médias Scott-Knott, para as variáveis analisadas.

## Poliaminas

A análise de poliaminas foi feita de acordo com o método de FLORES & GALSTON (1982), modificado por LIMA et al. (2006). As amostras do material fresco (parte aérea e raiz) foram coletadas, pesadas e homogeneizadas em ácido perclórico 5% e centrifugadas. O sobrenadante contendo poliaminas livres foi usado para dansilação, e alíquotas de 20 µL da fase orgânica foram aplicadas em placas de cromatografia (Sílica Gel, 60 G). Os solventes cromatográficos empregados foram clorofórmio e trietilamina (10:1) (fase móvel) para a separação das poliaminas putrescina, espermidina e espermina. Os padrões de poliaminas foram dansilados da mesma maneira e cromatografados junto com as amostras. A separação cromatográfica foi acompanhada mediante iluminação da placa com luz ultravioleta. As poliaminas foram quantifica-

das por espectroscopia de emissão de fluorescência com o programa Software Image Master VDS (Video Documentation System), versão 2.0 da Amersham Pharmacia Biotech 1995, (1996). Os teores de poliaminas livres foram expressos em  $\mu\text{g}$  putrescina  $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca,  $\mu\text{g}$  espermidina  $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca e  $\mu\text{g}$  espermina  $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca.

#### Atividade da peroxidase (EC 1.11.1.7)

Após a homogeneização, as amostras da parte aérea e da raiz em tampão fosfato de potássio (0,2 M, pH 6,7) foram centrifugadas, e o sobrenadante, utilizado para a determinação da atividade da peroxidase, de acordo o método proposto por Lima et al. (1999). A atividade foi expressa em  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  decomposto  $\text{g}^{-1}$  matéria fresca  $\text{min}^{-1}$ .

#### Sódio

O material seco em estufa, após digestão nitroperclórica, foi analisado em espectrofotômetro de absorção atômica, de acordo com o método descrito por DIONISIO-SESE & TOBITA (1998). Os teores foram expressos em  $\text{mg Na g}^{-1}$  matéria seca.

### Resultados e Discussão

De acordo com a análise de variância das poliaminas da parte aérea, observou-se interação significativa entre os níveis de NaCl e os dias de coleta para putrescina, espermina e espermidina. O maior teor de putrescina ( $3,07 \times 10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca) foi observado aos 20 dias de cultivo, na concentração de  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  de NaCl (Figura 1a). Para espermidina, observou-se a mesma tendência encontrada para putrescina (Figura 1b), isto é, maiores teores foram observados aos 20 dias, na maior concentração do sal. O maior teor ( $2,27 \times 10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca) foi encontrado aos 20 dias para  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  de NaCl. Menores teores de espermina foram notados nas concentrações de  $50 \text{ mmol L}^{-1}$  ( $0,31 \times 10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca) e  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  ( $0,49 \times 10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca) de NaCl, aos 10 dias de cultivo (Figura 1c). Aos 20 dias, nota-se que ocorreu maior teor de espermina de  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  de NaCl, enquanto que aos 30 dias, não houve diferença significativa entre os tratamentos  $50$  e  $100 \text{ mmol L}^{-1}$

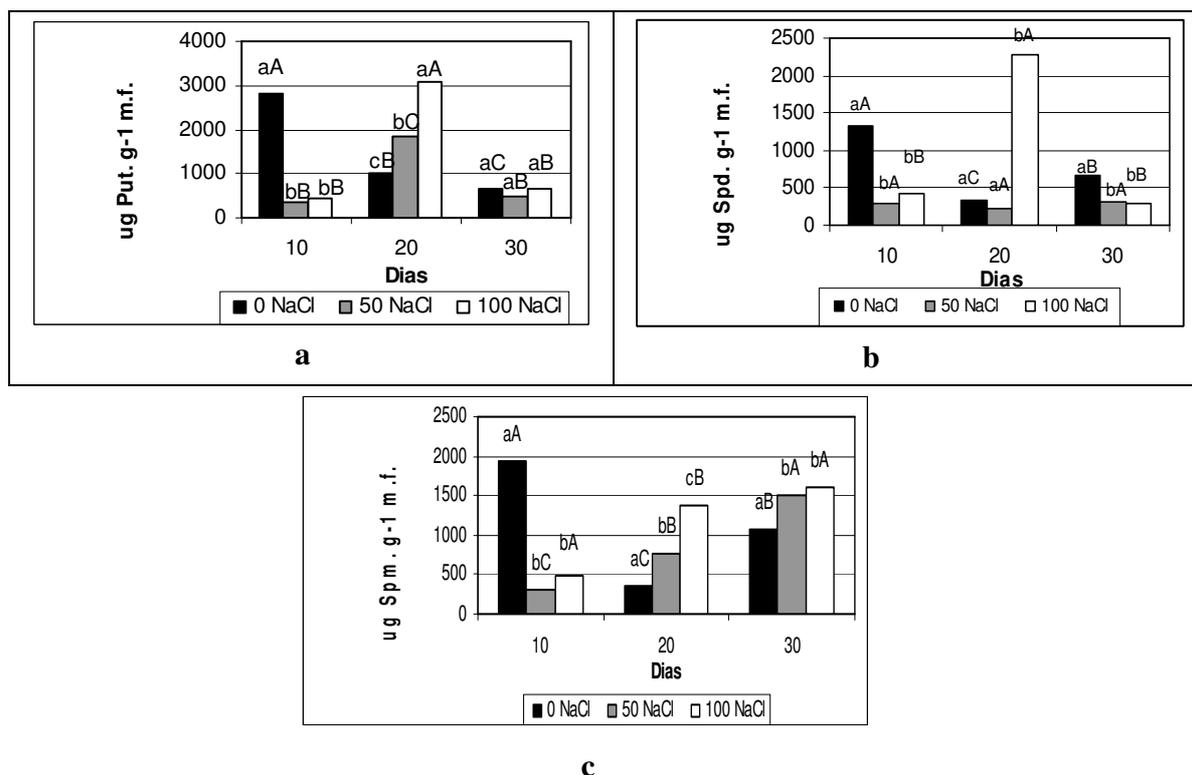
de NaCl. Níveis altos das três poliaminas analisadas são verificados aos 10 dias, em plantas cultivadas em meio ausente de NaCl. Valores maiores das poliaminas foram encontrados na parte aérea em relação à raiz. Para as raízes, não ocorreu significância entre os dias de coletas para putrescina e espermina.

Putrescina foi a poliamina mais abundante encontrada no tratamento-controle, tanto na parte aérea (Figura 1) como radicular de *Colocasia esculenta*, aos 10 dias de cultivo (Figura 2). Esses valores invertem-se aos 20 dias. Espermidina e espermina, aos 20 dias, aparecem em níveis altos, principalmente na maior concentração salina.

Para a análise de poliaminas nas raízes, verificou-se o efeito isolado da concentração de NaCl para putrescina (Figura 2a) e a interação significativa entre os fatores para espermina (Figura 2c) e espermidina (Figura 2b). O maior teor de putrescina ( $3,11 \times 10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca) nas raízes foi observado na ausência de NaCl e não houve diferença estatística entre as concentrações de  $50$  ( $1,33 \times 10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca) e  $100 \text{ mM}$  de NaCl ( $1,88 \times 10^{-3} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca).

Para espermidina nas raízes, aos 10 dias, verificou-se o maior teor ( $6 \times 10^{-6} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca) no tratamento contendo  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  de NaCl, seguido pelo tratamento sem NaCl ( $3 \times 10^{-6} \mu\text{g g}^{-1}$  matéria fresca). Aos 20 e 30 dias, não houve diferença estatística, e os teores foram muito baixos.

Diversos autores afirmam que as poliaminas analisadas neste trabalho estão relacionadas a respostas a diferentes tipos de estresse (TIBURCIO et al., 1994). Assim, as variações encontradas nos teores de putrescina, espermidina e espermina poderiam ser atribuídas a um possível ajuste osmótico ou mesmo ao efeito protetor atribuído a essas substâncias (MANSOUR, 2000). Putrescina e espermidina diminuíram, e ocorreu acúmulo de espermina em duas cultivares de arroz (sensíveis e tolerantes à salinidade) e foi sugerido que o parâmetro observado para espermina não seria um marcador de tolerância ao estresse (MAIALE et al., 2004), como relatado em LIMA et al. (2003) e ocorrido neste trabalho.



**Figura 1** - Putrescina ( $\mu\text{g Put g}^{-1}$  de matéria fresca) (a), espermidina ( $\mu\text{g Spd g}^{-1}$  de matéria fresca) (b) e espermina ( $\mu\text{g Spm g}^{-1}$  de matéria fresca) (c) na parte aérea de *Colocasia esculenta*, cultivada em meio MS acrescido de diferentes concentrações de NaCl aos 10; 20 e 30 dias (Letras minúsculas entre os tratamentos, e maiúsculas entre as épocas de coletas (dias);  $p < 0,05$ ).

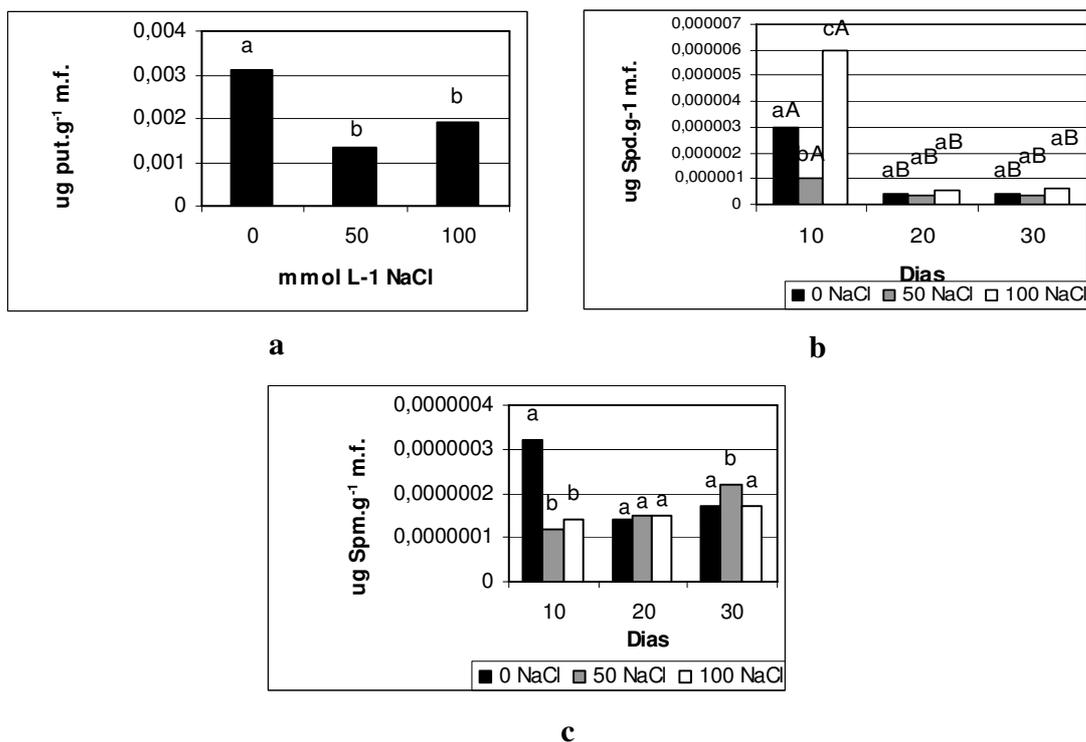
Figure 1 – Putrescine ( $\mu\text{g Put g}^{-1}$  of dry matter) (a), spermidine ( $\mu\text{g Spd g}^{-1}$  of dry matter) (b) and spermine ( $\mu\text{g Spm g}^{-1}$ ) (c) found in the aerial part of *Colocasia esculenta* cultivated in a growth medium which received different levels of NaCl at 10, 20, and 30 days ( Small letters between treatments and large letters between harvest moments (days);  $p < 0.05$ )

The numbers after the comma are decimals. Example: 1,1 = one and one tenth.

Verifica-se que putrescina ocorreu em maior teor tanto na parte aérea, como em raízes no tratamento-controle, aos 10 dias, enquanto espermidina e espermina apresentaram as maiores variações em plantas tratadas com NaCl. ALVAREZ et al. (2003) também observaram, em calos de girassol, maiores níveis de putrescina na caracterização (tempo inicial), enquanto espermidina foi a principal poliamina em células de girassol tolerante à salinidade.

O aumento dos níveis de putrescina obtido, principalmente em resposta ao estresse salino, é bastante generalizado em plantas (MANSOUR, 2000). A tolerância a este tipo de estresse parece estar associada não

apenas à capacidade da planta em acumular putrescina, mas em manter ativo o metabolismo de poliaminas, incluindo-se aí a síntese de espermidina e espermina (WILLADINO et al., 1996). A literatura a respeito das modificações nos teores de poliaminas em resposta ao estresse salino é bastante contraditória. Geralmente, a salinidade induz diminuição nos níveis apenas de putrescina (LIN & KAO, 1999) ou também em espermidina e espermina (PRAKASH & PRATHAPASENAN, 1988). Por outro lado, outros autores verificaram aumento nos conteúdos tanto de putrescina como de espermidina e espermina em condições de estresse (Jouve et al., 2004).



**Figura 2** - Putrescina ( $\mu\text{g Put g}^{-1}$  de matéria fresca) (a), espermidina ( $\mu\text{g Spd g}^{-1}$  de matéria fresca) (b) e espermina ( $\mu\text{g Spm g}^{-1}$  de matéria fresca) (c) em raízes de *Colocasia esculenta*, cultivada em meio MS acrescido de diferentes concentrações de NaCl aos 10; 20 e 30 dias (Letras minúsculas entre os tratamentos, e maiúsculas entre as épocas de coletas (dias);  $p < 0,05$ ).

Figure 2 - Putrescine ( $\mu\text{g Put g}^{-1}$  of fresh matter) (a), spermidine ( $\mu\text{g Spd g}^{-1}$  of fresh matter) (b), and spermine ( $\mu\text{g Spm g}^{-1}$  of fresh matter) (c) found in roots of *Colocasia esculenta* cultivated in a growth medium which received different levels of NaCl at 10, 20, and 30 days (Small letters between treatments and large letters between harvest moments (days);  $p < 0.05$ ). The numbers after the comma are decimals. Example: 1,1 = one and one tenth.

Nota-se que tanto na parte aérea como nas raízes ocorre aumento dos níveis de espermidina e espermina, com o aumento da concentração de NaCl, aos 20 dias. Possivelmente, nesta fase, as plantas estariam apresentando grande divisão celular e crescimento, e estas poliaminas, de acordo com a literatura, estão relacionadas com organogênese em diversas espécies de plantas, já que estão associadas com DNA (BOUCHEREAU et al., 1999). Nota-se que espermina apresentou maior teor em relação à espermidina, exceto aos 20 dias, em plantas tratadas com 100 mM de NaCl. Resultados semelhantes são descritos por ROUSSOS & PONTIK (2007). Foi sugerido que espermina e espermidina podem contribuir para a tolerância ao estresse (LEFREVE et al., 2001). À espermina tem sido atribuído o papel protetor nas membranas, interagindo com moléculas carre-

gadas negativamente, modulando, dessa forma, as cargas superficiais e, conseqüentemente, regulando a permeabilidade e a estabilidade, sendo importante sob condições de estresse, onde ocorre a peroxidação e a desestabilização de membranas (ROY et al., 2005).

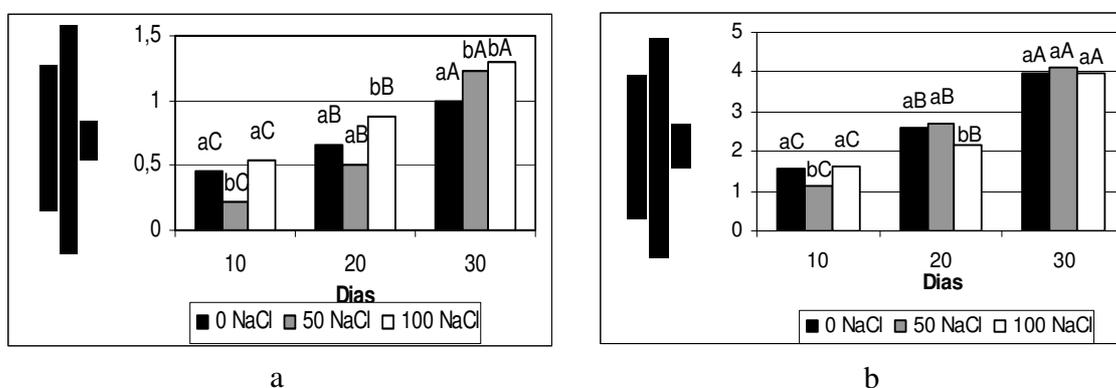
A síntese de poliaminas (putrescina e espermina) aumenta significativamente em resposta a diferentes tipos de estresse, incluindo salinidade (MANSOUR, 2000), e o aumento nos níveis de putrescina parece ser maior em plantas tolerantes à salinidade, o que pode levar a sugerir que *Colocasia esculenta* poderia ser uma planta tolerante. LEFREVE et al. (2001) encontraram maior teor de putrescina e tiramina em raízes de cultivares de arroz tolerantes do que em cultivares sensíveis, e uma tendência oposta foi encontrada na parte aérea, refletindo as diferentes funções das poliaminas nas raízes

e parte aérea, tais como regulação de crescimento, proteção de membranas e ajuste osmótico.

Assim, a partir dos resultados de poliaminas observados, somando-se à análise visual (bom desenvolvimento tanto da parte aérea, como de raízes, mesmo em meio salino), possivelmente, estas plantas se adaptariam bem em meio contendo níveis maiores de salinidade daqueles geralmente encontrados em solos. Esta afirmação tem ainda base bioquímica encontrada neste trabalho, na análise da enzima peroxidase, geralmente correlacionada com resistência a diferentes tipos de estresse. As plantas desenvolvem estratégias contra o es-

trese salino baseado na ativação do sistema de transporte iônico, ajuste osmótico e indução de enzimas antioxidantes (DIONÍSIO-SESE & TOBITA, 1998).

Em relação à atividade da peroxidase, nota-se que as maiores atividades foram encontradas aos 30 dias, tanto em folhas (Figura 3a) como em raízes (Figura 3b), sendo que a encontrada nas raízes foi maior se comparada com a parte aérea. Em relação à parte aérea, a maior atividade foi encontrada nas plantas submetidas ao maior teor de NaCl, reforçando a sugestão da possível adaptação desta planta em meio salino, possivelmente, por ajuste osmótico.



**Figura 3** - Atividade da peroxidase ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  decomposto  $\text{g}^{-1}$  matéria fresca  $\text{min}^{-1}$ ) na parte aérea (a) e raízes (b) de *Colocasia esculenta*, cultivada em meio MS acrescido de diferentes concentrações de NaCl, aos 10; 20 e 30 dias (Letras minúsculas entre os tratamentos, e maiúsculas entre as épocas de coletas (dias);  $p < 0,05$ ).

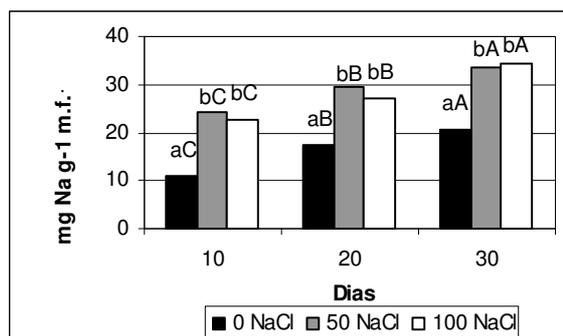
Figure 3 - Peroxidase activity ( $\mu\text{mol of decomposed H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$  of dry matter  $\text{min}^{-1}$ ) found in the aerial (a) and root (b) parts of *Colocasia esculenta* cultivated in a growth medium containing different concentrations of NaCl at 10, 20, and 30 days ( Small letters between treatments and large letters between harvest moments (days);  $p < 0.05$ )

The numbers after the comma are decimals. Example: 1,1 = one and one tenth.

Aumento de atividade de enzimas antioxidativas tem sido relacionado com níveis de estresse, tal como o salino, por diversos autores (LIMA et al., 1999; LIMA et al., 2003); NGUYEN et al. (2005), que sugeriram que esta enzima, entre outras, poderia ser um indicativo de tolerância a este tipo de estresse.

A atividade total da peroxidase também foi estudada por TALANO et al. (2003) em raízes de tomate cultivadas em meio contendo NaCl e notaram que a atividade nos tecidos foi similar para o controle e para as raízes tratadas com sal, como também verificado neste experimento, aos 10 e 20 dias, e ainda as alterações ocorridas na atividade

da enzima poderiam explicar seu papel fisiológico em resposta ao estresse salino. Possivelmente, como já colocado, essa função estaria envolvida na proteção de eventos oxidativos ocorridos devido aos níveis de estresse, promovendo a formação de espécies reativas ao oxigênio, como descrito por SREENIVASULU et al. (2000). Esses resultados de aumento da atividade das peroxidases e variações nos níveis, principalmente de espermidina e espermina, ocorreram, possivelmente, em função dos níveis de sódio encontrados neste trabalho, os quais apresentaram aumento com a elevação da concentração de sal no meio (Figura 4).



**Figura 4** - Teor de sódio ( $\text{mg Na g}^{-1}$  matéria seca) (parte aérea + raízes) em *Colocasia esculenta*, cultivada em meio MS acrescido de diferentes concentrações de NaCl, aos 10; 20 e 30 dias (Letras minúsculas dentro dos tratamentos, e maiúsculas entre as épocas de coletas (dias);  $p < 0,05$ ).

Figure 4 – Sodium concentration ( $\text{mg Na g}^{-1}$  of dry matter) (aerial + root parts) in *Colocasia esculenta* cultivated in a growth medium containing different concentrations of NaCl at 10, 20, and 30 days (Small letters between treatments and large letters between harvest moments (days);  $p < 0.05$ ).

The numbers after the comma are decimals. Example: 1,1 = one and one tenth.

Verifica-se que os maiores níveis de sódio ocorreram em plantas cultivadas em meio contendo 50 e 100  $\text{mmol L}^{-1}$  de NaCl. A presença desse cátion em plantas-controle (meio ausente do sal) provavelmente se deve à presença de sódio na formulação do meio de cultura, que pode ter incrementado o teor interno da planta ou possíveis contaminantes que ocorrem nas soluções-estoque.

Em altas concentrações de NaCl, plântulas de *Setaria itálica* (sensível) exibiram alta concentração de sódio, resultando em danos oxidativos, acompanhado por alterações na atividade de enzimas. O crescimento de plantas da mesma espécie, porém tolerantes, mostrou maior acúmulo de sódio e aumento na atividade de enzimas antioxidativas, resultando na maior capacidade de eliminação de possíveis radicais livres gerados pelo estresse (SREENIVASULU et al., 2000). Neste trabalho, nota-se que o aumento das concentrações de sódio ocorreu paralelamente ao aumento da atividade da peroxidase, sugerindo uma capacidade de sobrevivência devido a uma possível reação de detoxificação (eliminação de espécies reativas de oxigênio) promovida por enzimas, entre as quais a peroxidase.

Assim, pode-se concluir que *Colocasia esculenta* pode ser tolerante a níveis maiores de salinidade, apresentando, em resposta aos tratamentos com sais, aumento da atividade da peroxidase. Todas as poliaminas estudadas tendem a variar diretamente de acordo com a concentração salina, e espermina na parte aé-

rea e raiz mostrou a maior correlação com o aumento da salinidade no meio de cultivo.

## Referências

- ALVAREZ, I.; TOMARO, M. L.; BENAVIDES, M. P. Changes in polyamines, proline and ethylene in sunflower calluses treated with NaCl. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 74, n. 1, p. 51-59, 2003.
- BOUCHEREAU, A.; AZIZ, A.; LARHER, F.; MARTIN-TANGUY, J. Polyamines and environmental challenges: recent development. **Plant Science**, Limerick, v.140, n.2, p.103-125, 1999.
- CRAMER, G. R.; ALBERICO, G. J.; SCHMIDT, C. Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v.21, n.5, p.675-692, 1994.
- DIONISIO-SESE, M. L.; TOBITA, S. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. **Plant Science**, Limerick, v.135, n.1, p.1-9, 1998.
- FLORES, H. E.; GALSTON, A. W. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. **Plant Physiology**, Collingwood, v.69, n.3, p.701-706, 1982.
- GIBSON, T. S.; SPEIRS, J.; BRADY, C. J. Salt-tolerance in plants. II. *In vitro* translation of mRNAs from salt-tolerant and salt-sensitive

- plants on wheat germ ribosome. Responses to ions and compatible organic solutes. **Plant Cell Environment**, Oxford, v.7, n.8, p.579-587, 1984.
- GREENWAY, H.; MUNS, R. Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.31, p.149-190, 1980.
- JOUBE, L.; HOFFMANN, L.; HAUSMAN, J.-F. Polyamines, carbohydrate, and proline content changes during salt stress exposure of aspen (*Populus tremula* L.): Involvement of oxidation and osmoregulation metabolism. **Plant Biology**, London, v.6, n.1, p.74-80, 2004.
- LEFREVE, I.; GRATIA, E.; LUTTS, S. Discrimination between the ionic and osmotic components of salt stress in relation to free polyamine level in rice (*Oryza sativa*). **Plant Science**, Boca Raton, v.161, n.5, p.943-952, 2001.
- LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; MARINHO, A. O. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.56, n.1, p. 21-25, 1999.
- LIMA, G. P. P.; PIZA, I.M.T., HENRIQUE, A.; TAKAKI, M. Polyamines as salinity biochemical markers in callus of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.13, n.1., p.43-48, 2003.
- LIMA, G. P. P.; ROCHA, S. A. da; TAKAKI, M.; RAMOS, P. R. R. Polyamines contents in some foods from Brazilian population basic diet. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.4, p.1.294-1.298, 2006.
- LIN, C. C.; KAO, C. H. NaCl induced changes in ionically bound peroxidase activity in roots of rice seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.216, n.1-2, p.147-153, 1999.
- MAIALE, S.; SÁNCHEZ, D. H.; GUIRADO, A.; VIDAL, A.; RUIZ, O. A. Spermine accumulation under salt stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.161, n.1, p.35-42, 2004.
- MANSOUR, M. M. F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v.43, n.4, p.491-500, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.493-497, 1962.
- NAIDOO, G.; NAIDOO, Y. Effects of salinity and nitrogen on growth, ion relations and proline accumulation in *Triglochin bulbosa*. **Wetlands Ecology and Management**, Netherlands, v.9, n.6, p.491-497, 2001.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 22, n.5, p.867-880, 1981.
- NGUYEN, H. T. T.; SHIM, I. S.; KOBAYASHI, K.; USUI, K. Effects of salt stress on ion accumulation and antioxidative enzyme activities of *Oryza sativa* L. and *Echinochloa oryzicola* Vasing. **Weed Biology and Management**, Dordrecht, v.5, n.1, p.1-7, 2005.
- PRAKASH, L.; PRATHAPASENAN, G. Effect of NaCl salinity and putrescine on shoot growth, tissue ion concentration and yield of rice (*Oryza sativa* L. var GR-3). **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v.169, n.5, p.325-334, 1988.
- ROUSSOS, P.; PONTIKIS, C. A. Changes of free, soluble conjugated and bound polyamine titers of jojoba explants under sodium chloride salinity in vitro. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.164, n.7, p.895-903, 2007.
- ROY, P.; NIYOKI, K.; SENGUPTA, D. N.; GHOSH, B. Spermidine treatment to rice seedlings recovers salinity stress induced damage of plasma membrane and PM-bound H<sup>+</sup>-ATPase in salt-tolerant and salt-sensitive rice cultivars. **Plant Science**, Limerick, v.168, n.3, p.583-591, 2005.
- SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 125, n.1, p.27-58, 1993.
- SREENIVASULU, N.; GRIMM, B.; WOBUS, U.; WESCHKE, W. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 109, n.4, p. 435-442, 2000.
- TALANO, M. A.; AGOSTINI, E.; MEDINA, M. I.; DE FORCHETTI, S. M.; TIGIER, H.A. Tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. pera) hairy root cultures: characterization and

changes in peroxidase activity under NaCl treatment. **InVitro Cellular Developmental Biology Plant**, Columbia, v. 39, n. 3, p.354-359, 2003.

TIBURCIO, A. F.; BESFORD, R. T.; CAPELL, T.; BORRELL, A.; TESTILLANO, P. S.; RISUEÑO, M.C. Mechanisms of polyamine action during senescence responses induced by osmotic stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.45, n.12, p.1.789-1.800, 1994.

WILLADINO, L.; CAMARA, T.; BOGET, N.; CLAPAROLS, I.; TORNE, J. M. Polyamine and free amino acid variations in NaCl-treated embryogenic maize callus from sensitive and tolerant cultivars. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 147, n.1, p.179-185, 1996.

Recebido em 16-6-2005.

Aceito para publicação em 23-9-2006.