

TOSHIK IARLEY DA SILVA

**ESPERMINA COMO ATENUANTE DOS DANOS CAUSADOS PELOS ESTRESSES
SALINO E HÍDRICO EM CAPUCHINHA (*Tropaeolum majus* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: José Antonio Saraiva Grossi

Coorientadores: José Geraldo Barbosa
Wellington Souto Ribeiro

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586e
2022
Silva, Toshik Iarley da, 1992-
Espermina como atenuante dos danos causados pelos
estresses salino e hídrico em capuchinha (*Tropaeolum majus* L.)
/ Toshik Iarley da Silva. – Viçosa, MG, 2022.
1 tese eletrônica (90 f.): il. (algumas color.).

Orientador: José Antonio Saraiva Grossi.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Agronomia, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.485>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Plantas - Efeito do stress. 2. Plantas - Crescimento.
3. Fotossíntese. 4. Antioxidantes. 5. Etileno. I. Grossi, José
Antonio Saraiva, 1966-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 632.1

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552

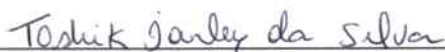
TOSHIK IARLEY DA SILVA

**ESPERMINA COMO ATENUANTE DOS DANOS CAUSADOS PELOS ESTRESSES
SALINO E HÍDRICO EM CAPUCHINHA (*Tropaeolum majus* L.)**

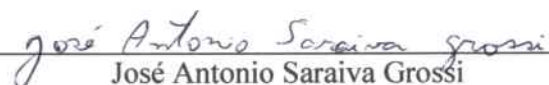
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 08 de agosto de 2022.

Assentimento:



Toshik Iarley da Silva
Autor



José Antonio Saraiva Grossi
Orientador

À minhas tias (mães) Maria, Docarmo e Inês.

Aos meus pais, Vicente Neto e Cícera.

Aos Bons Espíritos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela determinação que me destes para enfrentar as adversidades que cruzam a minha jornada.

Às minhas tias (mães), Maria, Docarmo e Inês, pelo amor e educação que sempre me dedicaram. A vocês, dedico esse trabalho e a minha vida, pois se não fossem por vocês eu não estaria escrevendo essas poucas palavras. Aos meus pais, Vicente e Cícera, por me proporcionarem a vida e por me acompanharem nessa longa trajetória que é a jornada da vida. A minhas irmãs, Tatiane, Aniele e Maiane e à prima Joênia. Ao meu sobrinho Arthur.

A Marlon Dias, por todo o companheirismo e cumplicidade. Por todos os seus esforços para me ajudar na execução desta tese. Esse sonho teria sido mais difícil de ser realizado sem o seu apoio.

A Renata Pedroza, por todas as risadas e perrengues. A Nicolas Oliveira e Mirelle Santos por toda a ajuda nas análises bioquímicas desse trabalho. Aos meus amigos Felipe Ferreira, William Gonzaga, Ricardo Pires, Fernando Filho, Lucas Bretas, Samuel Lannes, Maurício Celeri e Augusto Limão. Aos amigos de residência e que ficarão para vida: Luiz Ismael, Antonio Carlos, Paulo Dionizio, Marcelo Krause e Felipe Ferreira.

Ao meu orientador, Antonio Grossi, pelos ensinamentos morais e intelectuais e pela paciência de me aturar todo esse tempo. Aos meus orientadores Wellington Souto Ribeiro e José Geraldo Barbosa por todo apoio.

Aos funcionários da UEPE Belvedere (Floricultura/UFV), Antônio, Ricardo e Ernesto.

Aos professores: Cláudia Marco, Thiago Jardelino, Dimas Ribeiro, Walter Pereira, João Everthon Ribeiro e Ricardo Pires por aceitarem participar da banca e contribuição para esta tese. Aos professores Margrethe Serek e Christian Gehl por todo o apoio ao meu doutorado sanduíche na Leibniz Universität Hannover.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação. Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFV pela oportunidade que me doastes para a realização desse curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). O presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES (código de financiamento 001) e do CNPq (código de financiamento 140636/2019-6).

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”.

(Albert Einstein)

RESUMO

SILVA, T. I., D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2022. **Espermina como atenuante dos danos causados pelos estresses salino e hídrico em capuchinha (*Tropaeolum majus* L.)**. Orientador: José Antonio Saraiva Grossi. Coorientadores: José Geraldo Barbosa e Wellington Souto Ribeiro.

Os estresses abióticos são uma das principais causas da baixa produtividade dos cultivos devido aos distúrbios que causam às plantas. A aplicação de poliaminas é uma alternativa para amenizar os efeitos deletérios dos estresses abióticos sobre as plantas. Flores, folhas, frutos e botões de capuchinha (*Tropaeolum majus*) são utilizados para fins ornamentais, medicinais e alimentícios. No entanto, o estresse salino e o déficit hídrico limitam o desenvolvimento e a produtividade desta planta devido a distúrbios bioquímicos, fisiológicos e anatômicos. A aplicação de espermina pode ser uma alternativa para diminuir os danos causados por estes estresses nessa planta. Com isso, objetivou-se nesta tese avaliar o efeito da aplicação de espermina como atenuante dos efeitos danosos do estresse salino e déficit hídrico no crescimento, trocas gasosas e metabolismo de capuchinha. Um experimento no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com 0 (sem estresse), 40 (estresse salino moderado) e 80 mM NaCl (estresse salino severo) e 0 e 1 mM de espermina com cinco repetições foi usado para o experimento com estresse salino. Um experimento distribuído em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com 30 (déficit hídrico severo), 50 (déficit hídrico moderado) e 80% da capacidade de retenção de vaso (sem estresse) e 0 e 1 mM de espermina com cinco repetições foi usado para o experimento com déficit hídrico. A aplicação de espermina diminuiu os efeitos nocivos do estresse salino e déficit hídrico no crescimento e nas trocas gasosas e aumentou o número de flores de capuchinha. Além disso, aumentou o teor relativo de água e atividade enzimática e diminuiu a peroxidação lipídica. A aplicação de espermina diminuiu a produção de etileno em flores de capuchinha. A aplicação de espermina aumenta a tolerância ao estresse salino e déficit hídrico em capuchinha, aumentando o crescimento, trocas gasosas, teor relativo de água, enzimas do sistema antioxidante, diminuindo a peroxidação lipídica. A aplicação de espermina (1 mM) pode ser usada para mitigar os efeitos danosos do estresse salino e déficit hídrico em capuchinha.

Palavras-chave: Estresses abióticos. Crescimento. Fotossíntese. Sistema antioxidante. Etileno.

ABSTRACT

SILVA, T. I., D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2022. **Spermine as a mitigating of damage caused by salt and drought stresses in nasturtium (*Tropaeolum majus* L.)**. Adviser: José Antonio Saraiva Grossi. Co-advisers: José Geraldo Barbosa and Wellington Souto Ribeiro.

Abiotic stresses are one of the major causes of low crop productivity due to the disturbances they cause to plants. Polyamines application is an alternative to mitigate the harmful effects of abiotic stresses in plants. Flowers, leaves, fruits and buds of nasturtium (*Tropaeolum majus*) are used for ornamental, medicinal and food purposes. However, salt stress and drought stress limit the development and productivity of this plant due to biochemical, physiological, and anatomical disturbances. Spermine application may be an alternative to reduce the damage caused by these stresses in this plant. Thus, the objective was to evaluate the effect of spermine application as attenuating the harmful effects of salt stress and drought stress on the growth, gas exchange, and metabolism of nasturtium. An experiment distributed in a completely randomized design, in a 3x2 factorial scheme, with 0 (no stress), 40 (moderate salt stress), and 80 mM NaCl (severe salt stress) and 0 and 1 mM spermine with five replications was used for the experiment with salt stress. An experiment distributed in a completely randomized design, in a 3x2 factorial scheme, with 30 (severe drought stress), 50 (moderate drought stress), and 80% pot holding capacity (no stress) and 0 and 1 mM spermine with five replications was used for the experiment with drought stress. Spermine application reduced the harmful effects of salt stress and drought stress on the growth and gas exchange and increased the number of flowers of nasturtium. In addition, it increased the relative water content and enzymatic activity and decreased lipid peroxidation. Spermine application decreased ethylene production in nasturtium flowers. Spermine application increases tolerance to salt stress and drought stress in nasturtium, increasing the growth, gas exchange, relative water content, enzymes of the antioxidant system, and decreasing lipid peroxidation. Spermine application (1 mM) can be used to mitigate the harmful effects of salt stress and drought stress in nasturtium.

Keywords: Abiotic stresses. Growth. Photosynthesis. Antioxidant system. Ethylene.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Referências	14
2. ARTIGO I – Espermina reduz os efeitos prejudiciais do estresse salino em <i>Tropaeolum majus</i>	18
2.1 Resumo	19
2.2 Abstract	19
2.3 Introdução	20
2.4 Material e Métodos	22
2.4.1 Local e delineamento experimental	22
2.4.2 Material vegetal	22
2.4.3 Variáveis analisadas	23
2.4.1 Análise estatística	26
2.5 Resultados	26
2.6 Discussão	34
2.7 Conclusão	38
2.8 Referências	38
3. ARTIGO II – Espermina reduz os efeitos prejudiciais do déficit hídrico em <i>Tropaeolum majus</i>	45
3.1 Resumo	46
3.2 Abstract	47
3.3 Introdução	47
3.4 Material e Métodos	49
3.4.1 Local e delineamento experimental	49
3.4.2 Material vegetal	49
3.4.3 Variáveis analisadas	50
3.4.1 Análise estatística	52
3.5 Resultados	53
3.6 Discussão	61
3.7 Conclusão	66
3.8 Referências	66
4. ARTIGO III – Espermina regula etileno, açúcares e compostos fenólicos em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino	71

4.1 Resumo	72
4.2 Abstract	73
4.3 Introdução	73
4.4 Material e Métodos	75
4.4.1 Local do experimento	75
4.4.2 Material vegetal e delineamento experimental	75
4.4.3 Variáveis analisadas	76
4.4.1 Análise estatística	77
4.5 Resultados	77
4.6 Discussão	81
4.7 Conclusão	83
4.8 Referências	83
5. CONCLUSÕES	90

1. INTRODUÇÃO

A globalização contribuiu para uma melhor conscientização do consumidor e o retorno a estilos de vida anteriores, nos quais as flores comestíveis têm um grande destaque (Rop et al., 2012). As flores comestíveis são parte integrante da nutrição humana há séculos, sendo usadas como decoração em alimentos preparados para a nobreza, especialmente em festas e banquetes. Além disso, elas são servidas como guarnição e/ou enfeites de várias refeições e buffet frio, sendo as pétalas são usadas para decorar saladas, refeições doces, sorvetes, bebidas etc. Além da aparência estética, elas também correspondem a um sabor e cheiro peculiares (Mlcek e Rop, 2011). As principais fontes de flores comestíveis são vegetais, frutas e plantas medicinais e ornamentais (Rop et al., 2012).

A capuchinha (*Tropaeolum majus* L. – Tropaeolaceae), também conhecida no Brasil como chaguinha e nastúrcio, é uma planta comestível, ornamental e medicinal, com flores vistosas, simples ou dobradas, chegando a 2–3 metros de comprimento e 30–40 cm de altura (Melo et al., 2018). A capuchinha possui flores vermelhas, alaranjadas e amarelas ricamente coloridas, com predominância do fenótipo laranja. Estas flores têm forte sabor picante e são ótimas em saladas, molhos, pratos grelhados e em outras preparações (Koike et al., 2015). Essas flores são ricas em compostos bioativos como flavonóides (quercetina e isoquercitrina), ácidos graxos (oleico e linoleico), vitamina C e tiocianato de benzila (Bazylko et al., 2013).

As folhas e flores de capuchinha têm sido usadas como tratamento de muitas doenças como hipertensão, inflamação e infecção do trato urinário, feridas, vesícula biliar, afrodisíaca, doenças crônicas como doença pulmonar obstrutiva, infecções de rins e bexiga e também como potencial anticarcinogênico (Valsalam et al., 2019). Suas flores e folhas são consideradas uma excelente fonte dietética de luteína, o que reduz o risco de degeneração macular e também possui atividades diuréticas e anti-hipertensivas, também com efeitos antidiabéticos (Jurca et al., 2018).

A capuchinha é uma planta cultivada em muitas partes do mundo; no entanto, muitas regiões têm vários estresses abióticos, que podem diminuir o seu crescimento e produção. As plantas podem enfrentar uma ampla gama de condições de estresse ambiental, como temperaturas extremas, seca, salinidade, inundação, toxicidade por poluentes e vários estresses oxidativos (Forni et al., 2017). Mudanças climáticas, estresses ambientais, escassez de água e redução da fertilidade do solo são as principais restrições que limitam o crescimento e a produtividade das culturas e impõem uma ameaça ao futuro da segurança alimentar para a crescente população humana (Phour e Sindhu, 2020). Os estresses abióticos causam perdas de

50% à produtividade agrícola em todo o mundo (Kumar e Verma, 2018). Os principais estresses abióticos incluem temperatura, seca, salinidade e estresse por metais pesados (He et al., 2018).

A salinidade do solo afeta 800 Mha de terra em todo o mundo que afeta aproximadamente 20% da terra irrigada e reduz significativamente o rendimento das culturas (Negrão et al., 2017; Phour e Sindhu, 2020). Esse estresse é mais difundido em regiões áridas, semiáridas e costeiras e se espalha mais em terras irrigadas, devido ao manejo inadequado da irrigação e drenagem, baixa precipitação, alta evaporação e irrigação com águas salinas (Ibrahim et al., 2016).

A salinização do solo é causada por atividades naturais ou humanas que aumentam a concentração de sais dissolvidos, predominantemente cloreto de sódio (NaCl) no solo. A salinidade primária é causada por processos naturais, levando a um acúmulo significativo de sal no solo e nas águas subterrâneas por longos períodos de tempo, enquanto que operações de cultivo como limpeza de terras, irrigação excessiva, uso de água salina e drenagem inadequada são as razões para a salinidade secundária (Ilangumaran e Smith, 2017). O uso de água salina na agricultura está aumentando gradualmente devido à escassez de água doce. Consequentemente, por um lado, as áreas afetadas por sal aumentam constantemente e, por outro lado, uma quantidade significativa de terra arável é abandonada todos os anos por causa da salinidade (Habib et al., 2016).

De acordo com a definição padrão, solos salinos são aqueles que possuem condutividade elétrica do extrato de pasta de saturação de solo superior a 4 dS m^{-1} a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, o que corresponde a aproximadamente 40 mM de NaCl e gera pressão osmótica de aproximadamente 0,2 MPa (Munns e Tester, 2008). A maioria das culturas é altamente suscetível ao solo salino, mesmo com condutividades elétricas abaixo de 3 dS m^{-1} (Ibrahim et al., 2016). Os sais podem incluir cloretos, sulfatos, carbonatos e bicarbonatos de sódio, potássio, magnésio e cálcio (Hanin et al., 2016).

A alta salinidade no solo resulta no acúmulo de altos teores de Na^+ e Cl^- nas células das plantas através das raízes através da via simplástica. Esse fluxo iônico causa estresse oxidativo, que influencia no funcionamento da bicamada lipídica e metabolismo celular (Shahzad et al., 2017). Além disso, reduz a captação de água e nutrientes, e isso leva ao estresse osmótico, toxicidade de íons, desequilíbrios de nutrientes e déficit hídrico, afetando também a fotossíntese, danificam as folhas e podem levar à clorose e senescência foliar precoce (Hanin et al., 2016; Ilangumaran e Smith, 2017). O estresse salino influencia o estresse biótico, resultando na perda da diversidade microbiana e fertilidade do solo e na competição por recursos nutricionais (Phour e Sindhu, 2020).

Déficit hídrico e salinidade são os principais fatores ambientais que influenciam a produtividade das culturas em todo o mundo (Nxele et al., 2017). Prevê-se que o déficit hídrico cause sérios problemas de crescimento de plantas em mais de 50% das terras aráveis até 2050 (Vurukonda et al., 2016). Em muitas partes do mundo, a água de irrigação tem sido explorada e superutilizada, e a escassez de água doce está se tornando crítica nas áreas áridas e semiáridas do mundo (Chai et al., 2016).

O déficit hídrico como consequência da chuva insuficiente ou da umidade do solo deficiente pode induzir várias respostas bioquímicas, fisiológicas e genéticas nas plantas, restringindo severamente o crescimento das culturas (Zhou et al., 2017). A sensibilidade do estágio de crescimento das plantas ao déficit hídrico pode ser afetada por muitos fatores, incluindo condições climáticas, espécies e cultivares, práticas de manejo agrônômico, entre outros (Chai et al., 2016).

Após a exposição ao déficit hídrico, as plantas manifestam várias deficiências, incluindo lesão celular por geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), aumento da temperatura celular, alterações nas interações proteína-proteína, agregação e desnaturação de proteínas, desregulação da atividade enzimática, redução da fotossíntese, murcha e branqueamento das folhas e até a morte (Joshi et al., 2016). No nível celular, o estresse osmótico, causado pelo déficit hídrico, leva à desidratação que diminui os volumes citosólico e vacuolar (Forni et al., 2017). O déficit hídrico influencia a disponibilidade e o transporte de nutrientes do solo, à medida que os nutrientes são transportados pelas raízes através da água, diminuindo a difusão e o fluxo de massa de nutrientes solúveis em água, como nitrato, sulfato, Ca, Mg e Si (Vurukonda et al., 2016).

O déficit hídrico reduz a produção de novas folhas e promove a ausência e a abscisão, consequentemente, a área foliar diminui drasticamente. Além disso, a menor concentração interna de CO₂ durante a seca é responsável pela redução na fotossíntese, inibindo a enzima no local aceitador da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) ou pela inibição direta de enzimas fotossintéticas, como RuBisCO ou ATP sintase (Farooq et al., 2017).

As condições de estresse abiótico resultam em alterações bioquímicas, como o acúmulo de EROs que são subprodutos do metabolismo celular que desempenham um papel importante na inibição do crescimento e desenvolvimento das plantas, se não forem cuidadosamente regulados (Nxele et al., 2017). Enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) têm a capacidade de eliminar as EROs e mantê-los em níveis baixos. A APX tem papel defensivo vital contra EROs e pode catalisar a quebra de H₂O₂ produzido pela SOD, enquanto a CAT reduz os níveis de EROs catalisando a

decomposição de H_2O_2 em H_2O e O_2 (Habib et al., 2016). As defesas são orquestradas por uma intrincada rede reguladora composta por numerosas moléculas de sinalização e fatores de regulação gênica (He et al., 2018). Sendo que as plantas respondem aos estresses abióticos através de processos de adaptação nos níveis molecular, celular, fisiológico e bioquímico (Feng et al., 2020).

Os fitormônios são um conjunto de moléculas derivadas de várias vias metabólicas essenciais, sendo importantes reguladores que mediam o crescimento, desenvolvimento, diferenciação, respostas a estresses bióticos e abióticos, dominância apical, formação de bulbos, divisão celular, florescimento, germinação de sementes, dormência, senescência, etc. (Bosco et al., 2014) através de ações sinérgicas ou antagônicas. Alguns fitormônios estão sendo utilizados como atenuantes dos efeitos danosos de estresses abióticos e como promotores do florescimento. Dentre os que estão em destaque nesse cenário, pode-se citar as giberelinas, citocininas, jasmonatos, salicilatos e poliaminas.

As poliaminas (PAs) são policátions alifáticos de baixo peso molecular onipresentemente distribuídas em todos os organismos vivos, incluindo bactérias, animais e plantas (Liu et al., 2015). A diamina putrescina (Put), triamina espermidina (Spd) e tetraamina espermina (Spm) são PAs naturais compartilhadas por quase todos os organismos vivos, sendo policátions de cadeia curta derivadas de arginina/ornitina (Gill e Tuteja, 2010). As PAs podem ser consideradas como um dos grupos mais antigos de substâncias conhecidas na bioquímica. A espermina foi descoberta há mais de 300 anos nos espermatozóides humanos envelhecidos, enquanto a putrescina e cadaverina foram identificadas em cadáveres em putrefação, há mais de 100 anos, sendo sua estrutura elucidadas na década de 1920, que foi revelado que são compostos contendo nitrogênio de baixo peso molecular (Alcázar et al., 2010). As PAs ocorrem em formas livres, conjugadas (associadas a moléculas pequenas, como ácidos fenólicos) ou ligadas (associadas a várias macromoléculas), sendo que o seu teor varia acentuadamente, dependendo da espécie ou órgão da planta e do estágio de desenvolvimento (Pál et al., 2015).

As PAs em plantas funcionam em respostas adaptativas a vários estresses ambientais, e isso é suportado pela extensa variação nos teores de poliamina sob condições de estresse (Liu et al., 2015). As PAs estão envolvidas em muitos processos de desenvolvimento de plantas, como iniciação e desenvolvimento floral, divisão celular, embriogênese, crescimento de raízes, desenvolvimento de órgãos reprodutivos, tuberização, desenvolvimento, amadurecimento de frutos, senescência foliar e respostas aos estresses abióticos e bióticos de plantas (Alcázar et al., 2010; Sarwat et al., 2013).

Os vários papéis prováveis das PAs na tolerância e/ou melhoria do estresse nas plantas são: (i) servir como solutos compatíveis, juntamente com prolina, glicina betaína e ácido γ -aminobutírico (GABA); (ii) interações com macromoléculas como DNA, RNA, complexos de transcrição e tradução e membranas celulares e organelares para estabilizá-las; (iii) eliminação direta de radicais oxigênio e hidroxila e na promoção da produção de enzimas e metabólitos antioxidantes; (iv) atuar como moléculas de sinalização na via de resposta ao estresse regulada por ABA e através da produção de H_2O_2 ; (v) reguladores de vários canais iônicos; e, (vi) participação na morte celular programada. Além de seu papel na regulação metabólica da toxicidade de amônia, produção de óxido nítrico e no equilíbrio do metabolismo orgânico de N na célula (Minocha et al., 2014).

Os efeitos da aplicação de poliaminas no crescimento, fisiologia e metabolismo de *T. majus* ainda não foi esclarecido, tampouco, estudos detalhados sobre a aclimatação desta planta aos estresses abióticos. Com isso, estudos sobre a aplicação de poliamina como atenuante do estresse salino e déficit hídrico são de crucial importância.

Referências

- Alcázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., Carrasco, P., Tiburcio, A. F. (2010). Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231(6), 1237–1249. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1130-0>
- Bazytko, A., Granica, S., Filipek, A., Piwowarski, J., Stefańska, J., Osińska, E., Kiss, A. K. (2013). Comparison of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of *Tropaeolum majus* L. *Industrial Crops and Products*, 50, 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.003>
- Bosco, R., Daeseleire, E., Van Pamel, E., Scariot, V., Leus, L. (2014). Development of an ultrahigh-performance liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of salicylic acid, jasmonic acid, and abscisic acid in rose leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(27), 6278–6284. <https://doi.org/10.1021/jf5023884>
- Chai, Q., Gan, Y., Zhao, C., Xu, H. L., Waskom, R. M., Niu, Y., Siddique, K. H. (2016). Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(1), 3. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0338-6>

- Farooq, M., Gogoi, N., Barthakur, S., Baroowa, B., Bharadwaj, N., Alghamdi, S. S., Siddique, K. H. M. (2017). Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(2), 81–102. <https://doi.org/10.1111/jac.12169>
- Feng, Z., Ding, C., Li, W., Wang, D., Cui, D. (2020). Applications of metabolomics in the research of soybean plant under abiotic stress. *Food Chemistry*, 310, 125914. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125914>
- Forni, C., Duca, D., Glick, B. R. (2017). Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant and Soil*, 410(1–2), 335–356. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3007-x>
- Gill, S. S., Tuteja, N. (2010). Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 5(1), 26–33. <https://doi.org/10.4161/psb.5.1.10291>
- Habib, S. H., Kausar, H., Saud, H. M. (2016). Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes. *BioMed Research International*, 2016, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2016/6284547>
- Hanin, M., Ebel, C., Ngom, M., Laplaze, L., Masmoudi, K. (2016). New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1787. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01787>
- He, M., He, C. Q., Ding, N. Z. (2018). Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1771. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01771>
- Ibrahim, E. A. (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*, 192, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011>
- Ilangumaran, G., Smith, D. L. (2017). Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1768. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01768>
- Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., Pareek, A., Singla-Pareek, S. L. (2016). Transcription factors and plants response to drought stress: current understanding and future directions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1029. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01029>
- Jurca, T., Baldea, I., Filip, G. A., Olteanu, D., Clichici, S., Pallag, A., Pallag, A., Vicas, L., Marian, E., Micle, O., Muresan, M. (2018). The effect of *Tropaeolum majus* L. on bacterial infections and in vitro efficacy on apoptosis and DNA lesions in hyperosmotic

- stress. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 69(3), 391–401. <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.3.06>
- Koike, A., Barreira, J. C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Villavicencio, A. L., Ferreira, I. C. (2015). Irradiation as a novel approach to improve quality of *Tropaeolum majus* L. flowers: Benefits in phenolic profiles and antioxidant activity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30, 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.009>
- Kumar, A., Verma, J. P. (2018). Does plant-microbe interaction confer stress tolerance in plants: a review? *Microbiological Research*, 207, 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.004>
- Liu, J. H., Wang, W., Wu, H., Gong, X., Moriguchi, T. (2015). Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. *Frontiers in Plant Science*, 6, 827. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00827>
- Melo, A. C., Costa, S. C. A., Castro, A. F., Souza, A. N. V., Sato, S. W., Lívero, F. A. R., Lourenço, E. L. B., Baretta, I. P., Lovato, E. C. W. (2018). Hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* promotes anxiolytic effects on rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28(5), 589–593. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.006>
- Minocha, R., Majumdar, R., Minocha, S. C. (2014). Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship. *Frontiers in Plant Science*, 5, 175. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00175>
- Mlcek, J., Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants—A new source of nutraceutical foods. *Trends in Food Science & Technology*, 22(10), 561–569. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.006>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Negrão, S., Schmöckel, S. M., Tester, M. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*, 119(1), 1–11. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw191>
- Nxele, X., Klein, A., Ndimba, B. K. (2017). Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. *South African Journal of Botany*, 108, 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.11.003>
- Pál, M., Szalai, G., Janda, T. (2015). Speculation: polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Science*, 237, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003>
- Phour, M., Sindhu, S. S. (2020). Amelioration of salinity stress and growth stimulation of mustard (*Brassica juncea* L.) by salt-tolerant *Pseudomonas* species. *Applied Soil Ecology*, 149, 103518. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103518>

- Rop, O., Mlcek, J., Jurikova, T., Neugebauerova, J., Vabkova, J. (2012). Edible flowers-a new promising source of mineral elements in human nutrition. *Molecules*, 17(6), 6672–6683. <https://doi.org/10.3390/molecules17066672>
- Sarwat, M., Naqvi, A. R., Ahmad, P., Ashraf, M., Akram, N. A. (2013). Phytohormones and microRNAs as sensors and regulators of leaf senescence: assigning macro roles to small molecules. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1153–1171. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.02.003>
- Shahzad, R., Khan, A. L., Bilal, S., Waqas, M., Kang, S. M., Lee, I. J. (2017). Inoculation of abscisic acid-producing endophytic bacteria enhances salinity stress tolerance in *Oryza sativa*. *Environmental and Experimental Botany*, 136, 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.010>
- Valsalam, S., Agastian, P., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ghilan, A. K. M., Kaviyarasu, K., Ravindran, B., Chang, S. W., Arokiyaraj, S. (2019). Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced in-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 191, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.010>
- Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., SkZ, A. (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 184, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C. O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., Yu, W., Zhao, T., Wu, Z. (2017). Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biology*, 17(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-0974-x>

Artigo I**ESPERMINA REDUZ OS EFEITOS PREJUDICIAIS DO ESTRESSE SALINO EM
*Tropaeolum majus***

**Artigo publicado na Revista *Physiology and Molecular Biology of Plants*
(Com ajustes após considerações da banca de avaliação)**

Silva, T. I., Dias, M. G., Araújo, N. O., Santos, M. N. S., Cruz, R. R. P., Dias, T. J., Ribeiro, W. S., Grossi, J. A. S., & Barbosa, J. G. (2022). Spermine reduces the harmful effects of salt stress in *Tropaeolum majus*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(3), 687–696. <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01165-9>

ESPERMINA REDUZ OS EFEITOS PREJUDICIAIS DO ESTRESSE SALINO EM
Tropaeolum majus

Resumo

Flores, folhas, frutos e botões de *Tropaeolum majus* são utilizados para fins ornamentais, medicinais e alimentícios. No entanto, o estresse salino limita o desenvolvimento e a produtividade desta planta devido aos distúrbios bioquímicos, fisiológicos e anatômicos. A aplicação de poliaminas é uma alternativa para mitigar os efeitos nocivos do estresse salino. Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos da aplicação de espermina em *T. majus* cultivada sob estresse salino. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2, com 0, 40 (estresse salino moderado) e 80 (estresse salino severo) mM NaCl e 0 e 1 mM de espermina, com cinco repetições. O crescimento (altura de planta, diâmetro do caule, número de folhas, número de flores, número de botões, massa seca da folha, massa seca do caule e massa seca da flor), trocas gasosas (*gs*, *A*, *E*, *Ci* e EUA), teor relativo de água, aminoácidos livres, compostos fenólicos, açúcares redutores e não redutores, peroxidação lipídica e atividade enzimática (CAT, POD e APX) foram avaliados. A aplicação de espermina diminuiu os efeitos nocivos do estresse salino no crescimento e nas trocas gasosas e aumentou o número de flores de *T. majus*. Além disso, aumentou o teor relativo de água de *T. majus* sob estresse salino severo. A aplicação de espermina reduziu os teores de compostos fenólicos totais, aminoácidos livres, açúcares redutores e açúcares não redutores nas folhas de *T. majus*. A aplicação de espermina aumentou as atividades de CAT e POD em plantas sob estresse salino severo e POD e APX em plantas sob estresse salino moderado.

Palavras-chave: salinidade, poliamina, Tropaeolaceae, capuchinha

SPERMINE REDUCES THE HARMFUL EFFECTS OF SALT STRESS IN
Tropaeolum majus

Abstract

Flowers, leaves, fruits and buds of *Tropaeolum majus* are used for ornamental, medicinal and food purposes. However, salt stress limits the development and productivity of *T. majus* due to biochemical, physiological and anatomical disturbances. Polyamine application is an alternative for mitigating the harmful effects of salt stress. Thus, the objective was to evaluate the effects of spermine application in *T. majus* grown under salt stress. The experiment was carried out within a completely randomized design, in a 3 x 2 factorial scheme, with 0, 40 (moderate salt stress) and 80 (severe salt stress) mM NaCl, and 0 and 1 mM spermine, and with

five replicates. Growth (plant height, stem diameter, number of leaves, number of flowers, number of buds, leaf dry mass, stem dry mass and flower dry mass), gas exchange (g_s , A , E , C_i and WUE), relative water content, free amino acids, phenolic compounds, reducing and non-reducing sugars, lipid peroxidation and enzymatic activity (CAT, POD and APX) were evaluated. Spermine application decreased the harmful effects of salt stress on growth and gas exchange and increased the flowering of *T. majus*. Furthermore, it increased the relative water content of *T. majus* under severe salt stress. Spermine application reduced the contents of total phenolic compounds, free amino acids, reducing sugars and non-reducing sugars on leaves of *T. majus*. Spermine application increased CAT and POD activities in plants under severe salt stress and POD and APX in plants under moderate salt stress.

Keywords: salinity, polyamine, Tropaeolaceae, nasturtium

2.3. Introdução

Os principais estresses abióticos incluem flutuações extremas de temperatura, seca, salinidade e contaminação por metais pesados (He et al., 2018). A salinidade é um estresse abiótico específico que ocorre em regiões agrícolas com condições áridas e semiáridas. Cerca de um bilhão de hectares de terras aráveis são afetados por sais, e o problema tende a piorar devido à baixa pluviosidade, alta evaporação e gestão inadequada de drenagem e irrigação (incluindo irrigação com água salina) e aquecimento global (Ibrahim et al., 2016; Ali et al., 2021), além das características do solo e chuvas irregulares (Saleem et al., 2021). A salinidade do solo é uma condição caracterizada pela concentração de sais solúveis, principalmente NaCl, que é utilizado como parâmetro de classificação. Solos salinos são definidos como tendo condutividade elétrica maior que 4 dS m^{-1} a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (aproximadamente 40 mM NaCl) e geram uma pressão osmótica maior que 0,2 MPa (Munns e Tester, 2008; Almeida et al., 2017).

A eficiência fotossintética de uma planta é diminuída pelo estresse salino através da função estomática restrita e limitação não estomática. Por exemplo, a clorofila é degradada, a atividade RuBisCO é inibida e as proteínas da membrana no aparelho fotossintético são destruídas (Shu et al., 2013). Esse estresse também reduz significativamente a pressão de turgescência e o teor de água nos tecidos vegetais, resultando em diminuição do crescimento e produção (Jia et al., 2021).

A salinidade pode causar déficit hídrico nas plantas devido à diminuição do potencial osmótico do solo, reduzindo a capacidade de absorção de água pelas raízes. A primeira resposta da planta à seca é o fechamento estomático (condutância estomática reduzida) devido a relações hídricas perturbadas e síntese local de ácido abscísico (Pan et al., 2021). O fechamento dos

estômatos diminui a perda de água pela transpiração, o que reduz a absorção de CO₂. Quando os níveis de CO₂ estão baixos, a ribulose-1,5-bifosfato é oxigenada, resultando em maior produção de H₂O₂ nos peroxissomos das células (Alharby et al., 2021). Sob condições de estresse salino, as espécies reativas de oxigênio (EROs) se acumulam, causando alterações bioquímicas (Nxele et al., 2017). As EROs produzidas no fotossistema I (PSI) são eliminadas por reações como ciclo água-água ou via Mehler-ascorbato peroxidase (Ahanger et al., 2017). Assim, o uso de estratégias para minimizar os efeitos nocivos do estresse salino nas plantas é de interesse crucial, sendo o uso de fitohormônios, como as poliaminas, uma estratégia eficaz para reduzir esses efeitos.

Todos os organismos vivos, incluindo bactérias, animais e plantas contêm poliaminas, que são policátions alifáticos de baixo peso molecular com uma distribuição ampla (Liu et al., 2015). As poliaminas estão presentes em sua forma livre em plantas superiores, principalmente como putrescina, espermidina, espermina e cadaverina (Nahar et al., 2016). Os teores de poliamina livre e conjugada são importantes para a tolerância ao estresse em plantas (Chen et al., 2019). A putrescina (Put), um composto com dois grupos amino, é um precursor da espermidina (Spd) e da espermina (Spm) e desempenha um papel fundamental na biossíntese de poliaminas (Pegg, 2016). Put atua como um regulador negativo, enquanto Spm e Spd têm efeito positivo nos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas (Jia et al., 2021).

As poliaminas são ativadoras de defesa em plantas superiores e possuem respostas robustas às condições ambientais adversas, além de estarem associadas à homeostase de EROs, onde são capazes de ativar enzimas antioxidantes e eliminar EROs (Jia et al., 2021). A maquinaria de defesa antioxidante é um sistema de eliminação de EROs, que protege as plantas dos danos oxidativos. Uma combinação de sistemas enzimáticos (SOD, CAT, APX e POD) e sistemas não enzimáticos (ascorbato, glutathione, fenóis, alcalóides, aminoácidos não proteicos e α -tocoferóis) é empregada para manter as células vegetais contra danos causados por EROs (Nahar et al., 2016). Também é possível que as poliaminas desempenhem um papel protetor devido à sua capacidade de atuar como osmólitos ou estimular a produção e acúmulo de outros osmólitos, como prolina, glicina betaína e ácido γ -aminobutírico (GABA) (Fang et al., 2020; Jankovska-Bortkevič et al., 2020). A aplicação de espermina facilita o metabolismo de EROs e a fotossíntese, o que melhora o crescimento das plantas e reduz os efeitos nocivos do estresse salino (Baniasadi et al., 2018). O acúmulo de espermina pode ativar um conjunto de genes de resposta ao estresse salino, tornando as plantas tolerantes a esse estresse (Marco et al., 2019). A aplicação de espermina aliviou os danos causados pelo estresse salino em arroz (*Oryza sativa*

L. – Paul e Roychoudhury, 2017; Islam et al., 2020), calêndula (*Calendula officinalis* L. - Baniasadi et al., 2018) e feijão mungo (*Vigna radiata* L. – Nahar et al, 2017).

A capuchinha (*Tropaeolum majus* L. - Tropaeolaceae) é uma planta comestível, ornamental e medicinal, com flores vistosas, simples ou duplas, atingindo 2 a 3 metros de comprimento e 30 a 40 cm de altura (Melo et al., 2018). Esta planta é nativa dos Andes e cresce em todo o mundo. É uma das principais flores comestíveis cultivadas ao redor do mundo, com grande importância econômica e social. As flores de *T. majus* têm sabor forte e picante e são ótimas em saladas, molhos, grelhados e preparações recheadas (Koike et al., 2015). Esta planta também contém uma grande variedade de compostos bioativos, como flavonóides (quercetina e isoquercitrina), ácidos graxos (oleico e linoleico), vitamina C e benziltiocianato (Bazylko et al., 2013). A capuchinha cresce em diferentes ambientes; no entanto, a salinidade pode afetar seu crescimento (Bloem et al., 2014). A salinidade do solo ou da água de irrigação é comum em várias regiões do mundo, principalmente em regiões áridas e semiáridas. Por conta disso, os efeitos da espermina como possível mitigador do estresse salino em capuchinha foi avaliado.

O conhecimento sobre o efeito da salinidade e aplicação de poliamina no crescimento, trocas gasosas e potencial bioquímico de *T. majus* é escasso. Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos da aplicação de espermina em *T. majus* cultivada sob estresse salino.

2.4. Material e Métodos

2.4.1. Local e delineamento experimental

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, de maio a agosto de 2020. A temperatura e umidade mínima e máxima durante o experimento foram de 15 °C e 40%, 30 °C e 86%, respectivamente. O experimento foi distribuído em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com 0, 40 (estresse salino moderado) e 80 (estresse salino severo) mM de NaCl e 0 e 1 mM de espermina, com cinco repetições.

2.4.2. Material vegetal

Sementes de *T. majus* (var. Semi-dobrada sortida, Feltrin®) foram semeadas em bandeja de poliestireno de 128 células com substrato comercial (Tropstrato, CE= $0,5 \pm 0,3$ dS m⁻¹; pH = $5,8 \pm 0,3$). As mudas foram transplantadas para vasos contendo 1,2 dm³ do mesmo substrato comercial aos 12 dias após o plantio. A espermina (Sigma-Aldrich) foi diluída em água deionizada e Tween 20 (Sigma-Aldrich) (0,05%) foi usado como surfactante para aumentar a

absorção pelas plantas. O controle foi água deionizada e Tween 20 (0,05%). As plantas foram pulverizadas com 10 mL de cada solução, com as aplicações de espermina (Spm) realizadas a cada sete dias durante quatro semanas. A primeira aplicação de Spm foi no primeiro dia de estresse salino (irrigação salina), que foi 20 dias após o plantio. A água salina foi feita com a adição de NaCl (Sigma-Aldrich) em água deionizada e a condutividade medida com um condutivímetro.

A irrigação foi realizada diariamente, mantendo as plantas a 80% da capacidade de retenção de vaso durante 60 dias. Os vasos com as plantas foram pesados diariamente para calcular a evapotranspiração e determinar a quantidade de água a ser aplicada (Girardi et al., 2016). Não foi aplicado lâmina de drenagem durante todo o experimento. As plantas foram fertirrigadas com 4 g L⁻¹ de fertilizante NPK 20-20-20 + micronutrientes (Peters Professional®), uma vez por semana.

2.4.3. Variáveis analisadas

2.4.3.1. Crescimento de plantas

Todos os dados foram coletados aos 60 dias após o início da irrigação com água salina (DAI). A altura da planta (cm), diâmetro do caule (mm), número de folhas, número de flores, número de botões, massa seca de folhas (g), massa seca do caule (g) e massa seca de flores (g) foram avaliados. Cada parte da planta foi colocada em sacos de papel e secas em uma estufa de circulação de ar forçado a 65 °C, sendo pesadas em balança analítica para obter-se as massas secas.

2.4.3.2. Trocas gasosas

As trocas gasosas foram analisadas aos 60 DAI. Um analisador de gases no infravermelho (IRGA – modelo LCPro, ADC BioScientific Ltd.) foi utilizado para avaliar as trocas gasosas, sendo as leituras realizadas entre 8:00 e 10:00 h. Radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de CO₂ das condições ambientais foram usadas durante as análises de trocas gasosas. A condutância estomática ($g_s = \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida ($A = \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração ($E = \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentração de carbono interno ($C_i = \mu\text{mol CO}_2 \text{mol ar}^{-1}$) e eficiência instantânea no uso da água (EUA = $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foram avaliadas.

2.4.3.3. Teor relativo de água (TRA)

Dez discos (1 cm de diâmetro) foram removidos da primeira folha totalmente expandida para determinar o teor relativo de água (TRA). Após a pesagem e obtenção da massa da matéria fresca (MF), os discos foliares foram imersos em água deionizada por 3 h até atingir a massa túrgida (MT). Em seguida, os discos foram colocados em estufa a 65 °C por 48 h para obtenção da massa da matéria seca (MS). O TRA foi calculado usando a fórmula: $TRA(\%) = [(MF-MS)/(MT-MS)] \times 100$.

2.4.3.4. Açúcares redutores e não redutores

Açúcares solúveis foram extraídos de aproximadamente 2 g de folha fresca moída e homogeneizados em etanol 80% aquecido a 85 °C. O extrato foi centrifugado por 8 min a 12.000 g. O sobrenadante foi recolhido e o precipitado foi extraído mais uma vez com etanol 80%. O método do fenol sulfúrico (Dubois et al., 1956) foi utilizado para determinar o teor de açúcares solúveis totais (AST) na amostra. O ensaio contendo 0,25 mL de sobrenadante, 0,25 mL de fenol a 5% e 1,25 mL de H₂SO₄ concentrado foi incubado a 30 °C por 20 min. Após resfriamento, a absorbância foi medida a 490 nm. O AST foi expresso em porcentagens de AST por massa fresca de folhas, utilizando-se a sacarose como padrão.

O teor de açúcares redutores (AR) foi quantificado pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) proposto por Gonçalves et al. (2010), com modificações. 0,5 mL de sobrenadante foi adicionado a 0,5 mL de reagente DNS e os tubos foram aquecidos por 5 min. Após resfriamento em banho de gelo, 4 mL de água foram adicionados e a absorbância foi lida a 540 nm. Frutose foi utilizada como padrão e o teor de AR foi determinado em porcentagem de AR por massa fresca de folhas. O teor de açúcar não redutor (ANR) foi estimado pela diferença entre AST e AR, com resultados expressos em porcentagem de ANR por massa fresca de folhas.

2.4.3.5. Compostos fenólicos totais

O mesmo extrato usado para a análise de açúcares foi usado para compostos fenólicos. O ácido gálico foi usado como padrão para determinar o teor de fenólicos de acordo com Fu et al. (2010). A absorbância foi determinada por espectrofotômetro a 760 nm e o teor foi expresso em mg g⁻¹ de massa fresca.

2.4.3.6. Aminoácidos livres

O mesmo extrato usado para a análise de açúcares foi usado para aminoácidos livres usando-se o método descrito por Yemm e Cocking (1954). Glicina foi usada como padrão. A absorvância foi determinada em espectrofotômetro a 570 nm e o teor foi expresso em mM g^{-1} de massa fresca.

2.4.3.7. Peroxidação de lipídios

A peroxidação de lipídeos foi determinada através da quantificação do teor de malondialdeído (MDA). O teor de MDA foi determinado pelo método do ácido tiobarbitúrico descrito por Heath e Packer (1968). Uma amostra de folha (0,2 g) foi homogeneizada em 0,1% (p/v) de ácido tricloroacético (TCA) e centrifugada a 12.000 g por 15 min a 4 °C. Em seguida, 0,5 mL do sobrenadante foi misturado com 1,5 mL de 0,5% de ácido tiobarbitúrico (TBA) diluído em TCA 20% (p/v) e aquecido a 90 °C por 20 min. A absorvância foi medida em espectrofotômetro a 532 e 600 nm. O teor de MDA foi expresso em nmol g^{-1} de massa fresca.

2.4.3.8. Atividade enzimática do sistema antioxidante (CAT, POD e APX)

O extrato enzimático foi preparado homogeneizando 0,2 g de folha em 2 mL de tampão de extração contendo 100 mM de fosfato de potássio (pH 7,0), 0,1 mM de EDTA, 1 mM de fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) e 1% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVP). O homogenato foi centrifugado a 14.000 g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e utilizado para determinar as atividades da catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX).

A atividade de CAT foi determinada de acordo com Haver e McHale (1987). O tampão de reação continha fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) e H_2O_2 12,5 mM. A reação foi iniciada com a adição do extrato enzimático e a atividade determinada pela diminuição da absorvância a 240 nm por 1 min. A atividade de CAT foi expressa em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína. A atividade da POD foi quantificada de acordo com o método proposto por Kar e Mishra (1976). O tampão de reação foi preparado com fosfato de potássio 25 mM (pH 6,5), guaiacol 20 mM e H_2O_2 20 mM. A atividade foi determinada pelo aumento da absorvância a 470 nm e expressa em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

A atividade da APX foi medida de acordo com Nakano e Asada (1981). O meio reacional foi composto por fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), ácido ascórbico 0,25 mM e H_2O_2 0,3 mM. A atividade foi monitorada pela diminuição da absorvância a 290 nm por 1 min. A atividade da APX foi expressa em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína. O teor de proteína dos extratos

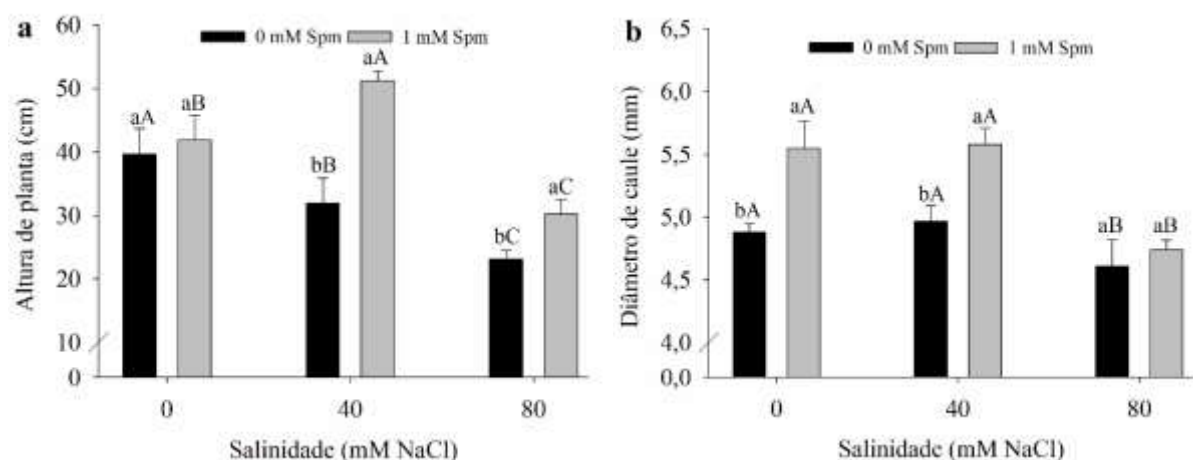
enzimáticos foi determinado de acordo com o método proposto por Bradford (1976). Albumina de soro bovino (BSA) foi a proteína utilizada para a curva padrão.

2.4.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e à comparação de médias pelo teste de Tukey por meio do pacote estatístico ExpDes (Ferreira et al., 2018). Uma análise de variáveis canônicas com elipses de confiança ($p \leq 0,01$) foi realizada para estudar a inter-relação entre variáveis e fatores usando o pacote candisc (Friendly e Fox, 2017). Os dois fatores foram combinados para realizar esta análise. A análise de correlação de Pearson foi realizada usando o pacote corrplot (Wei e Simko, 2017). O programa estatístico R (R Core Team, 2021) foi usado para realizar as análises estatísticas.

2.5. Resultados

A aplicação de espermina diminuiu os efeitos danosos do estresse salino moderado e aumentou a altura das plantas de *T. majus*. Assim como reduziu os impactos negativos do estresse salino moderado no diâmetro do caule, número de folhas e número de flores em comparação com plantas sem estresse e aplicação deste fitohormônio. A aplicação de espermina diminuiu os efeitos nocivos do estresse salino moderado no número de botões, massa seca do caule e massa seca da flor em comparação com plantas sem aplicação de espermina e sob estresse salino moderado. A espermina induz o crescimento de folhas e flores, tanto em plantas sem estresse quanto em plantas sob estresse salino moderado. O crescimento das plantas foi diminuído pelo estresse salino severo (Figura 1).



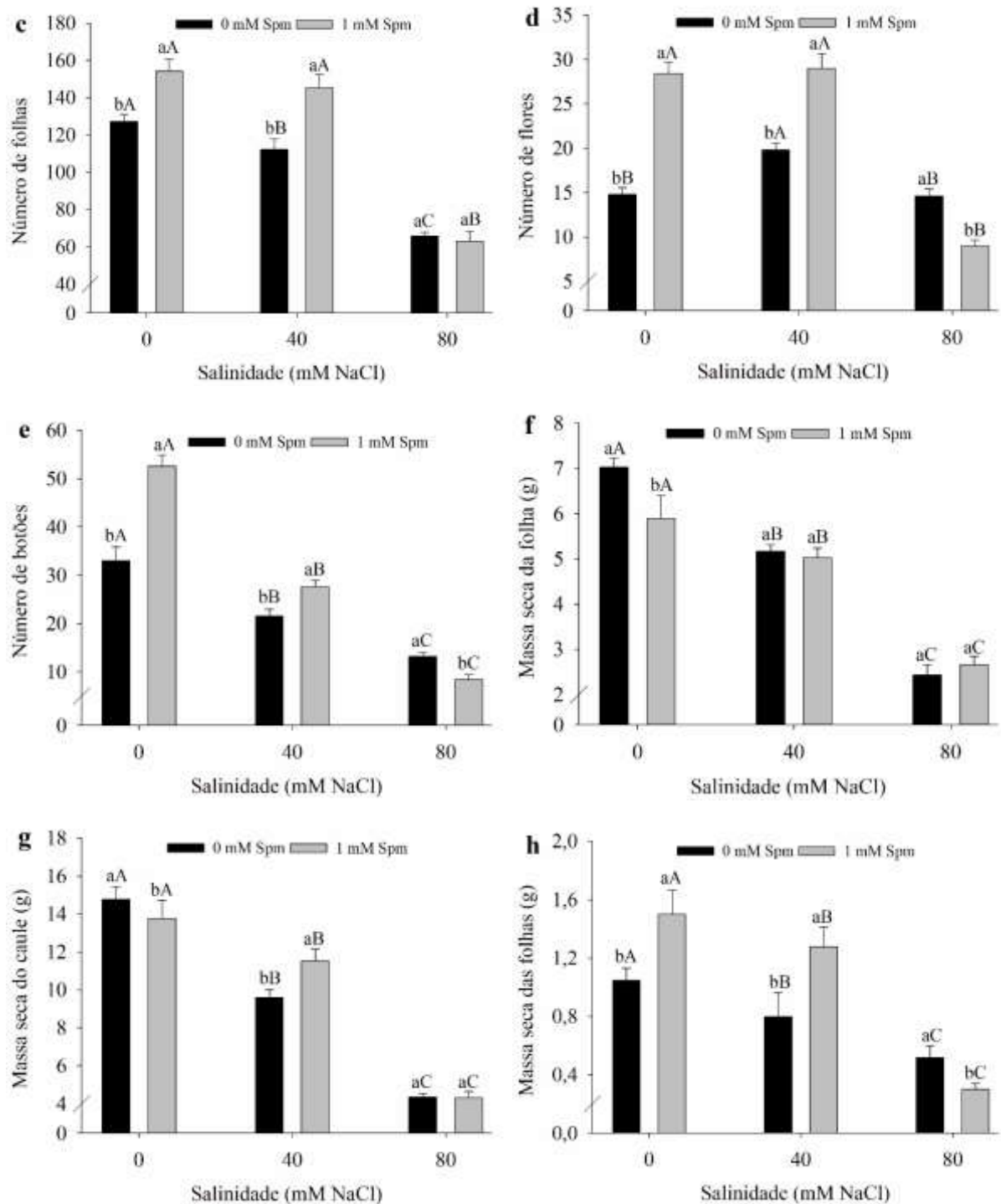


Figura 1. Altura de planta (a), diâmetro de caule (b), número de folhas (c), número de flores (d), número de botões (e), massa seca da folha (f), massa seca do caule (g) e massa seca de flores (h) de *Tropaeolum majus* sob estresse salino e aplicação de espermina. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem para espermina e mesmas letras maiúsculas não diferem para estresse salino pelo teste de Tukey a 5%. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 5).

A aplicação de espermina reduziu os efeitos nocivos do estresse salino moderado na condutância estomática (g_s) e na transpiração (E) de *T. majus*. A espermina não reduziu os efeitos danosos do estresse salino na fotossíntese líquida (A). O aumento do estresse salino diminuiu a g_s , A e E e aumentou a concentração de carbono interno (C_i). A aplicação de espermina diminuiu a eficiência do uso da água (EUA) das plantas sob todas as condições de estresse, incluindo plantas não estressadas. A aplicação de espermina diminuiu a g_s , A e E de plantas sob estresse salino severo (Figura 2).

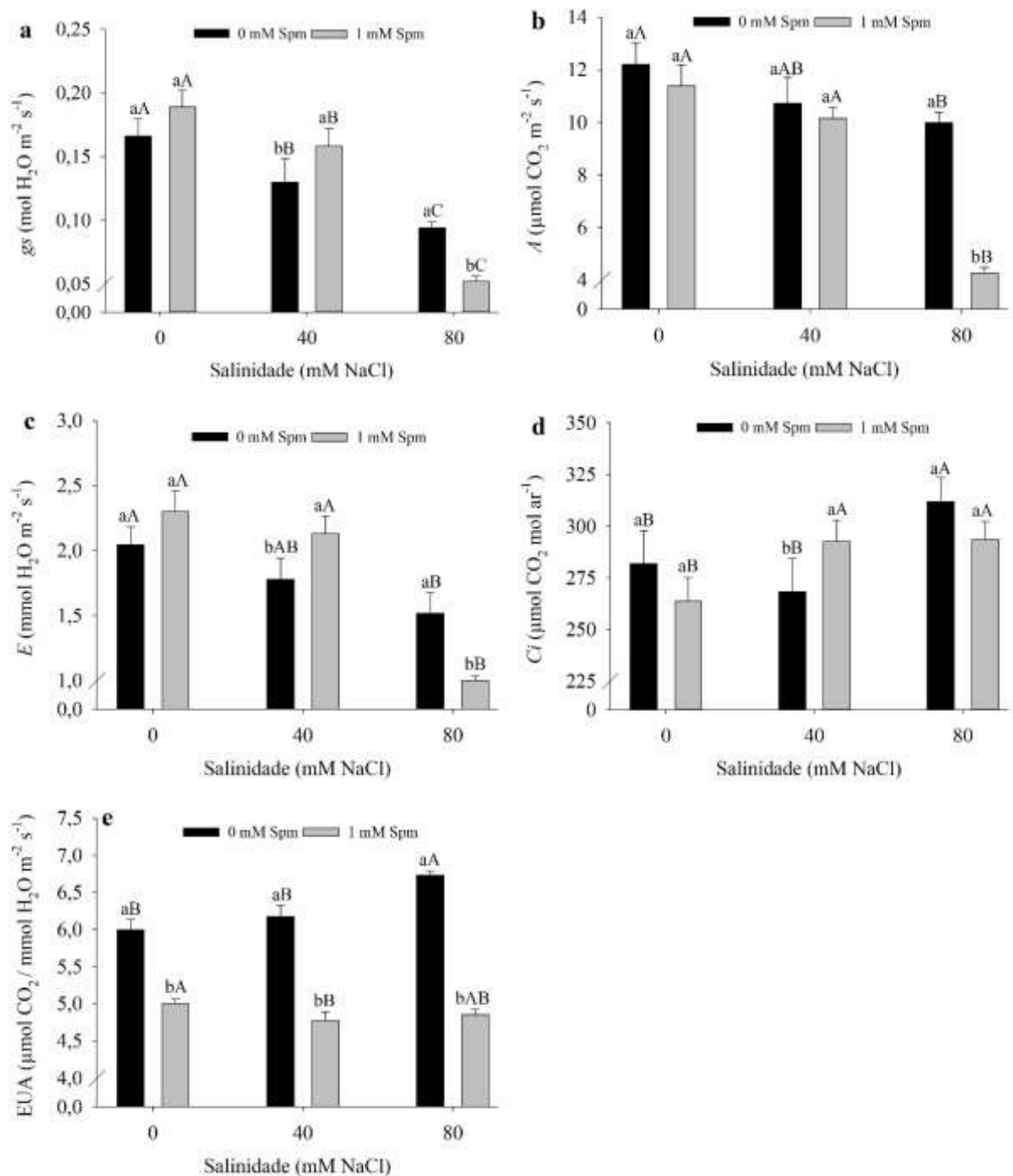
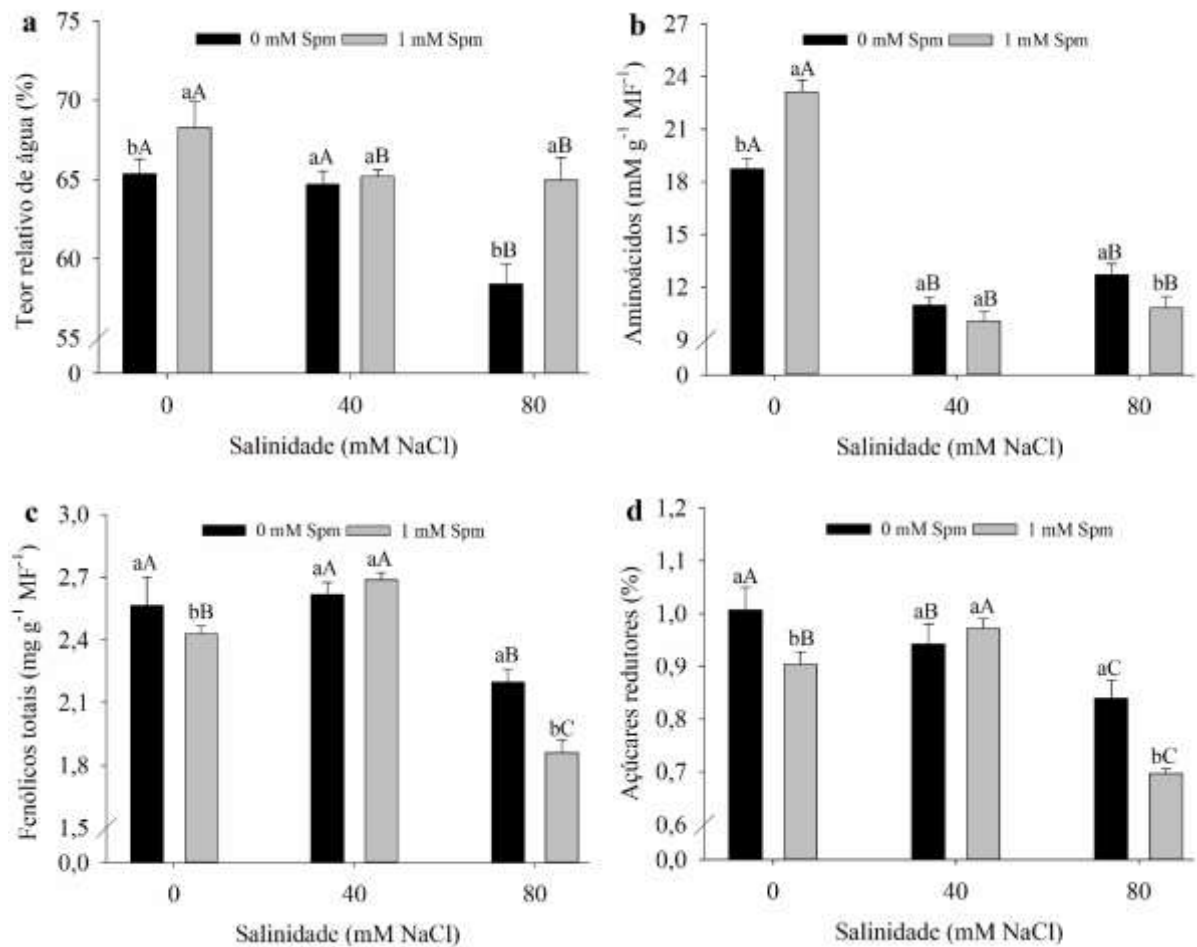


Figura 2. Condutância estomática (g_s – a), fotossíntese líquida (A – b), transpiração (E – c), concentração de carbono interno (C_i – d) e eficiência instantânea no uso da água (EUA – e) de *Tropaeolum majus* sob estresse salino e aplicação de espermina. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem para espermina e mesmas letras maiúsculas não diferem para estresse salino pelo teste de Tukey a 5%. Os valores são média \pm desvio padrão ($n = 5$).

A aplicação de espermina diminuiu os efeitos nocivos do estresse salino severo sobre o teor relativo de água de *T. majus*. A aplicação de espermina diminuiu o teor de compostos fenólicos totais, aminoácidos livres, açúcares redutores e açúcares não redutores em plantas sob estresse salino severo e plantas sem estresse. A espermina não teve efeito sobre o teor relativo de água, compostos fenólicos totais e açúcares redutores de plantas sob estresse salino moderado. O aumento do estresse salino diminuiu o teor de compostos fenólicos totais, açúcares redutores e açúcares não redutores (Figura 3).



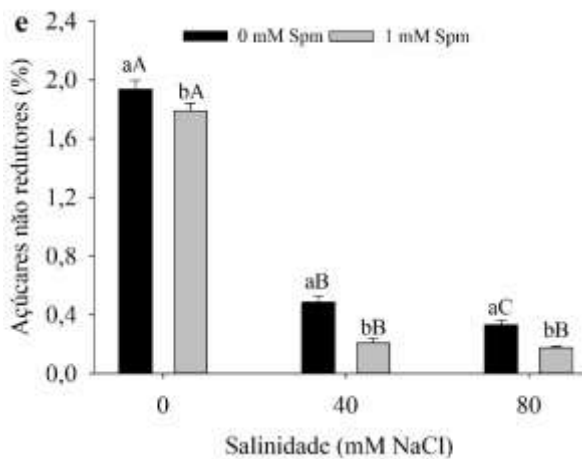
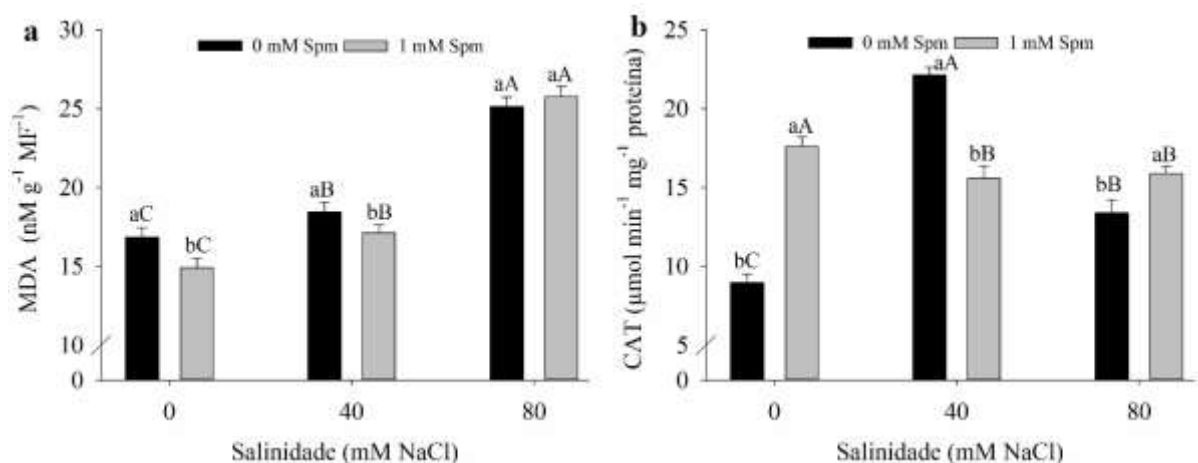


Figura 3. Teor relativo de água (a), teor de aminoácidos livres (b), compostos fenólicos totais (c), açúcares redutores (d) e açúcares não redutores (e) de *Tropaeolum majus* sob estresse salino e aplicação de espermina. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem para espermina e mesmas letras maiúsculas não diferem para estresse salino pelo teste de Tukey a 5%. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 5).

A aplicação de espermina diminuiu a peroxidação lipídica (MDA) de *T. majus* cultivada sob estresse salino moderado, mas não teve efeito nas plantas sob estresse salino severo. A aplicação de espermina aumentou a atividade de CAT e POD em plantas sob estresse salino severo e de POD e APX em plantas sob estresse salino moderado. A aplicação de espermina não foi capaz de aumentar a atividade de APX de plantas sob estresse salino severo, contudo aumentou a atividade da CAT em plantas não estressadas. O estresse salino moderado induziu a atividade de CAT e diminuiu a atividade de POD e APX (Figura 4).



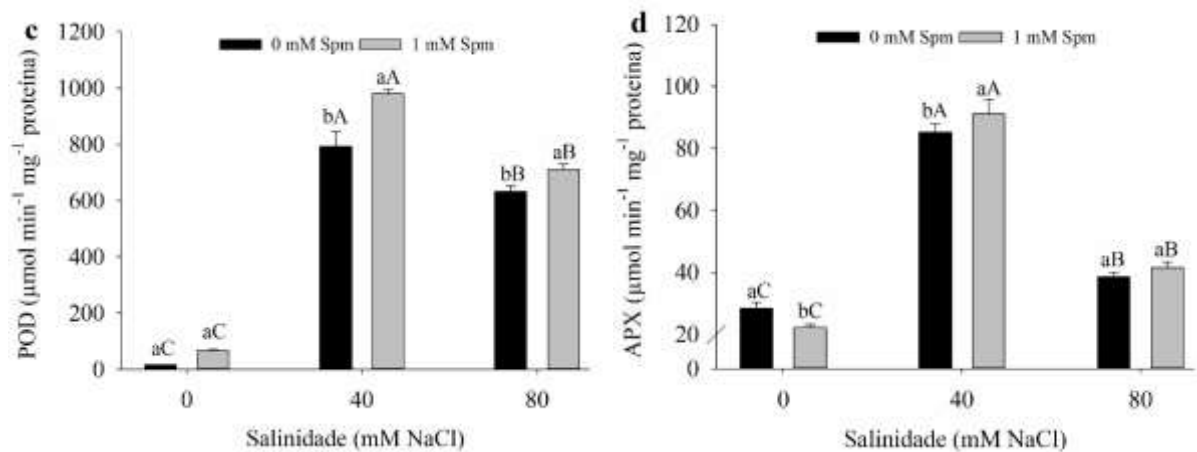
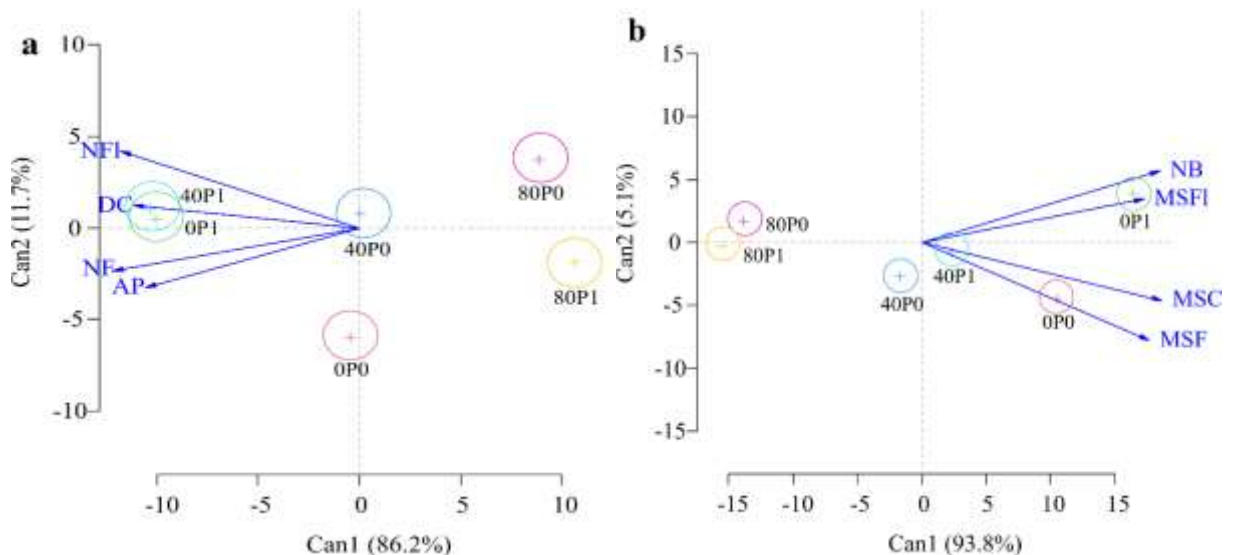


Figura 4. Peroxidação lipídica (MDA – a), atividade da catalase (CAT – b), atividade da peroxidase (POD – c) e atividade da ascorbato peroxidase (APX – d) de *Tropaeolum majus* sob estresse salino e aplicação de espermina. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem para espermina e mesmas letras maiúsculas não diferem para estresse salino pelo teste de Tukey a 5%. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 5).

A altura da planta (AP), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e número de flores (NFI) tiveram maiores valores com a aplicação de espermina em plantas não estressadas (0P1) e em plantas sob estresse moderado (40P1) (Figura 5a). Os resultados sugerem que a espermina atenua os efeitos nocivos do estresse salino moderado sobre essas variáveis. O número de botões (NB), massa seca de flores (MSFI), massa seca de caule (MSC) e massa seca de folhas (MSF) tiveram maiores valores em plantas sob aplicação de espermina e não estressadas; no entanto, as plantas cultivadas sob estresse moderado que receberam espermina tiveram maiores valores nessas variáveis do que plantas que não receberam esse fitohormônio (Figura 5b).



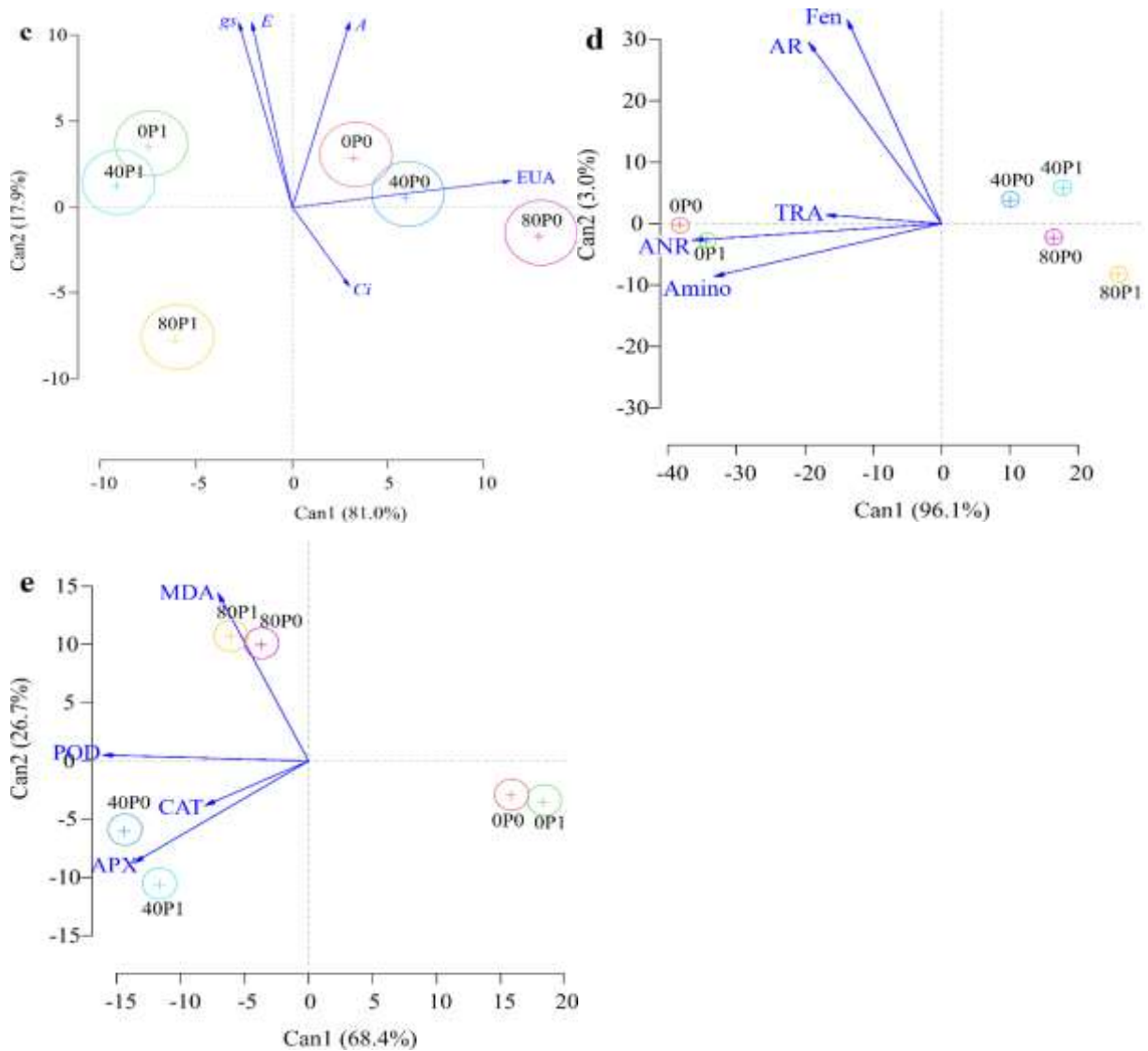


Figura 5. Análise de variáveis canônicas do crescimento (a e b), trocas gasosas (c) e bioquímica (d e e) de *Tropaeolum majus* sob estresse salino e aplicação de espermina. NF = número de folhas, AP = altura da planta, DC = diâmetro do caule, NFl = número de flores, NB = número de botões, MSFl = massa seca das flores, MSC = massa seca do caule, MSF = massa seca das folhas, Fen = compostos fenólicos, TRA = teor relativo de água, AR = açúcares redutores, ANR = açúcares não redutores, Amino = aminoácidos, MDA = malondialdeído, CAT = catalase, POD = peroxidase, APX = ascorbato peroxidase, P = espermina. 0P0 = plantas sem estresse e sem aplicação de espermina, 0P1 = plantas sem estresse e com aplicação de espermina, 40P0 = plantas com estresse moderado e sem aplicação de espermina, 40P1 = plantas com estresse moderado e com aplicação de espermina, 80P0 = plantas com estresse severo e sem aplicação de espermina, 80P1 = plantas com estresse severo e com aplicação de espermina. n = 5.

A *A* teve maior valor em plantas sem estresse salino e estresse moderado e aplicação de espermina (Figura 5c). Os teores de açúcares não redutores (ANR), aminoácidos (Amino) e teor

relativo de água (TRA) tiveram maiores valores em plantas não estressadas com e sem aplicação de espermina (Figura 5d). Os açúcares redutores (AR) e compostos fenólicos (Fen) tiveram maiores valores em plantas sob estresse salino moderado e aplicação de espermina. As atividades das enzimas POD e APX tiveram maiores valores em plantas sob estresse salino moderado e aplicação de espermina, e a atividade de CAT teve maior valor em plantas sob estresse salino moderado, mas sem espermina (Figura 5e). A peroxidação lipídica (MDA) teve maior valor em plantas sob estresse salino severo com e sem aplicação de espermina.

As trocas gasosas (*gs*, *A* e *E*), teores de açúcares (AR e ANR), aminoácidos (Ami), compostos fenólicos (Fen) e teor relativo de água (TRA) foram correlacionados positivamente com o crescimento (NF, NFl, NB, AP, DC, MSC, MSF e MSFl) de plantas de *T. majus* (Figura 6). A atividade de CAT e APX foi correlacionada positivamente com o número de flores (NFl) e diâmetro do caule (DC). As atividades das enzimas CAT, POD e APX foram correlacionadas positivamente. A peroxidação lipídica correlacionou-se negativamente com todas as variáveis, exceto com a concentração de carbono interno (*Ci*).

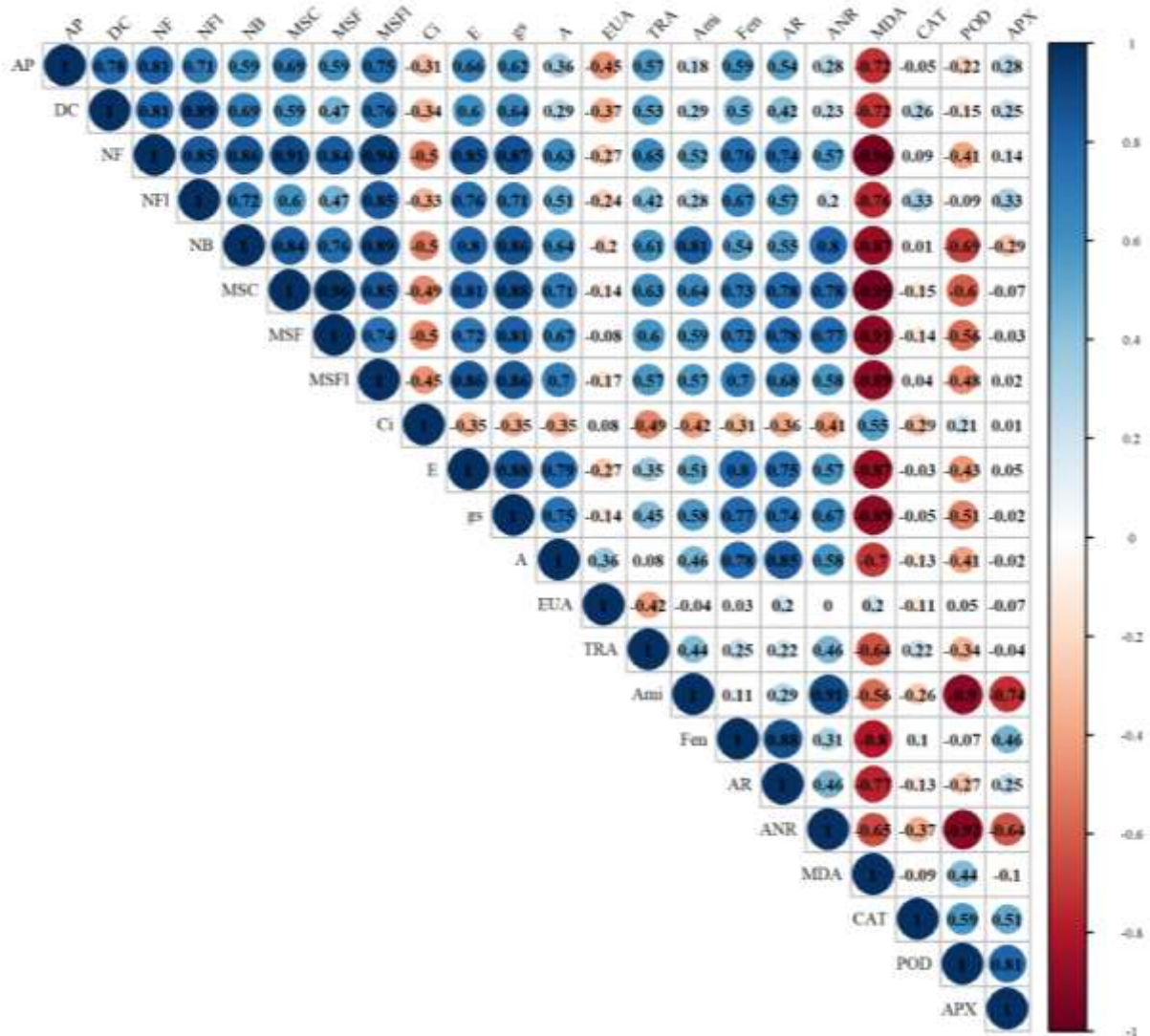


Figura 6. Correlação de Pearson entre crescimento, trocas gasosas e bioquímica de *Tropaeolum majus* sob estresse salino e aplicação de espermina. NF = número de folhas, AP = altura da planta, DC = diâmetro do caule, NFI = número de flores, NB = número de botões, MSFI = massa seca das flores, MSC = massa seca do caule, MSF = massa seca das folhas, Fen = compostos fenólicos, TRA = teor relativo de água, AR = açúcares redutores, ANR = açúcares não redutores, Amino = aminoácidos, MDA = malondialdeído, CAT = catalase, POD = peroxidase, APX = ascorbato peroxidase. n = 5.

2.6. Discussão

Os efeitos da aplicação de espermina no crescimento, alterações fisiológicas e bioquímicas de *T. majus* sob estresse salino ainda eram desconhecidos. Neste trabalho, foi relatado como a espermina mitiga os danos causados pelo estresse salino no crescimento, trocas gasosas e alterações bioquímicas desta planta.

No presente trabalho, a aplicação de espermina reduziu os efeitos nocivos do estresse salino moderado no crescimento de *T. majus*. Esse comportamento está relacionado ao papel das poliaminas no aumento da divisão celular, eficiência fotossintética e acúmulo de assimilados, além de manter o sistema antioxidante das plantas sob estresse salino (Baniyadi et al., 2018). Os resultados também mostraram que a espermina aumentou o número de folhas e flores de *T. majus* tanto sob estresse salino moderado quanto em plantas não estressadas. Isso pode estar relacionado à ação das poliaminas na diferenciação de gemas (Chen et al., 2019) e, conseqüentemente, no número de flores. O papel das poliaminas na regulação da floração tem sido estudado. Um fenótipo de floração prematura de *Arabidopsis thaliana* foi correlacionado com um aumento significativo nos teores de putrescina (Molesini et al., 2015). Os níveis de expressão de GtSPDS e GtSPMS aumentaram transitoriamente durante a fase de crescimento vegetativo para reprodutivo, e a superexpressão gênica acelerou o florescimento, sugerindo que esses genes estão envolvidos na indução da inflorescência em *Gentiana triflora* (Imamura et al., 2015). O estresse salino afetou negativamente o crescimento devido à diminuição da pressão de turgescência e do teor de água nos tecidos das plantas, levando a uma diminuição da taxa de crescimento (Chen et al., 2019; Paul e Roychoudhury, 2019).

A aplicação de espermina diminuiu os efeitos nocivos do estresse salino nas trocas gasosas de *T. majus*, uma vez que g_s e E foram maiores em plantas sob estresse salino moderado e aplicação de espermina e g_s , A e E foram maiores em plantas sob estresse salino severo e aplicação de espermina. A aplicação de espermina diminuiu a EUA das plantas sob todas as condições de estresse. Esse comportamento está relacionado aos efeitos positivos desse fitohormônio na eficiência fotossintética sob condições de estresse, devido às suas propriedades neutralizantes de ácidos e antioxidantes e estabilização de membrana e parede celular (Shu et al., 2013). A espermina diminuiu a g_s de plantas de *T. majus* sob estresse salino severo como forma de aumentar a tolerância ao déficit hídrico causado pelo aumento da salinidade para minimizar a perda de água para o ambiente (Dias et al., 2021). Esse fechamento estomático está relacionado a uma série de mecanismos de sinalização osmótica, que resultam no efluxo de íons das células-guarda, reduzindo seu turgor e volume, o que é sinalizado pelo aumento do teor de ácido abscísico (ABA) nas raízes devido à diminuição do potencial hídrico do solo causado pelo aumento da salinidade (Hsu et al., 2021). Um aumento no crescimento foi relatado em plantas sob estresse após a aplicação de fitohormônios devido ao seu impacto na fotossíntese (Ahanger et al., 2020).

O aumento do teor relativo de água de plantas de *T. majus* sob estresse salino severo e aplicação de espermina sugere que essas plantas sofreram menos estresse oxidativo em termos

de perda de água. Isso está relacionado à ação desse fitohormônio no potencial hídrico de plantas sob estresse (Tailor e Bhatla, 2021), regulando o transporte de membranas através do bloqueio de canais iônicos seletivos e não seletivos (Wu et al., 2020). A redução efetiva do potencial osmótico celular mantém o metabolismo das células vegetais e previne os danos de desidratação induzidos pelo déficit hídrico causado pelo excesso de sais, acumulando mais glicina betaína, açúcares solúveis e prolina (Jia et al., 2021). A aplicação de espermina diminuiu o teor de compostos fenólicos totais, aminoácidos livres, açúcares redutores e açúcares não redutores de plantas sob estresse salino severo, possivelmente devido à ação deste fitohormônio em melhorar a tolerância da planta ao estresse. A regulação desses osmólitos pode ser um mecanismo eficaz para aumentar a tolerância das plantas ao estresse hídrico induzido pelo acúmulo de sais na zona radicular, mantendo a água celular adequada para o metabolismo saudável (Alharby et al., 2021). O aumento do estresse salino diminuiu o conteúdo de compostos fenólicos totais, açúcares redutores e açúcares não redutores porque esses compostos são uma via não enzimática para a eliminação de EROs e regulação do potencial osmótico (Abdallah et al., 2016).

A peroxidação lipídica determinada a partir do teor de malondialdeído (MDA) é um indicador de alterações bioquímicas relacionadas ao estresse em plantas (Shah et al., 2021). A espermina diminuiu o teor de MDA em *T. majus* sob estresse salino moderado devido ao papel deste fitohormônio em regular o sistema antioxidante e aliviar o estresse oxidativo através da eliminação de EROs (Ikbal et al., 2014; Nahar et al., 2016) que causam peroxidação. Além disso, esse comportamento pode estar associado ao papel das poliaminas na interação com grupos funcionais aniônicos de membranas e proteínas, além de influenciar na estabilidade e permeabilidade das membranas celulares ao formar ligações eletrostáticas com grupos de cabeças fosfolipídicas (Sharma et al., 2021).

A exposição à salinidade aumenta a produção de EROs nas células vegetais (Pan et al., 2021). As enzimas do sistema antioxidante são uma das estratégias que as plantas utilizam para eliminar as EROs. Neste estudo, a aplicação de espermina aumentou a atividade de CAT e POD em plantas sob estresse salino severo e POD e APX em plantas sob estresse salino moderado. Esse comportamento está associado à ação das poliaminas em estimular a atividade de enzimas antioxidantes para reduzir os efeitos nocivos do estresse salino na planta. Além disso, as poliaminas formam complexos com SOD, GPX e CAT que fazem com que essas enzimas funcionem de forma mais eficiente, em comparação com enzimas isoladas (Li et al., 2014), o que pode favorecer a mitigação dos efeitos nocivos do estresse. A espermina tem sido sugerida como uma molécula sinalizadora que pode ativar enzimas antioxidantes (Mitsuya et al., 2009).

As poliaminas regulam positivamente a ativação do sistema antioxidante da capuchinha sob estresse salino. O mecanismo envolvido pode ser devido a esse fitohormônio ter papel na modulação da homeostase das EROs, inibindo a auto-oxidação de metais, como Fe^{2+} e Cu^{2+} , que ao prejudicar o fornecimento de elétrons para a geração de EROs, atuam diretamente como antioxidantes e eliminação de EROs (Liu et al., 2015). Além disso, esse comportamento está relacionado ao papel das poliaminas na regulação dos sistemas antioxidantes, juntamente com mudanças na produção de EROs e no status redox (Tanou et al., 2014). Estresses osmóticos e iônicos causados pelo estresse salino podem causar estresses secundários nas plantas, incluindo o acúmulo de compostos tóxicos como EROs (radicais hidroxila, peróxido de hidrogênio e ânions superóxido) que se acumulam nas células vegetais (Yang e Guo, 2018). A aplicação de espermidina promoveu a atividade de enzimas antioxidantes na restauração da integridade do aparelho fotossintético em folha de *Carya illinoensis* (Wu et al., 2020).

Através da análise de variáveis canônicas foi observado que a espermina aumenta o crescimento e número de flores de *T. majus*. Esse comportamento está relacionado ao papel desse fitohormônio na divisão celular, proliferação e diferenciação celular e desenvolvimento morfológico (Zhang et al., 2014; Jia et al., 2021). As trocas gasosas também tiveram uma alta relação com plantas que receberam espermina. Esse comportamento está associado ao papel das poliaminas na manutenção do desempenho fotossintético, promovendo a atividade da RuBisCO e reduzindo o acúmulo de carboidratos para aumentar a taxa fotossintética, além de atuar diretamente nos tilacóides dos cloroplastos (Qian et al., 2021), permitindo que as plantas se aclimatem melhor ao estresse salino. Além disso, os teores de açúcares redutores e compostos fenólicos e a atividade de POD e APX foram mais relacionados às plantas sob aplicação de espermina, devido à ação deste fitohormônio na regulação da homeostase das EROs e ativação da maquinaria de enzimas antioxidantes, além da eliminação de EROs (Liu et al. 2019; Islam et al. 2020), facilitando assim a aclimatação ao estresse. A aplicação de espermidina aumentou a atividade de CAT, SOD e POD de *Gladiolus gandavensis* sob estresse salino (Qian et al., 2021).

A correlação positiva entre as trocas gasosas, açúcares, aminoácidos, compostos fenólicos e teor relativo de água com o crescimento de *T. majus* está relacionado ao fato de que os osmoprotetores desempenham um papel vital na melhora da hiperosmolaridade causada pelo estresse salino e no estabelecimento de condições homeostáticas iônicas celulares (Saleem et al., 2021), melhorando as trocas gasosas e conseqüentemente o crescimento das plantas. O aumento no teor de MDA diminuiu todas as variáveis devido aos danos causados pelas EROs decorrentes do aumento do estresse salino. A correlação positiva entre a atividade enzimática

pode estar relacionada ao fato de POD e CAT atuarem na decomposição de H₂O₂ em H₂O (Shah et al., 2021). A espermina diminui o conteúdo de MDA sob estresse salino, estimulando, possivelmente, a síntese de proteínas ou a ativação de hormônios naturais para manter a integridade da membrana (Qian et al., 2021).

2.7. Conclusão

A aplicação de espermina diminuiu os efeitos nocivos do estresse salino no crescimento e nas trocas gasosas e aumentou o número de flores de *T. majus*. Além disso, aumentou o teor relativo de água de *T. majus* sob estresse salino severo. A espermina reduziu os teores de compostos fenólicos totais, aminoácidos livres (em plantas sob estresse severo), açúcares redutores e açúcares não redutores. A espermina aumentou a atividade de CAT e POD em plantas sob estresse salino severo, e POD e APX em plantas sob estresse salino moderado. A aplicação de 1 mM de espermina pode ser usada para mitigar os efeitos danosos do estresse salino em *T. majus*.

2.8. Referências

- Abdallah, S.B., Aung, B., Amyot, L., Lalin, I., Lachaal, M., Karray-Bouraoui, N., & Hannoufiam A. (2016). Salt stress (NaCl) affects plant growth and branch pathways of carotenoid and flavonoid biosyntheses in *Solanum nigrum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1–13. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2096-8>
- Ahanger, M. A., Aziz, U., Alsahli, A., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2020). Combined kinetin and spermidine treatments ameliorate growth and photosynthetic inhibition in *Vigna angularis* by up-regulating antioxidant and nitrogen metabolism under cadmium stress. *Biomolecules*, 10(1), 147. <https://doi.org/10.3390/biom10010147>
- Ahanger, M. A., Tomar, N. S., Tittal, M., Argal, S., & Agarwal, R. M. (2017). Plant growth under water/salt stress: ROS production; antioxidants and significance of added potassium under such conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(4), 731–744. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0462-7>
- Alharby, H. F., Al-Zahrani, H. S., Alzahrani, Y. M., Alsamadany, H., Hakeem, K. R., & Rady, M. M. (2021). Maize grain extract enriched with polyamines alleviates drought stress in *Triticum aestivum* through up-regulation of the ascorbate-glutathione cycle, glyoxalase system, and polyamine gene expression. *Agronomy*, 11, 949. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050949>

- Ali, M., Afzal, A., Parveen, A., Kamran, M., Javed, M. R., Abbasi, G. H., Malik, Z., Riaz, M., Ahmad, S., Chattha, M. S., Ali, M., Ali, Q., Uddin, M. Z., Rizwan, M., & Ali, S. (2021). Silicon mediated improvement in the growth and ion homeostasis by decreasing Na⁺ uptake in maize (*Zea mays* L.) cultivars exposed to salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158, 208–218. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.10.040>
- Almeida, D. M., Oliveira, M. M., & Saibo, N. J. (2017). Regulation of Na⁺ and K⁺ homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants. *Genetics and Molecular Biology*, 40, 326–345. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0106>
- Baniasadi, F., Saffari, V. R., & Moud, A. A. M. (2018). Physiological and growth responses of *Calendula officinalis* L. plants to the interaction effects of polyamines and salt stress. *Scientia Horticulturae*, 234, 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.069>
- Bazylko, A., Granica, S., Filipek, A., Piwowarski, J., Stefańska, J., Osińska, E., & Kiss, A. K. (2013). Comparison of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of *Tropaeolum majus* L. *Industrial Crops and Products*, 50, 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.003>
- Bloem, E., Haneklaus, S., Kleinwächter, M., Paulsen, J., Schnug, E., & Selmar, D. (2014). Stress-induced changes of bioactive compounds in *Tropaeolum majus* L. *Industrial Crops and Products*, 60, 349–359. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.040>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chen, D., Shao, Q., Yin, L., Younis, A., & Zheng, B. (2019). Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1945. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01945>
- Das, P., Manna, I., Sil, P., Bandyopadhyay, M., & Biswas, A. K. (2021). Silicon augments salt tolerance through modulation of polyamine and GABA metabolism in two indica rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.030>
- Dias, A. S., Lima, G. S. D., Gheyi, H. R., Melo, A. S. D., Silva, P. C. C., Soares, L. A. D. A., Paiva, F. J. S., & Silva, S. S. D. (2021). Effect of combined potassium-phosphorus fertilization on gas exchange, antioxidant activity and fruit production of West Indian

- cherry under salt stress. *Arid Land Research and Management*, 35, 1–18. <https://doi.org/10.1080/15324982.2021.1959464>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Biochemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Fang, W., Qi, F., Yin, Y., & Yang, Z. (2020). Exogenous spermidine promotes γ -aminobutyric acid accumulation and alleviates the negative effect of NaCl stress in germinating soybean (*Glycine max* L.). *Foods*, 9, 267. <https://doi.org/10.3390/foods9030267>
- Fu, L., Xu, B.T., Xu, X.R., Qin, X.S., Gan, R.Y., & Li, H.B. (2010). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 wild fruits from South China. *Molecules*, 15, 8602–8617. <https://doi.org/10.3390/molecules15128602>
- Girardi, L.B., Peiter, M.X., Bellé, R.A., Robaina, A.D., Torres, R.R., Kirchner, J.H., & Ben, L.H.B. (2016). Evapotranspiration and crop coefficients of potted *Alstroemeria* × *Hybrida* grown in greenhouse. *Irriga*, 21(4), 817–829. <https://doi.org/10.15809/irriga.2016v21n4p817-829>
- Gonçalves, M., Rodrigues-Jasso, M. R., Gomes, N., Teixeira, J. A., & Belo, I. (2010). Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microliter plates. *Analytical Methods*, 2(12), 2046–2048. <https://doi.org/10.1039/c0ay00525h>
- Havir, E.A., & McHale, N.A. (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 84, 450–455. <https://doi.org/10.1104/pp.84.2.450>
- He, M., He, C.Q., & Ding, N.Z. (2018.) Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1771. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01771>
- Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics*, 125, 189–198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Hsu, P. K., Dubeaux, G., Takahashi, Y., & Schroeder, J.I. (2021). Signaling mechanisms in abscisic acid-mediated stomatal closure. *The Plant Journal*, 105(2), 307–321. <https://doi.org/10.1111/tpj.15067>
- Ibrahim, E.A. (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*, 192, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011>
- Ikbāl, F.E., Hernández, J.A., Barba-Espín, G., Koussa, T., Aziz, A., Faize, M., & Diaz-Vivancos, P. (2014). Enhanced salt-induced antioxidative responses involve a

- contribution of polyamine biosynthesis in grapevine plants. *Journal of Plant Physiology*, 171, 779–788. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.02.006>
- Imamura, T., Fujita, K., Tasaki, K., Higuchi, A., & Takahashi, H. (2015). Characterization of spermidine synthase and spermine synthase—The polyamine-synthetic enzymes that induce early flowering in *Gentiana triflora*. *Bioch. Biochemical and Biophysical Research Communications*, 463(4), 781–786. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.013>
- Islam, M.A., Pang, J.H., Meng, F.W., Li, Y.W., Ning, X.U., Chao, Y.A.N.G., & Jun, L.I.U. (2020). Putrescine, spermidine, and spermine play distinct roles in rice salt tolerance. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(3), 643–655. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62705-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62705-X)
- Jankovska-Bortkevič, E., Gavelienė, V., Šveikauskas, V., Mockevičiūtė, R., Jankauskienė, J., Todorova, D., Sergiev, I., & Jurkonienė, S. (2020). Foliar application of polyamines modulates winter oilseed rape responses to increasing cold. *Plants*, 9, 179. <https://doi.org/10.3390/plants9020179>
- Jia, T., Hou, J., Iqbal, M. Z., Zhang, Y., Cheng, B., Feng, H., Li, Z., Liu, L., Zhou, J., Feng, G., Nie, G., Ma, X., Liu, W., & Peng, Y. (2021). Overexpression of the white clover TrSAMDC1 gene enhanced salt and drought resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 165, 147–160. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.018>
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315–319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Koike, A., Barreira, J.C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Villavicencio, A.L., & Ferreira, I. C. (2015). Irradiation as a novel approach to improve quality of *Tropaeolum majus* L. flowers: Benefits in phenolic profiles and antioxidant activity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30, 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.009>
- Li, X., Gong, B., & Xu, K. (2014). Interaction of nitric oxide and polyamines involves antioxidants and physiological strategies against chilling-induced oxidative damage in *Zingiber officinale* Roscoe. *Scientia Horticulturae*, 170, 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.03.026>
- Liu, J. H., Wang, W., Wu, H., Gong, X., & Moriguchi, T. (2015). Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. *Frontiers in Plant Science*, 6, 827. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.0087>
- Liu, Q., Arnold, R.J., Yang, S.Z., Wu, J.Y., Li, Z.H., Li, Y., & Cheng, Y. (2019). Foliar application of exogenous polyamines to ameliorate drought-induced oxidative damage

- and physiological inhibition in *Toona ciliata* seedlings. *Australian Forestry*, 82(3), 139–150. <https://doi.org/10.1080/00049158.2019.1636349>
- Marco, F., Busó, E., Lafuente, T., & Carrasco, P. (2019). Spermine confers stress resilience by modulating abscisic acid biosynthesis and stress responses in *Arabidopsis* plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, 972. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00972>
- Melo, A.C., Costa, S.C.A., Castro, A.F., Souza, A.N.V., Sato, S.W., Lívero, F.A.R., Lourenço, E.L.B., Baretta, I.P., & Lovato, E.C.W. (2018). Hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* promotes anxiolytic effects on rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28(5), 589–593. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.006>
- Mitsuya, Y., Takahashi, Y., Berberich, T., Miyazaki, A., Matsumura, H., Takahashi, H., Terauchi, R., Kusano, T. (2009). Spermine signaling plays a significant role in the defense response of *Arabidopsis thaliana* to cucumber mosaic virus. *Journal of Plant Physiology*, 166(6), 626–643. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.08.006>
- Molesini, B., Mennella, G., Martini, F., Francese, G., & Pandolfini, T. (2015). Involvement of the putative N-acetylornithine deacetylase from *Arabidopsis thaliana* in flowering and fruit development. *Plant and Cell Physiology*, 56(6), 1084–1096. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv030>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., Rahman, A., Mahmud, J. A., Suzuki, T., & Fujita, M. (2017). Insights into spermine-induced combined high temperature and drought tolerance in mung bean: osmoregulation and roles of antioxidant and glyoxalase system. *Protoplasma*, 254(1), 445–460. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-0965-z>
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Rahman, A., Alam, M.M., Mahmud, J.A., Suzuki, T., & Fujita, M. (2016). Polyamines confer salt tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) by reducing sodium uptake, improving nutrient homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification systems. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1104. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01104>
- Nxele, X., Klein, A., & Ndimba, B.K. (2017). Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. *South African Journal of Botany*, 108, 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.11.003>
- Pan, T., Liu, M., Kreslavski, V. D., Zharmukhamedov, S. K., Nie, C., Yu, M., Yu, M., Kuznetsov, V. V., Allakhverdiev, S. I., & Shabala, S. (2021). Non-stomatal limitation of

- photosynthesis by soil salinity. *Reviews in Environmental Science and Technology*, 51(8), 791–825. <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1735231>
- Paul, S., & Roychoudhury, A. (2017). Seed priming with spermine and spermidine regulates the expression of diverse groups of abiotic stress-responsive genes during salinity stress in the seedlings of indica rice varieties. *Plant Gene*, 11, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.04.004>
- Paul, S., & Roychoudhury, A. (2019). Transcript analysis of abscisic acid-inducible genes in response to different abiotic disturbances in two indica rice varieties. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 31(1), 249–272. <https://doi.org/10.1007/s40626-018-0131-4>
- Pegg, A.E. (2016). Functions of polyamines in mammals. *Journal of Biological Chemistry*, 291(29), 14904–14912. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.731661>
- Qian, R., Ma, X., Zhang, X., Hu, Q., Liu, H., & Zheng, J. (2021). Effect of exogenous spermidine on osmotic adjustment, antioxidant enzymes activity, and gene expression of *Gladiolus gandavensis* seedlings under salt stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40, 1353–1367. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10198-x>
- Saleem, S., Mushtaq, N.U., Shah, W.H., Rasool, A., Hakeem, K.R., & Rehman, R.U. (2021). Morpho-physiological, biochemical and molecular adaptation of millets to abiotic stresses: a review. *Phyton*, 90(5), 1363. <https://doi.org/10.32604/phyton.2021.014826>
- Shah, A.A., Yasin, N.A., Ahmed, S., Abbas, M., & Abbasi, G.H. (2021). 4-Hydroxymelatonin alleviates nickel stress, improves physiochemical traits of *Solanum melongena*: Regulation of polyamine metabolism and antioxidative enzyme. *Scientia Horticulturae*, 282, 110036. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110036>
- Sharma, K., Gupta, S., Thokchom, S.D., Jangir, P., & Kapoor, R. (2021). Arbuscular mycorrhiza-mediated regulation of polyamines and aquaporins during abiotic stress: deep insights on the recondite players. *Frontiers in Plant Science*, 12, 1072. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.642101>
- Shu, S., Yuan, L.Y., Guo, S.R., Sun, J., & Yuan, Y.H. (2013). Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 63, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.11.028>
- Tailor, A., & Bhatla, S.C. (2021). Polyamine homeostasis modulates plasma membrane- and tonoplast-associated aquaporin expression in etiolated salt-stressed sunflower

- (*Helianthus annuus* L.) seedlings. *Protoplasma*, 258(3), 661–672. <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01589-8>
- Tanou, G., Ziogas, V., Belghazi, M., Christou, A., Filippou, P., Job, D., Fotopoulos, V., Molassiotis, A. (2014). Polyamines reprogram oxidative and nitrosative status and the proteome of citrus plants exposed to salinity stress. *Plant, Cell & Environment*, 37(4), 864–885. <https://doi.org/10.1111/pce.12204>
- Wu, Z., Wang, J., Yan, D., Yuan, H., Wang, Y., He, Y., Wang, X., Li, Z., Mei, J., Hu, M., Zhou, T., Chong, S., & Zheng, B. (2020). Exogenous spermidine improves salt tolerance of pecan-grafted seedlings via activating antioxidant system and inhibiting the enhancement of Na⁺/K⁺ ratio. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(5), 83. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03066-4>
- Yang, Y., & Guo, Y. (2018). Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. *New Phytologist*, 217(2), 523–539. <https://doi.org/10.1111/nph.14920>
- Yemm, E.W., Cocking, E.C., & Ricketts, R.E. (1955). The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst*, 80(948), 209–214.
- Zhang, G.W., Xu, S. C., Hu, Q. Z., Mao, W.H., & Gong, Y.M. (2014). Putrescine plays a positive role in salt-tolerance mechanisms by reducing oxidative damage in roots of vegetable soybean. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(2), 349–357. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60405-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60405-0)

Artigo II**ESPERMINA REDUZ OS EFEITOS PREJUDICIAIS DO DÉFICIT HÍDRICO EM
*Tropaeolum majus***

**Artigo publicado na Revista Scientia Horticulturae
(Com ajustes após considerações da banca de avaliação)**

Silva, T. I., Dias, M. G., Araújo, N. O., Santos, M. N. S., Ribeiro, W. S., Santos Filho, F. B., Dias, T. J., Barbosa, J. G., & Grossi, J. A. S. (2022). Spermine reduces the harmful effects of drought stress in *Tropaeolum majus*. *Scientia Horticulturae*, 304, 111339. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111339>

ESPERMINA REDUZ OS EFEITOS PREJUDICIAIS DO DÉFICIT HÍDRICO EM *Tropaeolum majus*

Resumo

O déficit hídrico é uma das principais causas da baixa produtividade das culturas devido aos distúrbios no crescimento, fisiologia e processos bioquímicos das plantas. A aplicação de espermina é uma alternativa para mitigar os efeitos nocivos desse estresse em plantas. A capuchinha (*Tropaeolum majus* L.) é uma planta ornamental, medicinal e comestível cultivada e consumida em diversos países. Esta planta possui propriedades medicinais (entre elas a presença de glicosinolatos e compostos fenólicos), além de ser apreciada na culinária. Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos da aplicação de espermina no crescimento, trocas gasosas e metabolismo antioxidante de *T. majus* cultivada sob déficit hídrico. Um experimento distribuído em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com 30 (déficit hídrico severo), 50 (deficit hídrico moderado) e 80% da capacidade de retenção de vaso (sem estresse) e 0 e 1 mM de espermina com cinco repetições foi usado. O crescimento (diâmetro do caule, número de folhas, número de flores, número de botões, massa seca total e área foliar), trocas gasosas (g_s , A , E e C_i), teor relativo de água, aminoácidos livres, compostos fenólicos, açúcares redutores e não redutores, peroxidação lipídica e atividade enzimática (CAT, POD e APX) foram avaliados. A espermina reduziu os efeitos nocivos do déficit hídrico severo sobre o teor relativo de água, açúcares redutores e açúcares não redutores. A espermina reduziu os efeitos nocivos do déficit hídrico moderado sobre o teor relativo de água, aminoácidos, açúcares redutores e açúcares não redutores. A aplicação de espermina diminuiu a peroxidação lipídica (MDA) de *T. majus* sob déficit hídrico severo e moderado e em plantas sem estresse. A espermina aumentou a atividade de POD e APX em plantas sob déficit hídrico severo e de CAT, POD e APX em plantas sob déficit hídrico moderado. A aplicação de espermina aumenta a tolerância à seca de *T. majus*, aumentando o crescimento, trocas gasosas, teor relativo de água, aminoácidos, açúcares redutores e não redutores, enzimas CAT, POD e APX e diminuindo a peroxidação lipídica. Com isso, a aplicação de 1 mM de espermina pode ser recomendada para mitigar os efeitos nocivos do déficit hídrico em *T. majus*.

Palavras-chave: seca, poliamina, troca gasosa, crescimento, capuchinha

SPERMINE REDUCES THE HARMFUL EFFECTS OF DROUGHT STRESS IN *Tropaeolum majus*

Abstract

Drought stress is one of the main causes of low crop productivity due to disturbances in plant growth, physiology and biochemical processes. Spermine application is an alternative to mitigate the harmful effects of this stress on plants. Nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) is an ornamental, medicinal and edible plant cultivated and consumed in several countries. This plant has medicinal properties (among them the presence of glucosinolates and phenolic compounds), in addition to being appreciated in cooking. Thus, the objective was to evaluate the effects of spermine application on growth, gas exchange and antioxidant metabolism of *T. majus* grown under drought stress. An experiment distributed in a completely randomized design, in a 3x2 factorial scheme, with 30 (severe drought stress), 50 (moderate drought stress), and 80% pot holding capacity (no stress) and 0 and 1 mM spermine with five replications was used. Growth (stem diameter, number of leaves, number of flowers, number of buds, total dry mass and leaf area), gas exchange (g_s , A , E and C_i), relative water content, free amino acids, phenolic compounds, reducing and non-reducing sugars, lipid peroxidation and enzymatic activity (CAT, POD and APX) were evaluated. Spermine reduced the harmful effects of severe drought stress on the relative water content, reducing sugars and non-reducing sugars. Spermine reduced the harmful effects of moderate drought stress on the relative water content, amino acids, reducing sugars and non-reducing sugars. Spermine application decreased lipid peroxidation (MDA) of *T. majus* under severe and moderate drought stress and in plants without stress. Spermine increased the activity of POD and APX in plants under severe drought stress and of CAT, POD and APX in plants under moderate drought stress. Spermine application increases the drought tolerance of *T. majus* by increasing the growth, gas exchange, relative water content, amino acids, reducing and non-reducing sugars, CAT, POD and APX enzymes, and decreasing lipid peroxidation. Therefore, the application of 1 mM of spermine can be used to mitigate the harmful effects of drought stress in *T. majus*.

Keywords: drought, polyamine, gas exchange, growth, nasturtium

3.3. Introdução

A intensidade do estresse por seca pode variar de moderada e curta a extremamente severa e prolongada, restringindo a produtividade das culturas. Prevê-se que a seca cause sérios problemas ao crescimento das plantas em mais de 50% das terras aráveis do mundo até 2050 (Vurukonda et al., 2016). Em muitas partes do mundo, a água de irrigação tem sido explorada e usada em excesso, e a escassez de água doce está se tornando crítica em áreas áridas e

semiáridas (Chai et al., 2016). O estresse por seca, como consequência de chuvas insuficientes ou umidade deficiente do solo, pode induzir várias respostas bioquímicas, fisiológicas e genéticas nas plantas, restringindo severamente o crescimento das culturas (Zhou et al., 2017). As respostas das plantas ao déficit hídrico podem envolver vias metabólicas, como fotossíntese, síntese de açúcares, ciclo do ácido tricarboxílico, glicólise e síntese de hormônios (Guo et al., 2018). A eficiência fotossintética das plantas é afetada negativamente pelo déficit hídrico através da interferência na taxa de fluxo de elétrons do fotossistema II (PSII) e inibição da transferência de elétrons para o fotossistema I (PSI) (Dąbrowski et al., 2019). O déficit hídrico reduz a taxa de fotossíntese e altera a distribuição e metabolismo do carbono na planta, levando ao esgotamento de energia e diminuição da produção (Dąbrowski et al., 2019; Du et al., 2020). A fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e concentração de carbono interno (C_i) são importantes indicadores da fotossíntese (Yang et al., 2022).

As plantas podem ser preparadas para tolerar melhor as condições de estresse abiótico por meio da aplicação exógena de alguns compostos, como macro e micronutrientes, ácidos húmicos e fitohormônios, como as poliaminas (Ebeed et al., 2017). As poliaminas são compostos nitrogenados policatiônicos de baixo peso molecular onipresentes nos organismos vivos, sendo a putrescina (Put), a espermidina (Spd) e a espermina (Spm) as principais poliaminas (Liu et al., 2015). As poliaminas são frequentemente consideradas uma nova classe de reguladores de crescimento de plantas devido às suas múltiplas funções bioquímicas e fisiológicas relacionadas ao crescimento das plantas, desenvolvimento e respostas aos estresses abióticos (Sobieszczuk-Nowicka e Legocka, 2014). A espermina está envolvida no desenvolvimento do caule e da raiz, indução floral, frutificação, senescência foliar, síntese de DNA, equilíbrio osmótico, proteção da clorofila, transcrição gênica e tradução de proteínas (Tiburcio et al., 2014). Além disso, esse fitohormônio está envolvido em respostas a estresses ambientais, como os causados pela seca (Dawood e Abeer, 2020).

A capuchinha (*Tropaeolum majus* L. - Tropaeolaceae) é uma planta comestível, ornamental e medicinal com flores vistosas (Melo et al., 2018) cultivada principalmente na América do Sul e em todo o mundo. Esta planta é rica em diversos compostos bioativos, como flavonóides (quercetina e isoquercetina), ácidos graxos (oleico e linoleico), vitamina C e tiocianatos (Valsalam et al., 2019). Folhas e flores frescas podem ser consumidas em saladas e sanduíches (Xu et al., 2021). Plantas medicinais e aromáticas, como a capuchinha, podem ter seu crescimento, fisiologia e metabolismo afetados pelo déficit hídrico, o que pode aumentar sua aclimatação ao estresse por meio de vias metabólicas, fisiológicas e/ou morfológicas (Mahajan et al., 2020).

O déficit hídrico é um problema para o cultivo de plantas, como a capuchinha, pois esta planta é cultivada em regiões áridas e semiáridas que possuem baixa pluviosidade. Não existem estudos sobre a aplicação de espermina para atenuar os efeitos nocivos do déficit hídrico em *T. majus*. Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos da aplicação de espermina no crescimento, trocas gasosas e metabolismo antioxidante de *T. majus* cultivada sob déficit hídrico.

3.4. Material e Métodos

3.4.1. Local e delineamento experimental

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, de maio a agosto de 2020. O experimento foi distribuído em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 (lâmina de irrigação – 30 (déficit hídrico severo), 50 (déficit hídrico moderado) e 80% (sem estresse) da capacidade de retenção do vaso) x 2 (0 e 1 mM de espermina, Silva et al., 2022), com cinco repetições, sendo uma planta por parcela. Os tratamentos de déficit hídrico iniciaram 20 dias após a sementeira (oito dias após o transplante). As plantas foram submetidas a 60 dias de déficit hídrico.

3.4.2. Material vegetal

Sementes de *T. majus* (var. Semi-dobrada sortida – Feltrin[®]) foram semeadas em bandeja de poliestireno de 128 células com substrato comercial (Tropstrato). As mudas foram transplantadas para vasos de 1,2 dm³ com substrato comercial (Tropstrato) 12 dias após a sementeira. A espermina foi diluída em água deionizada e 0,05% e Tween 20 foi usado como surfactante para aumentar a absorção pelas plantas. O controle foi água deionizada e 0,05% de Tween 20. As plantas foram pulverizadas com 10 mL das soluções preparadas. As aplicações de espermina foram feitas a cada sete dias durante quatro semanas, iniciando-se aos 28 dias após a sementeira (16 dias após o transplante), 8 dias após o início do déficit hídrico.

A determinação da capacidade de retenção de vaso (CRV) foi realizada conforme metodologia descrita por Kämpf et al. (2006). A fórmula utilizada foi: $PV = (PV_{crv} - PV_{sec}) \times CRV + PV_{sec}$, onde: PV = peso do vaso, PV_{crv} = capacidade de retenção de água, PV_{sec} = peso do vaso preenchido com substrato totalmente seco, CRV = lâmina de reposição de água (Girardi et al., 2016). A manutenção da CRV foi realizada diariamente em todos os vasos, pesando-os e repondo o volume de água perdido por evapotranspiração, utilizando-se balança com capacidade de 10 kg. As plantas foram fertirrigadas com 4 g L⁻¹ de fertilizante NPK (20-

20-20) + micronutrientes (Peters Professional[®]), uma vez por semana. O déficit hídrico começou 20 dias após a semeadura (8 dias após o transplantio). As plantas foram submetidas a 60 dias de déficit hídrico.

3.4.3. Variáveis analisadas

3.4.3.1. Crescimento de plantas

Todos os dados foram coletados 60 dias após o início do déficit hídrico (DAD). O diâmetro do caule (mm), número de folhas, número de flores, número de botões, massa seca total (g) e área foliar foram avaliados. Cada parte da planta foi colocada em sacos de papel e secas em uma estufa de circulação de ar forçado a 60 °C, sendo pesadas em balança analítica para obter-se as massas secas. A área foliar foi medida com um medidor integrador de área foliar (LI-3100, Li-COR, Inc., Lincoln, NE, EUA).

3.4.3.2. Trocas gasosas

As trocas gasosas foram analisadas aos 60 DAI. Um analisador de gases no infravermelho (IRGA – modelo LCPro, ADC BioScientific Ltd.) foi utilizado para avaliar as trocas gasosas, sendo as medidas realizadas entre 8 e 10 h. Radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de CO_2 das condições ambientais foram usadas durante as análises de trocas gasosas. A condutância estomática ($g_s = \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida ($A = \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração ($E = \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração de carbono interno ($C_i = \mu\text{mol CO}_2 \text{mol ar}^{-1}$) foram avaliadas.

3.4.3.3. Teor relativo de água (TRA)

Dez discos (1 cm de diâmetro) foram removidos da primeira folha totalmente expandida para determinar o teor relativo de água (TRA). Após a pesagem e obtenção da massa fresca (MF), os discos foliares foram imersos em água deionizada por 3 h até atingir a massa túrgida (MT). Em seguida, os discos foram colocados em estufa a 65 °C por 48 h para obtenção da massa seca (MS). O TRA foi calculado usando a fórmula: $\text{TRA}(\%) = [(MF-MS)/(MT-MS)] \times 100$.

3.4.3.4. Açúcares redutores e não redutores

Açúcares solúveis foram extraídos de aproximadamente 2 g de folha fresca moída e homogeneizados em etanol 80% aquecido a 85 °C. O extrato foi centrifugado por 8 min a 12.000 g. O sobrenadante foi recolhido e o precipitado foi extraído mais uma vez com etanol a 80%. O método do fenol sulfúrico (Dubois et al., 1956) foi utilizado para determinar o teor de açúcares solúveis totais (AST) na amostra. O ensaio contendo 0,25 mL de sobrenadante, 0,25 mL de fenol a 5% e 1,25 mL de H₂SO₄ concentrado foi incubado a 30 °C por 20 min. Após resfriamento, a absorbância foi medida a 490 nm. O AST foi expresso em porcentagens de AST por massa fresca de folhas, utilizando-se a sacarose como padrão.

O teor de açúcares redutores (AR) foi quantificado pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) proposto por Gonçalves et al. (2010), com modificações. 0,5 mL de sobrenadante foi adicionado a 0,5 mL de reagente DNS e os tubos foram aquecidos por 5 min. Após resfriamento em banho de gelo, 4 mL de água foram adicionados e a absorbância foi lida a 540 nm. A frutose foi utilizada como padrão e o teor de AR foi determinado em %AR por massa fresca de folhas. O teor de açúcar não redutor (ANR) foi estimado pela diferença entre AST e AR, com resultados expressos em %ANR por massa fresca de folhas.

3.4.3.5. Compostos fenólicos totais

O mesmo extrato usado para a análise de açúcares também foi usado para compostos fenólicos. O ácido gálico foi usado como padrão para determinar o teor de fenólicos de acordo com Fu et al. (2010). A absorbância foi determinada por espectrofotômetro (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Scientific, Massachusetts, USA) a 760 nm e o teor foi expresso em mg g⁻¹ de massa fresca.

3.4.3.6. Aminoácidos livres

O mesmo extrato usado para a análise de açúcares também foi usado para aminoácidos livres usando-se o método de Yemm e Cocking (1954). Glicina foi usada como padrão. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Scientific, Massachusetts, USA) a 570 nm e o teor foi expresso em mM g⁻¹ de massa fresca.

3.4.3.7. Peroxidação de lipídios

A peroxidação de lipídeos foi determinada através da quantificação do teor de malondialdeído (MDA). O teor de MDA foi determinado pelo método do ácido tiobarbitúrico descrito por Heath e Packer (1968). Uma amostra de folha (0,2 g) foi homogeneizada em 0,1%

(p/v) de ácido tricloroacético (TCA) e centrifugada (Model K14-4415R, Kasvi, São José do Pinhais, BR) a 12.000 g por 15 min a 4 °C. Em seguida, 0,5 mL do sobrenadante foi misturado com 1,5 mL de 0,5% de ácido tiobarbitúrico (TBA) diluído em 20% TCA (p/v) e aquecido a 90 °C por 20 min. A absorvância foi medida em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Scientific, Massachusetts, USA) a 532 e 600 nm. O teor de MDA foi expresso em nmol g⁻¹ de massa fresca.

3.4.3.8. Atividade enzimática do sistema antioxidante (CAT, POD e APX)

O extrato enzimático foi preparado homogeneizando 0,2 g de folha em 2 mL de tampão de extração contendo 100 mM de fosfato de potássio (pH 7,0), 0,1 mM de EDTA, 1 mM de fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) e 1% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVP). O homogenato foi centrifugado a 14.000 g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e utilizado para determinar as atividades da catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX).

A atividade de CAT foi determinada de acordo com Havir e McHale (1987). O tampão de reação continha fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) e H₂O₂ 12,5 mM. A reação foi iniciada com a adição do extrato enzimático e a atividade determinada pela diminuição da absorvância a 240 nm por 1 min. A atividade de CAT foi expressa em μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína. A atividade POD foi quantificada de acordo com o método proposto por Kar e Mishra (1976). O tampão de reação foi preparado com fosfato de potássio 25 mM (pH 6,5), guaiacol 20 mM e H₂O₂ 20 mM. A atividade foi determinada pelo aumento da absorvância a 470 nm e expressa em μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

A atividade de APX foi medida de acordo com Nakano e Asada (1981). O meio reacional era composto por fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), ácido ascórbico 0,25 mM e H₂O₂ 0,3 mM. A atividade foi monitorada pela diminuição da absorvância a 290 nm por 1 min. A atividade de APX foi expressa em μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína. O teor de proteína dos extratos enzimáticos foi determinado de acordo com o método proposto por Bradford (1976). A albumina de soro bovino (BSA) foi a proteína utilizada para a curva padrão.

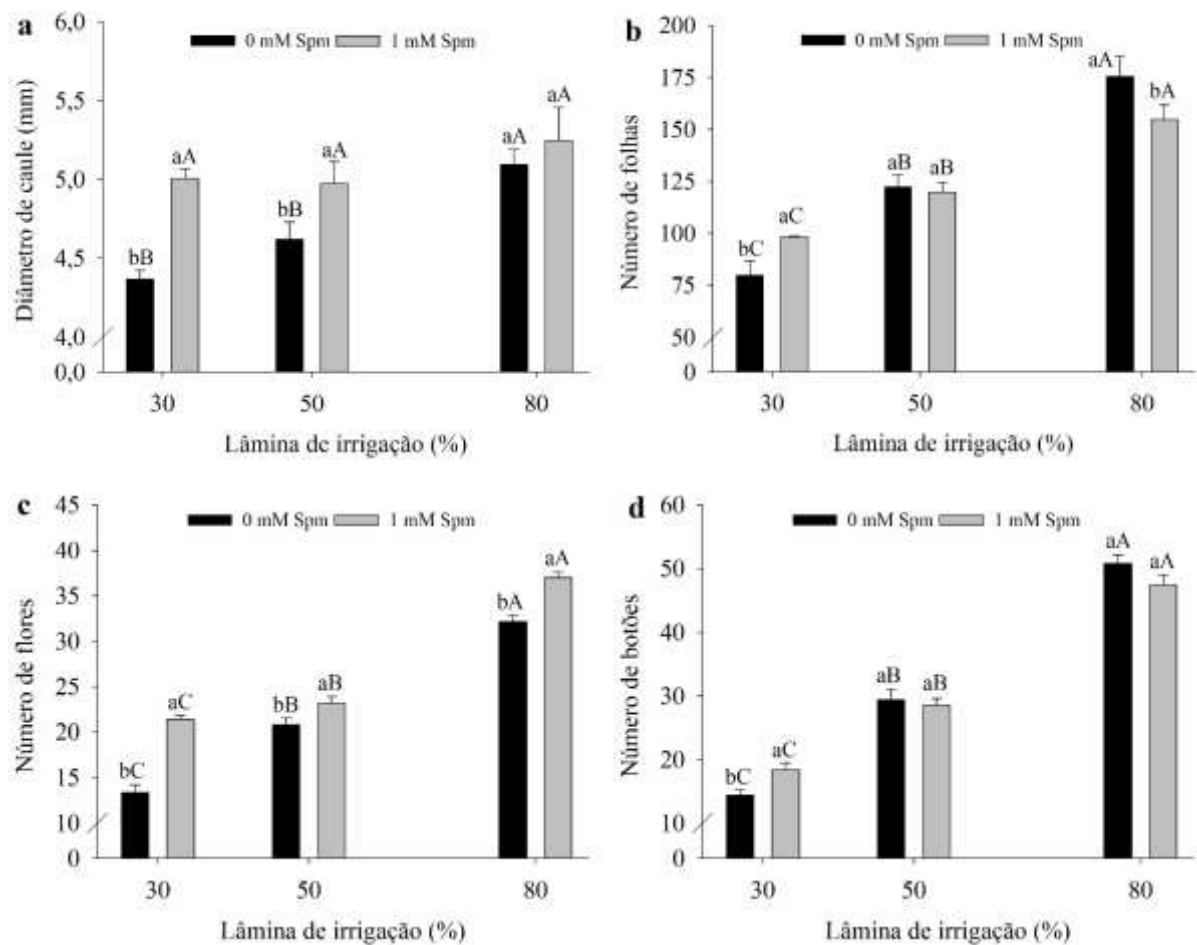
3.4.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey pelo pacote estatístico ExpDes (Ferreira et al., 2018). Uma análise de variáveis canônicas com elipses de confiança (p≤0,01) foi realizada para estudar a inter-relação entre variáveis e fatores pelo pacote candisc (Friendly e Fox, 2017). Os dois fatores foram combinados para realizar esta análise. A

análise de correlação de Pearson foi realizada pelo pacote PerformanceAnalytics (Peterson e Carl, 2020). As análises estatísticas foram realizadas pelo software R (R Core Team, 2021).

3.5. Resultados

A aplicação de espermina reduziu os efeitos danosos do déficit hídrico severo no diâmetro de caule (12,74%, Figura 1a), número de folhas (18,90%, Figura 1b), número de flores (36,26%, Figura 1c), número de botões (21,74%, Figura 1d) e área foliar (64,59%, Figura 1f) de *T. majus* em comparação com plantas sem aplicação de espermina. Enquanto isso, a espermina reduziu os efeitos negativos do déficit hídrico moderado no diâmetro de caule (7,12%, Figura 1a), número de flores (5,32%, Figura 1c) e área foliar (10,99%, Figura 1f). A aplicação de espermina aumentou o número de flores de *T. majus*. Essas variáveis foram diminuídas pelo déficit hídrico severo e moderado em relação às plantas sem estresse, exceto para o diâmetro do caule das plantas sob aplicação de espermina.



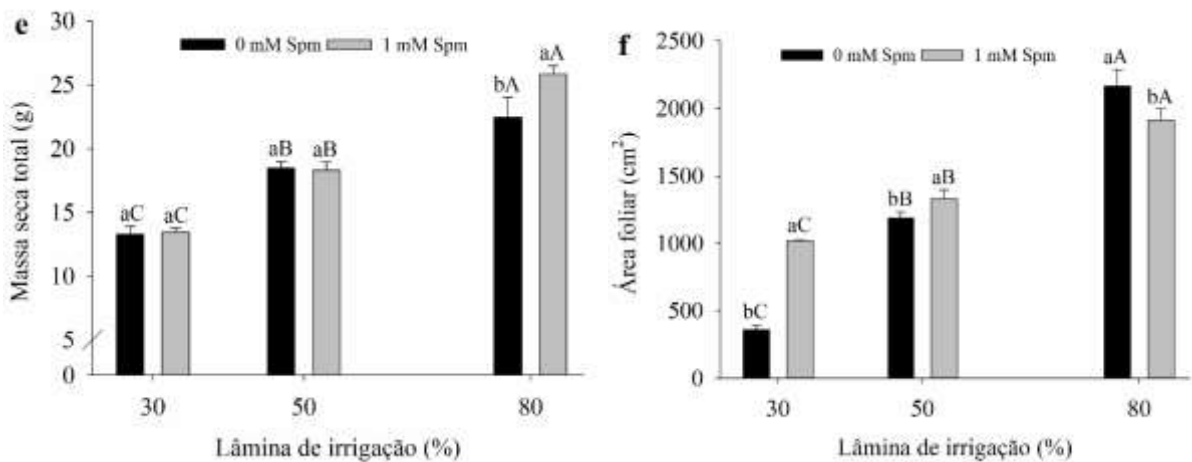
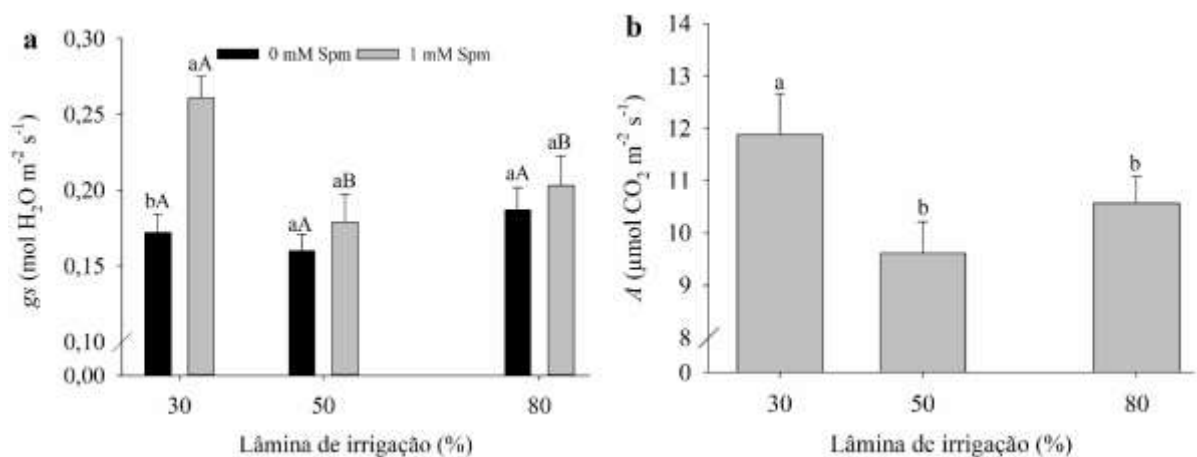


Figura 1. Diâmetro do caule (a), número de folhas (b), número de flores (c), número de botões (d), massa seca total (e) e área foliar (f) de *Tropaeolum majus* cultivada sob déficit hídrico e aplicação de espermina. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas e maiúsculas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para espermina e déficit hídrico, respectivamente. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 5).

Capuchinha cultivada sob déficit hídrico severo e aplicação de espermina teve maior condutância estomática ($0,26 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, Figura 2a). A espermina reduziu os efeitos danosos do déficit hídrico severo na condutância estomática (34,10%, Figura 2a) e na concentração de carbono interno (5,63%, Figura 2f). A maior fotossíntese líquida ($11,88 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, Figura 2b) foi observada em plantas sob déficit hídrico severo. A aplicação de espermina aumentou a fotossíntese líquida (17,89%, Figura 2c) e a transpiração (32,58%, Figura 2e). A transpiração não foi afetada pelo déficit hídrico (Figura 2d).



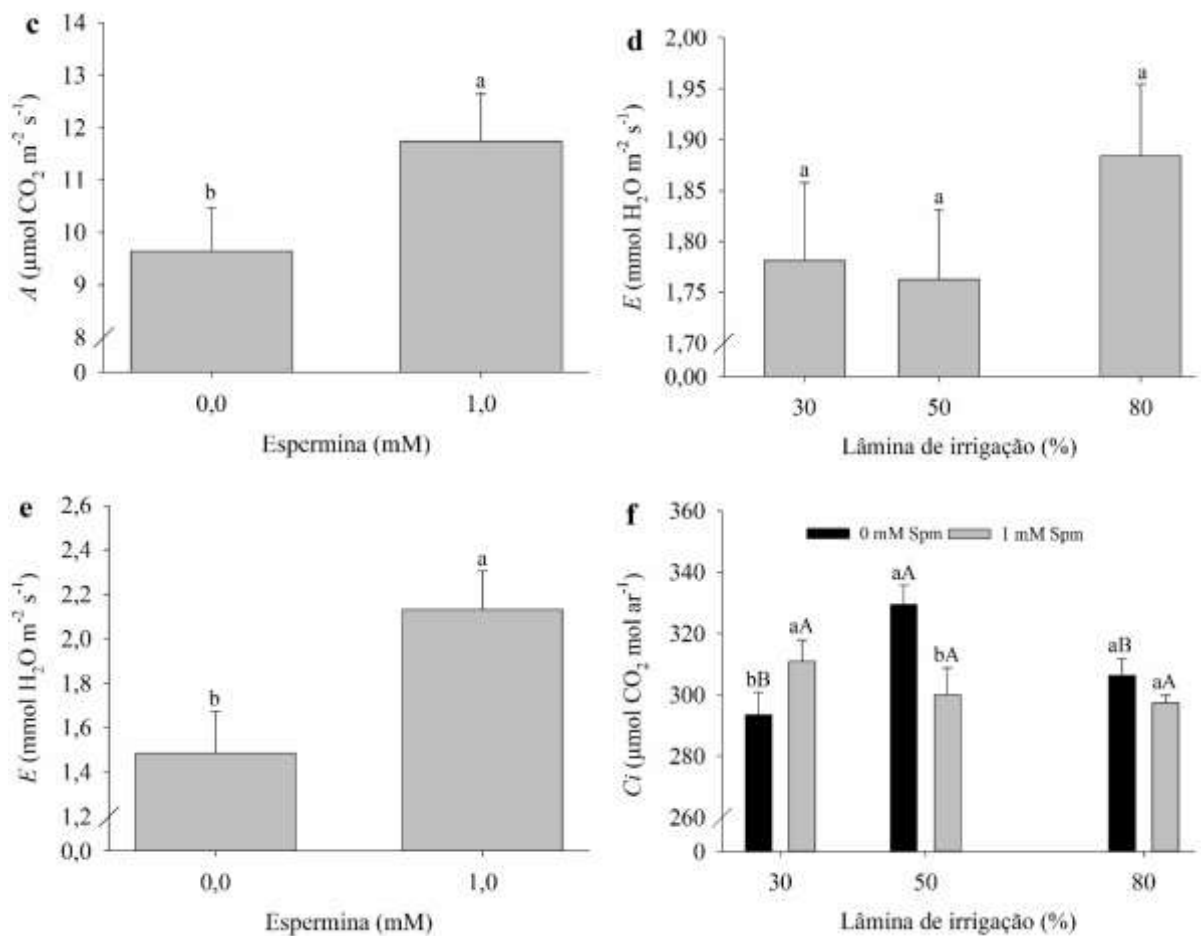


Figura 2. Condutância estomática (g_s - a), fotossíntese líquida (A - b e c), transpiração (E - d e e) e concentração de carbono interno (C_i - f) de *Tropaeolum majus* cultivada sob déficit hídrico e/ou aplicação de espermina. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas e maiúsculas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para espermina e déficit hídrico, respectivamente. Os valores são média \pm desvio padrão ($n = 5$).

O teor relativo de água não foi afetado pelo déficit hídrico severo e moderado quando as plantas receberam espermina. A aplicação de espermina reduziu os efeitos nocivos do déficit hídrico severo sobre o teor relativo de água (4,43%, Figura 3a), açúcares redutores (3,36%, Figura 3d) e açúcares não redutores (3,88%, Figura 3e) de *T. majus*. A espermina reduziu os efeitos danosos do déficit hídrico moderado no teor relativo de água (6,08%, Figura 3a), aminoácidos (45,99%, Figura 3b), açúcares redutores (9,80%, Figura 3d) e açúcares não redutores (3,85%, Figura 3e). A espermina diminuiu o conteúdo fenólico total (36,76 e 15,02% em plantas sob déficit hídrico severo e moderado, respectivamente (Figura 3c). Plantas sob déficit hídrico moderado e aplicação de espermina tiveram teor de fenólicos totais, açúcares redutores e açúcares não redutores semelhantes às plantas sem estresse e aplicação de espermina.

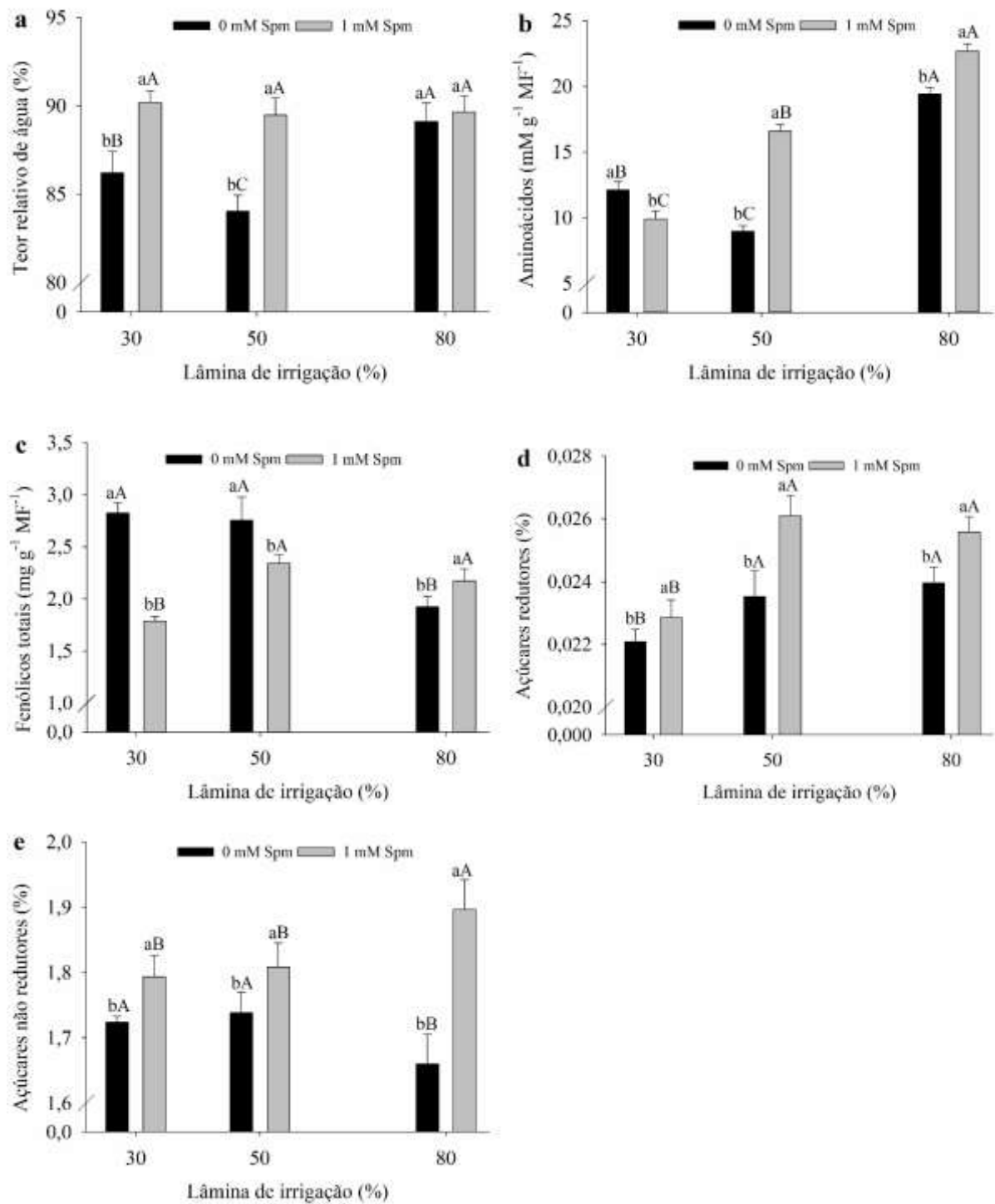


Figura 3. Teor relativo de água (a), teor de aminoácidos livres (b), teor de compostos fenólicos totais (c), açúcares redutores (d) e açúcares não redutores (e) de *Tropaeolum majus* cultivada sob déficit hídrico e aplicação de espermina. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas e maiúsculas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para espermina e déficit hídrico, respectivamente. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 5).

A aplicação de espermina diminuiu a peroxidação lipídica (MDA) de *T. majus* sob déficit hídrico severo (23,60%) e moderado (13,84%) e em plantas sem estresse (11,21%) (Figura 4a). A espermina aumentou as atividades de POD (53,99%, Figura 4c) e APX (51,69%, Figura 4d) em plantas sob déficit hídrico severo e CAT (44,83%, Figura 4b), POD (91,81%, Figura 4c) e APX (59,33% , Figura 4d) em plantas sob déficit hídrico moderado. A espermina não foi capaz de estimular a atividade de CAT de plantas sob déficit hídrico severo. Plantas sob déficit hídrico moderado e aplicação de espermina tiveram maiores atividades de CAT (9,72 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, Figura 4b), POD (132,83 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, Figura 4c) e APX (57,77 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, Figura 4d).

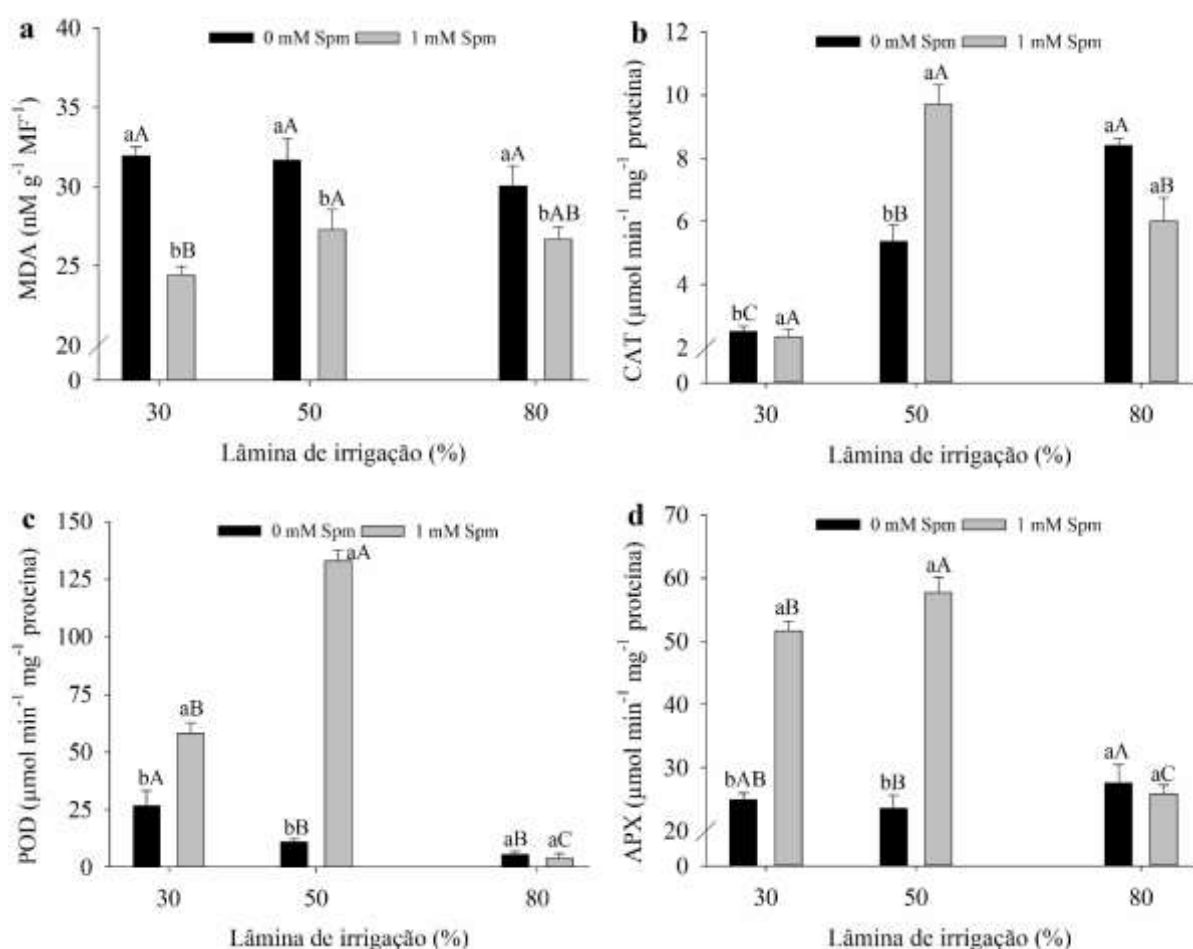


Figura 4. Peroxidação lipídica (MDA - a), atividade de catalase (CAT - b), atividade de peroxidase (POD - c) e atividade de ascorbato peroxidase (APX - d) de *Tropaeolum majus* cultivada sob déficit hídrico e aplicação de espermina. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas e maiúsculas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para espermina e déficit hídrico, respectivamente. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 5).

Uma análise de variáveis canônicas com elipses de confiança foi realizada para estudar a inter-relação entre variáveis e fatores. O diâmetro de caule (DC), número de folhas (NF),

número de flores (NFI), número de botões (NB), área foliar (AF) e massa seca total (MST) tiveram maiores valores em plantas sob aplicação de espermina e sem estresse (80P1) (Figura 5a). Esses resultados sugerem que a aplicação de espermina estimula o crescimento da planta. A fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) tiveram maiores valores em plantas que receberam espermina, independente do déficit, não havendo diferença entre esses tratamentos (Figura 5b). Este comportamento sugere que a aplicação de espermina aumenta as trocas gasosas em plantas de *T. majus* sob déficit hídrico. Açúcares redutores (AR), açúcares não redutores (ANR), aminoácidos (Ami) e teor relativo de água (TRA) tiveram maiores valores em plantas sob déficit hídrico moderado e em plantas sem estresse, com aplicação de espermina. As plantas que estavam no grupo controle e expostas ao déficit hídrico severo e moderado tiveram aumento do teor de compostos fenólicos totais (Phen) (Figura 5c). A atividade das enzimas CAT, POD e APX tiveram maiores valores em plantas sob déficit hídrico moderado e aplicação de espermina. Isso sugere que os mecanismos regulatórios dessas enzimas foram ativados pela espermina quando as plantas estavam sob déficit hídrico. A peroxidação lipídica (MDA) foi maior em plantas sem aplicação de espermina e em plantas sob déficit hídrico severo (Figura 5d).

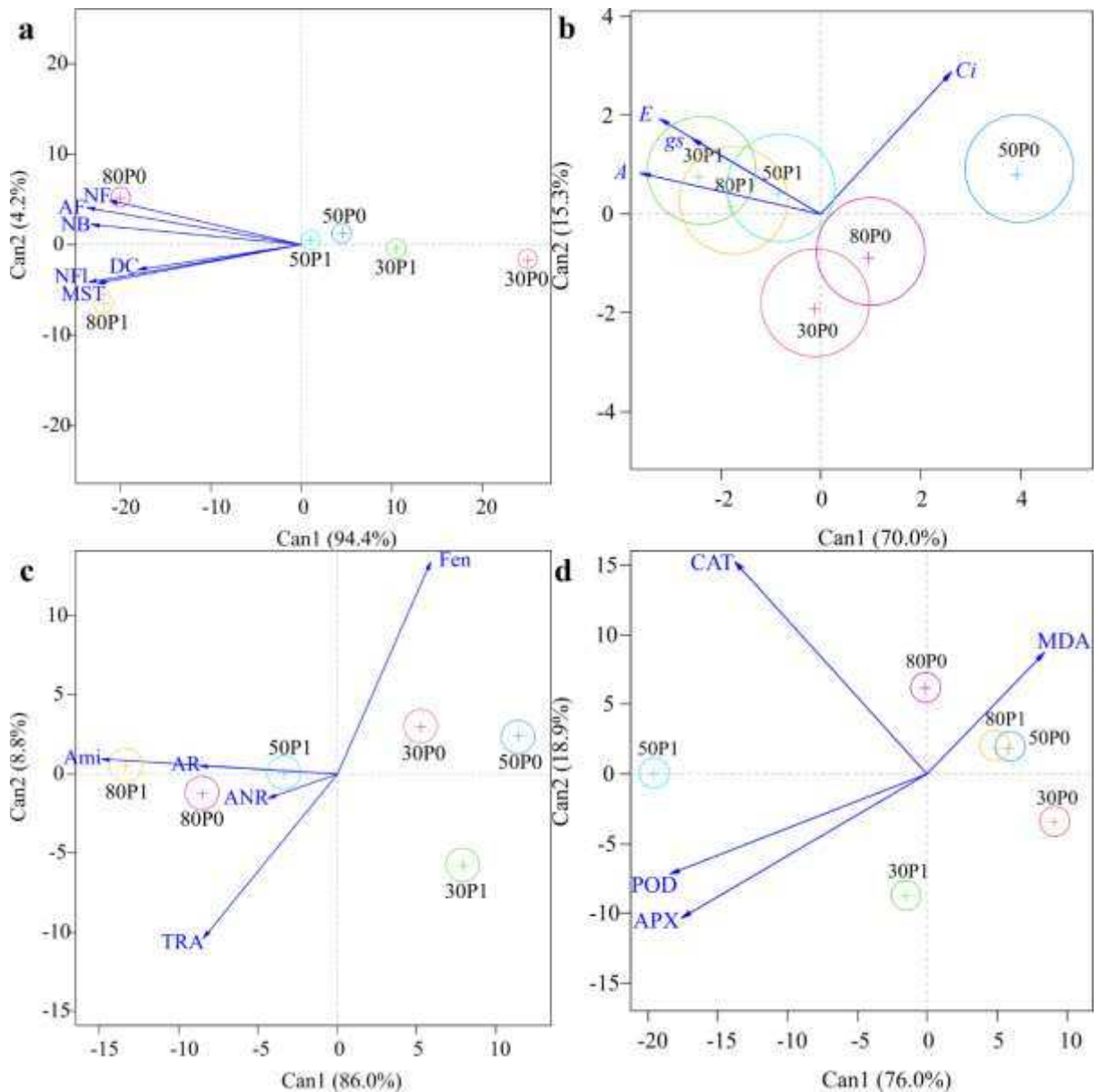


Figura 5. Análise de variáveis canônicas do crescimento (a e b), trocas gasosas (c) e bioquímica (d) de *Tropaeolum majus* cultivado sob déficit hídrico e aplicação de espermina. NF = número de folhas, DC = diâmetro do caule, NFI = número de flores, NB = número de botões, MST = massa seca total, AF = área foliar, *gs* = condutância estomática, *A* = fotossíntese líquida, *E* = taxa de transpiração, *Ci* = concentração de carbono interno, Fen = compostos fenólicos, TRA = teor relativo de água, AR = açúcares redutores, ANR = açúcares não redutores, Amino = aminoácidos, MDA = peroxidação de lipídeos, CAT = catalase, POD = peroxidase, APX = ascorbato peroxidase, P = espermina. 80P0 = plantas sem estresse e sem aplicação de espermina, 80P1 = plantas sem estresse e com aplicação de espermina, 50P0 = plantas com estresse moderado e sem aplicação de espermina, 50P1 = plantas com estresse moderado e com

aplicação de espermina, 30P0 = plantas com estresse severo e sem aplicação de espermina, 30P1 = plantas com estresse severo e com aplicação de espermina. n = 5.

As variáveis de crescimento (NF, AP, DC e MST) foram positivamente correlacionadas com os açúcares redutores (AR), aminoácidos (Ami), teor relativo de água (TRA) e com a atividade da catalase (CAT). As trocas gasosas (*gs*, *A* e *E*) foram positivamente correlacionadas com o TRA e a atividade da ascorbato peroxidase (APX). O TRA foi positivamente correlacionado com as atividades de CAT, POD e APX. A atividade de POD teve uma alta correlação positiva com a atividade de APX. O TRA teve maior correlação negativa com os compostos fenólicos (Fen) e peroxidação lipídica (MDA). MDA correlacionou-se negativamente com as trocas gasosas e com os teores de açúcares e aminoácidos (Figura 6).

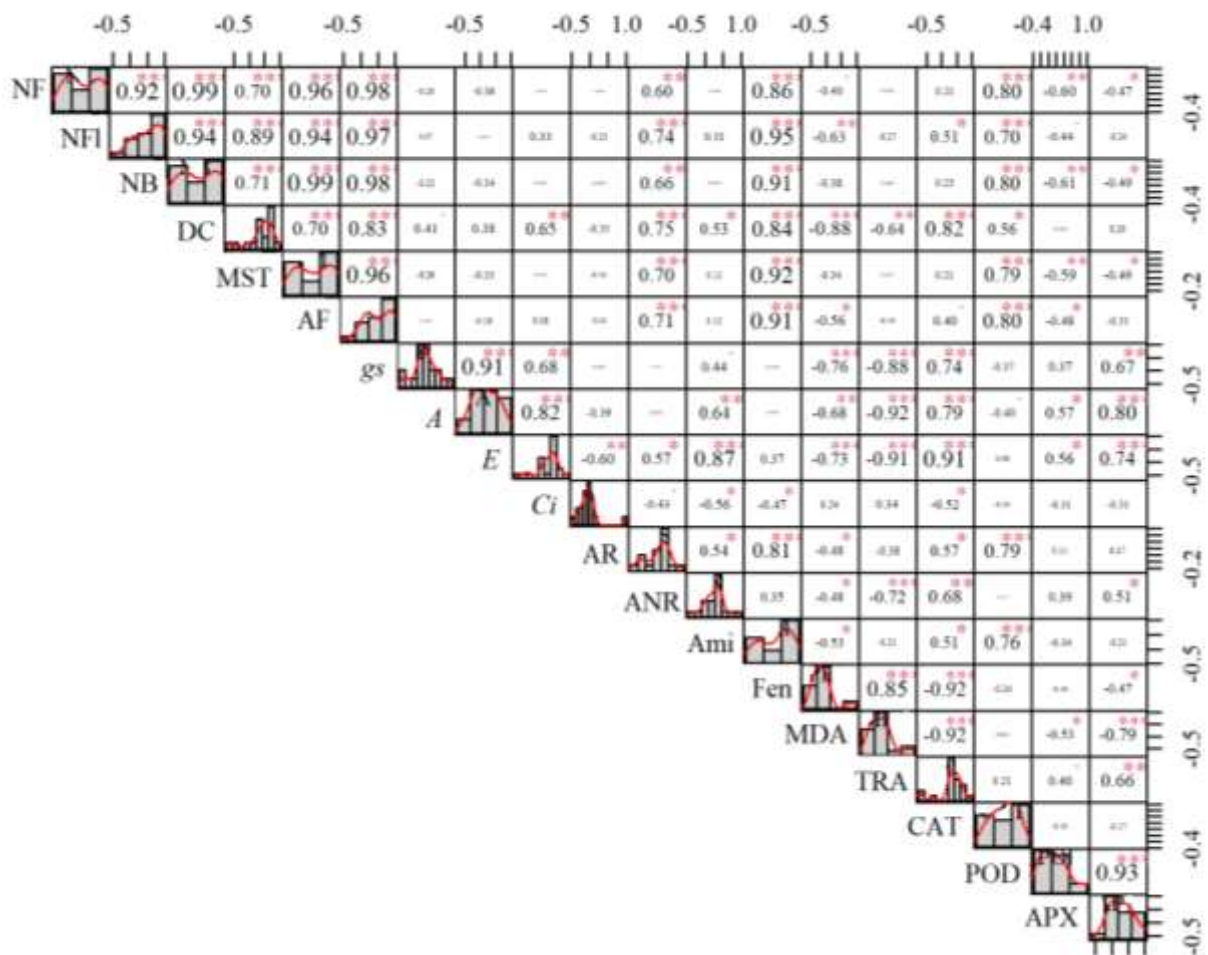


Figura 6. Correlação de Pearson entre crescimento, trocas gasosas e bioquímica de *Tropaeolum majus* cultivado sob déficit hídrico e aplicação de espermina. NF = número de folhas, DC = diâmetro do caule, NFl = número de flores, NB = número de botões, MST = massa seca total, *gs* = condutância estomática, *A* = fotossíntese líquida, *E* = taxa de transpiração, *Ci* = concentração de carbono interno, Fen = compostos fenólicos, TRA = teor relativo de água, AR

= açúcares redutores, ANR = açúcares não redutores, Amino = aminoácidos, MDA = peroxidação de lipídeos, CAT = catalase, POD = peroxidase, APX = ascorbato peroxidase. *, ** e *** significativo a 5, 1 e 0,1%, respectivamente.

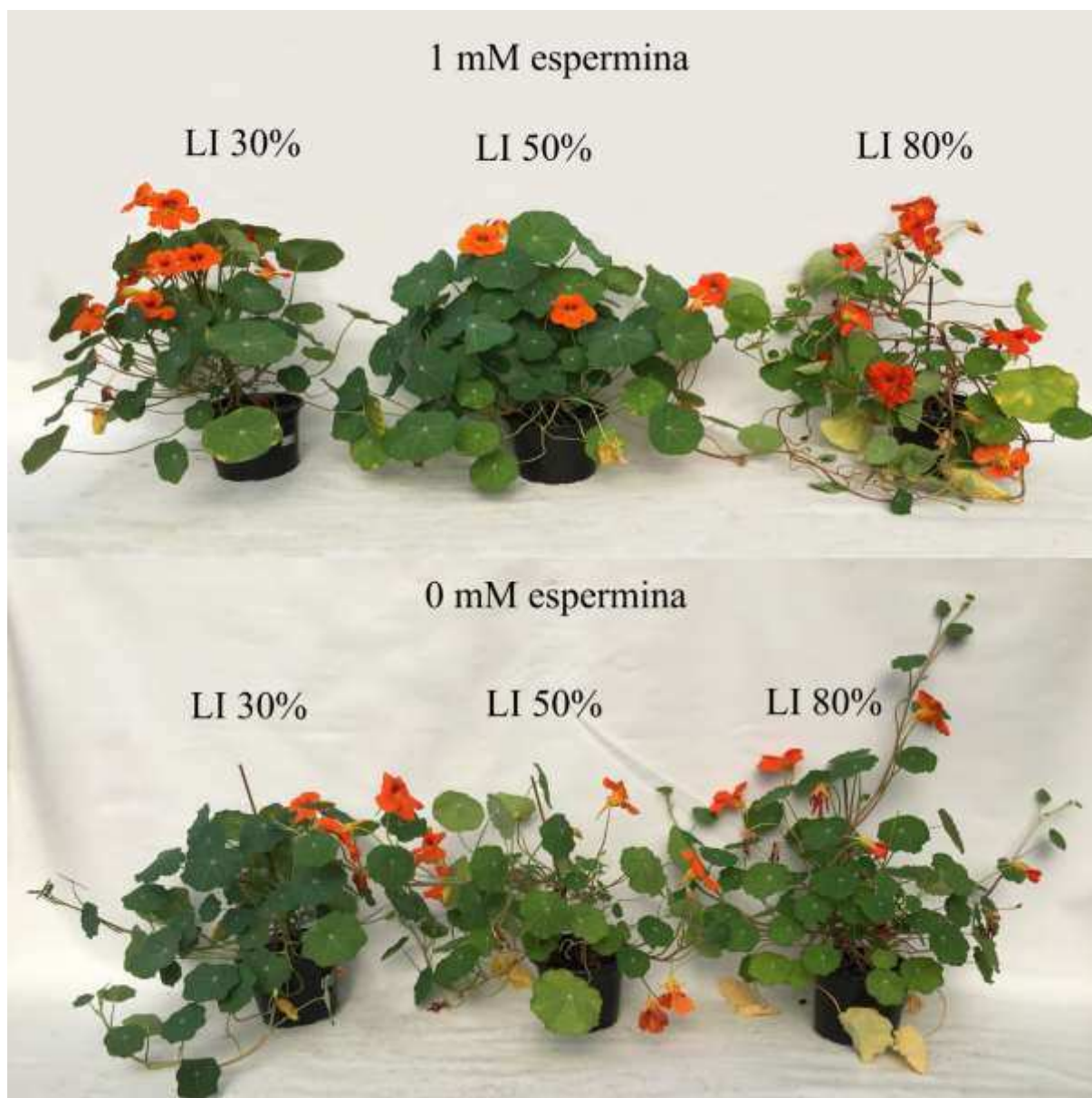


Figura 7. Aspecto fenológico de *Tropaeolum majus* cultivado sob déficit hídrico e aplicação de espermina. LI = lâmina de irrigação.

3.6. Discussão

As poliaminas podem melhorar a tolerância ao déficit hídrico em plantas, no entanto, há poucas informações disponíveis sobre o mecanismo de ação da aplicação deste fitohormônio em *T. majus* cultivado sob déficit hídrico. Neste trabalho, a aplicação de espermina reduziu os efeitos nocivos do déficit hídrico no crescimento de *T. majus* (Figura 1 e 7). A aplicação de

espermina diminuiu os efeitos danosos do déficit hídrico no diâmetro de caule, número de folhas, número de flores, número de botões e área foliar (Figura 1) porque este fitohormônio melhora e mantém a estrutura e função do sistema fotossintético durante o déficit hídrico (Ebeeb et al., 2017), como visto na Figura 2. Esse comportamento está relacionado à fotossíntese por ser a fonte mais importante de acúmulo de biomassa em plantas superiores e é um dos processos fisiológicos mais sensíveis ao déficit hídrico (Mo et al., 2016). O déficit hídrico reduziu o crescimento das plantas e este comportamento está associado à diminuição das taxas fotossintéticas e ao estado hídrico das mesmas. Além disso, é importante enfatizar que os danos no crescimento e desenvolvimento são os primeiros e mais preocupantes efeitos do déficit hídrico nas plantas, e as mudanças na biomassa são indicadores confiáveis do grau de estresse e resistência das plantas à seca (Li et al., 2018a). Além disso, a aplicação de espermina aumentou as atividades de POD, CAT e APX (Figura 4) em plantas cultivadas sob déficit hídrico, e isso facilitou a eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a manutenção do crescimento vegetal sob estresse.

A maior condutância estomática (g_s) observada em plantas de *T. majus* sob déficit hídrico severo e aplicação de espermina pode estar relacionada a este fitohormônio que entra rapidamente em cloroplastos intactos e ajuda a proteger a estrutura e função do aparelho fotossintético em resposta ao estresse (Zeng et al., 2016; Li et al., 2018a). Além disso, pode estar relacionada ao maior teor relativo de água nas folhas induzido pela aplicação de espermina. A fotossíntese líquida (A) foi maior em plantas que cresceram sob déficit hídrico severo e aplicação de espermina (Figura 2). Isso pode ter ocorrido porque a maior g_s foi maior neste tratamento, além do déficit hídrico não afetar a taxa de transpiração. Isso também pode estar relacionado à manutenção do teor relativo de água devido ao aumento das atividades de POD e APX e à diminuição da peroxidação lipídica neste tratamento (Figura 4). O fato de que a maior A foi observada em plantas sob déficit hídrico severo está relacionado ao controle estomático, que é considerado o principal fator fisiológico para otimizar o uso da água durante o déficit hídrico, evitando perdas excessivas de água em condições de estiagem prolongada (Nadeem et al., 2019) e consequente diminuição no transporte de assimilados (Dąbrowski et al., 2019). A aplicação de espermina aumentou as trocas gasosas (g_s , A e E , Figura 2), pois este fitohormônio mantém a estabilidade da estrutura do cloroplasto, retardando a degradação da clorofila e melhorando a atividade de enzimas relacionadas ao metabolismo (Yang et al., 2022), além de manter as células intactas através da eliminação de EROs, aumentando as atividades das enzimas antioxidantes (Figura 4).

O teor relativo de água não foi afetado pelo estresse hídrico severo e moderado quando as plantas receberam espermina (Figura 3) porque este fitohormônio aumentou o teor de açúcares redutores e não redutores em plantas sob estresse hídrico (Figura 3) que funcionam como um osmólito para manter a turgidez foliar. Além disso, a espermina melhora o estado hídrico das células epidérmicas e células subjacentes (Ebeeb et al., 2017). A aplicação de espermina reduziu a transpiração em mudas de *Poncirus trifoliata* em condições de seca (Fu et al., 2014). O efeito da aplicação de espermina na redução dos efeitos nocivos do déficit hídrico severo sobre o teor relativo de água, açúcares redutores e açúcares não redutores de *T. majus* (Figura 3) está relacionado à ação deste fitohormônio no mecanismo de osmoproteção, que se baseia na estreita associação de elementos não tóxicos com vários componentes celulares e com a regulação osmótica, que ajuda a manter o turgor, mantendo o teor de água das células (Slama et al., 2015). O acúmulo de soluto compatível é uma estratégia fundamental para a osmoproteção e ajuste osmótico sob déficit hídrico (Majumdar et al., 2016). O efeito da aplicação de espermina nos teores de açúcar pode estar relacionado à manutenção da fotossíntese líquida em plantas sob déficit hídrico (Figura 2b), que é a fase primária para o acúmulo de açúcares nas plantas. O déficit hídrico aumentou os teores de açúcar solúvel e sacarose em folhas de *Glycine max* (Du et al., 2020).

O déficit hídrico aumenta o dano oxidativo nas plantas devido à produção e acúmulo de EROs (Raja et al., 2020). O acúmulo de EROs em plantas pode desencadear a perda de integridade de organelas, oxidação de componentes celulares e até mesmo a morte celular (Zhang et al., 2021). A ação da espermina na diminuição da peroxidação lipídica de *T. majus* sob déficit hídrico está relacionada ao aumento das atividades de enzimas antioxidantes (CAT, POD e APX, Figura 4), levando à estabilização da membrana e eliminação de radicais livres (Ghassemi et al., 2018). A aplicação de espermina aumentou a atividade de CAT, POD e APX (Figura 4) por manter a integridade da membrana mediada pela ação da espermina na diminuição da peroxidação lipídica (Figura 4) e também pelo acúmulo de solutos (Figura 3). Além disso, a espermina ativa as vias da glicoxalase e de antioxidantes que promovem a resistência ao estresse oxidativo induzido pelo déficit hídrico (Hasan et al., 2021). A aplicação de espermina aumentou a atividade de SOD, CAT e POD em plântulas de *Cynodon dactylon* (Shi et al., 2013) e de CAT e SOD em plântulas de *G. max* (Radhakrishnan e Lee, 2013) cultivadas sob déficit hídrico.

Através da análise de variáveis canônicas foi observado que a aplicação de espermina aumenta o crescimento e o número de flores de *T. majus* (Figura 5). Esse comportamento está relacionado ao papel da espermina no aumento das trocas gasosas (Figura 2), além dos

processos de divisão celular, diferenciação e replicação do DNA para o crescimento das células vegetais (Shukla e Merewitz, 2015). A *gs*, *E* e *A* tiveram forte relação positiva com as plantas que receberam espermina (Figura 5), pois a espermina desempenha um papel essencial na fotossíntese (Figura 2), revertendo o comprometimento induzido pelo estresse dos sistemas fotossintéticos (Ghassemi et al., 2018). O aumento dos teores de açúcares, aminoácidos e teor relativo de água em plantas sob déficit hídrico e aplicação de espermina (Figura 5) está relacionado e pode ser uma estratégia da planta para se adaptar ao déficit hídrico, como ocorreu em plantas de *G. max* (Du et al., 2020). A aplicação de espermina aumentou a tolerância à seca em *Agrostis stolonifera* por meio de ajuste osmótico e regulação hormonal (Krishnan e Merewitz, 2017). A espermina aumentou as atividades de CAT, POD e APX (Figura 5), pois esse fitohormônio reduz a geração de EROs e aumenta as atividades antioxidantes, principalmente das enzimas do sistema oxidativo, que protegem as proteínas fotossintéticas e a degradação da RuBisCO (Ghassemi et al., 2018).

As variáveis de crescimento foram positivamente correlacionadas com o teor de açúcares redutores, aminoácidos, teor relativo de água e atividade de CAT (Figura 6), pois o aumento do teor de soluto (Figura 3) e da atividade da CAT (Figura 4) mediada pela aplicação de espermina reduziu os danos causados pelo estresse, principalmente nas trocas gasosas (Figura 2), favorecendo o crescimento das plantas (Figura 1 e 7). Além disso, a espermina desempenha papéis essenciais em processos fisiológicos e de desenvolvimento, como divisão celular, embriogênese, emergência floral, senescência foliar e respostas ao estresse hídrico (Sequera-Mutiozabal et al., 2017). O teor relativo de água foi positivamente correlacionado com a atividade de CAT, POD e APX e com as trocas gasosas (Figura 6), pois a manutenção do estado hídrico da folha facilitou os processos bioquímicos para a produção dessas enzimas mediada pela aplicação de espermina. Além disso, as poliaminas podem induzir a liberação de Ca^{2+} intracelular, que é um componente essencial nas respostas gerais ao estresse, como movimentação estomática e aumento da atividade antioxidante, regulando vários canais da membrana plasmática (Pál et al., 2015; Li et al., 2018b). A APX ajuda a gerar $NADP^+$ e transforma H_2O_2 em água e ajuda a remover H_2O_2 (Nadeem et al., 2019). A peroxidação lipídica correlacionou-se negativamente com as trocas gasosas e com o teor de açúcar e aminoácidos, pois a aplicação de espermina diminuiu o teor de MDA (Figura 4) e aumentou as trocas gasosas (Figura 2) e teor de solutos (Figura 3). A peroxidação lipídica da membrana é proporcional à intensidade do déficit hídrico e pode derivar de reações espontâneas de EROs com moléculas orgânicas contidas nas membranas (Khaleghi et al., 2019). O déficit hídrico inibe a síntese de

produtos fotossintéticos e perturba o equilíbrio de carbono, resultando em crescimento reduzido e distúrbios metabólicos e fisiológicos (Du et al., 2020).

O diagrama esquemático (Figura 8) representa que o déficit hídrico causou efeitos nocivos em *T. majus*, reduzindo as atividades de CAT, POD e APX. O déficit hídrico aumentou o teor de MDA, que danificou as membranas celulares causando peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica limitou as trocas gasosas, comprometendo a produção de açúcares e aminoácidos e, conseqüentemente, a fotossíntese e o crescimento das plantas. Por outro lado, a aplicação de espermina induziu a atividade enzimática, aumentou os teores de açúcar e aminoácidos e trocas gasosas, e reduziu o dano à membrana celular através da diminuição da peroxidação lipídica, que manteve a fotossíntese e o crescimento de plantas de *T. majus* cultivadas sob déficit hídrico.

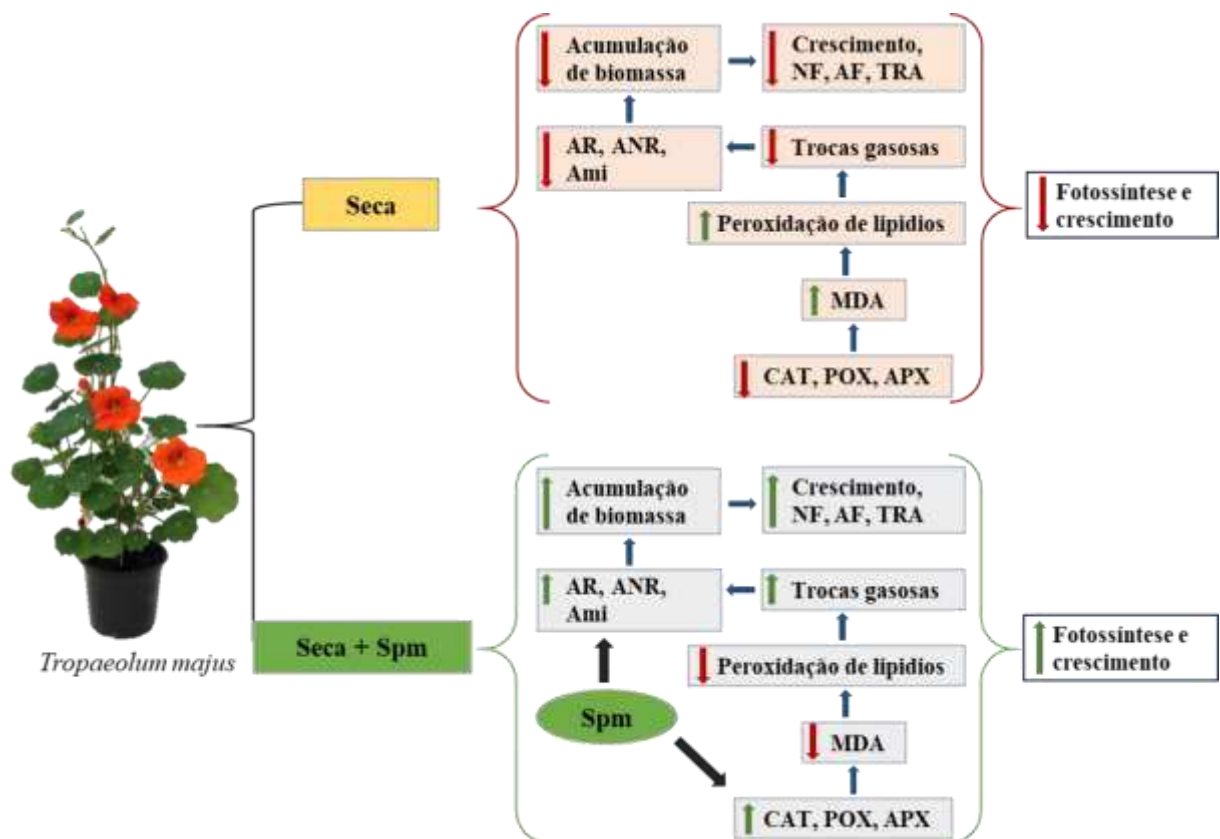


Figura 8. Representação esquemática da inibição do crescimento e da fotossíntese induzida por déficit hídrico e sua recuperação pela aplicação de espermina em *Tropaeolum majus*. NF= número de flores, AF= área foliar, TRA= teor relativo de água, AR= açúcares redutores, ANR= açúcares não redutores, AM= aminoácidos, MDA= malondialdeído, CAT= catalase, POD= peroxidase, APX= ascorbato peroxidase.

3.7. Conclusão

A aplicação de espermina aumenta a tolerância à seca em *T. majus*, aumentando o crescimento, trocas gasosas, teor relativo de água, aminoácidos, açúcares redutores e não redutores, enzimas CAT, POD e APX e diminuindo a peroxidação lipídica. A aplicação de 1 mM de espermina pode ser uma estratégia para mitigar os efeitos danosos do déficit hídrico em *T. majus*.

3.8. Referências

- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Dąbrowski, P., Baczevska-Dąbrowska, A. H., Kalaji, H. M., Goltsev, V., Paunov, M., Rapacz, M., Wójcik-Jagła, M., Pawluśkiewicz, B., Bąba, W., & Brestic, M. (2019). Chlorophyll *a* fluorescence and plant gas exchange parameters as indicators of drought tolerance in perennial ryegrass. *Sensors*, 19, 2736. <https://doi.org/10.3390/s19122736>
- Dawood, M. F., & Abeed, A. H. (2020). Spermine-priming restrained water relations and biochemical deteriorations prompted by water deficit on two soybean cultivars. *Heliyon*, 6(5), e04038. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04038>
- Du, Y., Zhao, Q., Chen, L., Yao, X., Zhang, W., Zhang, B., & Xie, F. (2020). Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.003>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Biochemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Ebeed, H. T., Hassan, N. M., & Aljarani, A. M. (2017). Exogenous applications of polyamines modulate drought responses in wheat through osmolytes accumulation, increasing free polyamine levels and regulation of polyamine biosynthetic genes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 438–448. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.014>
- Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., & Nogueira, D. A. (2018). *ExpDes: Experimental Designs*. R package version 1.2.0.
- Friendly, M., & Fox, J. (2017). *candisc: visualizing generalized canonical discriminant and canonical correlation analysis*. R package version 0.8-0.

- Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Qin, X. S., Gan, R. Y., & Li, H. B. (2010). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 wild fruits from South China. *Molecules*, *15*, 8602–8617. <https://doi.org/10.3390/molecules15128602>
- Fu, X. Z., Xing, F., Wang, N. Q., Peng, L. Z., Chun, C. P., Cao, L., Ling, L.L., & Jiang, C. L. (2014). Exogenous spermine pretreatment confers tolerance to combined high-temperature and drought stress in vitro in trifoliolate orange seedlings via modulation of antioxidative capacity and expression of stress-related genes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *28*(2), 192–198. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.909152>
- Ghassemi, S., Farhangi-Abriz, S., Faegi-Analou, R., Ghorbanpour, M., & Lajayer, B. A. (2018). Monitoring cell energy, physiological functions and grain yield in field-grown mung bean exposed to exogenously applied polyamines under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *18*(4), 1108–1125. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162018005003102>
- Girardi, L. B., Peiter, M. X., Bellé, R. A., Robaina, A. D., Torres, R. R., Kirchner, J. H., & Ben, L. H. B. (2016). Evapotranspiration and crop coefficients of potted *Alstroemeria × Hybrida* grown in greenhouse. *Irriga*, *21*(4), 817–829. <http://dx.doi.org/10.15809/irriga.2016v21n4p817-829>
- Gonçalves, M., Rodrigues-Jasso, M. R., Gomes, N., Teixeira, J. A., & Belo, I. (2010). Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microliter plates. *Analytical Methods*, *2*(12), 2046–2048. <https://doi.org/10.1039/c0ay00525h>
- Guo, R., Shi, L., Jiao, Y., Li, M., Zhong, X., Gu, F., Liu, Q., Xia, X., & Li, H. (2018). Metabolic responses to drought stress in the tissues of drought-tolerant and drought-sensitive wheat genotype seedlings. *AoB Plants*, *10*(2), ply016. <https://doi.org/10.1093/aobpla/ply016>
- Hasan, M. M., Skalicky, M., Jahan, M. S., Hossain, M. N., Anwar, Z., Nie, Z. F., Alabdallah, N. M., Brestic, M., Hejnak, V., & Fang, X. W. (2021). Spermine: its emerging role in regulating drought stress responses in plants. *Cells*, *10*(2), 261. <https://doi.org/10.3390/cells10020261>
- Havir, E. A., & McHale, N. A. (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, *84*, 450–455. <https://doi.org/10.1104/pp.84.2.450>
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics*, *125*, 189–198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

- Kämpf, A. N., Takane, R. J., & Siqueira, P. T. V. (2006). *Floricultura: técnicas de preparo de substratos*. Brasilia, DF: LK. 129 p.
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, *57*, 315–319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Khaleghi, A., Naderi, R., Brunetti, C., Maserti, B. E., Salami, S. A., & Babalar, M. (2019). Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclura pomifera* to drought stress. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55889-y>
- Krishnan, S., & Merewitz, E. B. (2017). Polyamine application effects on gibberellic acid content in creeping bentgrass during drought stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *142*(2), 135–142. <https://doi.org/10.21273/JASHS03991-16>
- Li, L., Gu, W., Li, C., Li, W., Li, C., Li, J., & Wei, S. (2018b). Exogenous spermidine improves drought tolerance in maize by enhancing the antioxidant defence system and regulating endogenous polyamine metabolism. *Crop and Pasture Science*, *69*(11), 1076–1091. <https://doi.org/10.1071/CP18271>
- Li, L., Gu, W., Li, J., Li, C., Xie, T., Qu, D., Meng, Y., Li, C., & Wei, S. (2018a). Exogenously applied spermidine alleviates photosynthetic inhibition under drought stress in maize (*Zea mays* L.) seedlings associated with changes in endogenous polyamines and phytohormones. *Plant Physiology and Biochemistry*, *129*, 35–55. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.017>
- Liu, J. H., Wang, W., Wu, H., Gong, X., & Moriguchi, T. (2015). Polyamines function in stress tolerance, from synthesis to regulation. *Frontiers in Plant Science*, *6*, 827. <https://http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.00827>
- Mahajan, M., Kuiry, R., & Pal, P. K. (2020). Understanding the consequence of environmental stress for accumulation of secondary metabolites in medicinal and aromatic plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *18*, 100255. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2020.100255>
- Majumdar, R., Barchi, B., Turlapati, S. A., Gagne, M., Minocha, R., Long, S., & Minocha, S. C. (2016). Glutamate, ornithine, arginine, proline, and polyamine metabolic interactions: the pathway is regulated at the post-transcriptional level. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 78. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00078>
- Mo, Y. L., Wang, Y. Q., Yang, R. P., Zheng, J. X., Liu, C. M., Li, H., Ma, J. X., Zhang, Y., Wei, C. H., & Zhang, X. (2016). Regulation of plant growth, photosynthesis, antioxidation and osmosis by an arbuscular mycorrhizal fungus in watermelon seedlings

- under wellwatered and drought conditions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 454. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00644>
- Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Sher, A., Ma, C., Wang, X., & Qiu, L. (2019). Research progress and perspective on drought stress in legumes: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2541. <https://doi.org/10.3390/ijms20102541>
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Pál, M., Szalai, G., & Janda, T. (2015) Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Science*, 237, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003>
- Peterson, B. G., & Carl, C. (2020). *PerformanceAnalytics: econometric tools for performance and risk analysis*. R package version 2.0.4.
- R Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria.
- Radhakrishnan, R., & Lee, I. J. (2013). Spermine promotes acclimation to osmotic stress by modifying antioxidant, abscisic acid, and jasmonic acid signals in soybean. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 22–30. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9274-8>
- Raja, V., Qadir, S. U., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2020). Impact of drought and heat stress individually and in combination on physio-biochemical parameters, antioxidant responses, and gene expression in *Solanum lycopersicum*. *3 Biotech*, 10(5), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02206-4>
- Sequera-Mutiozabal, M., Antoniou, C., Tiburcio, A. F., Alcázar, R., & Fotopoulos, V. (2017). Polyamines: emerging hubs promoting drought and salt stress tolerance in plants. *Current Molecular Biology Reports*, 3, 28–36. <https://doi.org/10.1007/s40610-017-0052-z>
- Shi, H., Ye, T., & Chan, Z. (2013). Comparative proteomic and physiological analyses reveal the protective effect of exogenous polyamines in the bermudagrass (*Cynodon dactylon*) response to salt and drought stresses. *Journal of Proteome Research*, 12(11), 4951–4964. <https://doi.org/10.1021/pr400479k>
- Shukla, V., Ma, Y., & Merewitz, E. (2015). Creeping bentgrass responses to drought stress and polyamine application. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 140(1), 94–101. <https://doi.org/10.21273/JASHS.140.1.94>
- Silva, T. I., Dias, M. G., Araújo, N. O., Santos, M. N. S., Cruz, R. R. P., Dias, T. J., Ribeiro, W. S., Grossi, J. A. S., & Barbosa, J. G. (2022). Spermine reduces the harmful effects of salt stress in *Tropaeolum majus*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28, 687–696. <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01165-9>

- Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T., & Saviouré, A. (2015). Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany*, *115*(3), 433–447. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu239>
- Sobieszczuk-Nowicka, E., & Legocka, J. (2014). Plastid-associated polyamines, their role in differentiation, structure, functioning, stress response and senescence. *Plant Biology*, *16*, 297–305. <https://http://dx.doi.org/10.1111/plb.12058>
- Tiburcio, A. F., Altabella, T., Bitrián, M., & Alcázar, R. (2014). The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. *Planta*, *240*, 1–18. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2055-9>
- Valsalam, S., Agastian, P., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ghilan, A. K. M., Kaviyarasu, K., Ravindran, B., Chang, S. W., & Arokiyaraj, S. (2019). Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced in-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *191*, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.010>
- Xu, W., Lu, N., Kikuchi, M., & Takagaki, M. (2021). Continuous lighting and high daily light integral enhance yield and quality of mass-produced nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) in plant factories. *Plants*, *10*(6), 1203. <https://doi.org/10.3390/plants10061203>
- Yang, X., Han, Y., Hao, J., Qin, X., Liu, C., & Fan, S. (2022). Exogenous spermidine enhances the photosynthesis and ultrastructure of lettuce seedlings under high-temperature stress. *Scientia Horticulturae*, *291*, 110570. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110570>
- Yemm, E. W., Cocking, E. C., & Ricketts, R. E. (1955). The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst*, *80*(948), 209–214.
- Zhang, K., Zhang, Y., Sun, J., Meng, J., & Tao, J. (2021). Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. *Plant Physiology and Biochemistry*, *158*, 475–485. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.031>

Artigo III**ESPERMINA NA PRODUÇÃO DE ETILENO, AÇÚCARES E COMPOSTOS
FENÓLICOS EM FLORES DE CAPUCHINHA CULTIVADAS SOB DÉFICIT
HÍDRICO E ESTRESSE SALINO**

ESPERMINA NA PRODUÇÃO DE ETILENO, AÇÚCARES E COMPOSTOS FENÓLICOS EM FLORES DE CAPUCHINHA CULTIVADAS SOB DÉFICIT HÍDRICO E ESTRESSE SALINO

Resumo

A capuchinha (*Tropaeolum majus*) é uma planta ornamental e medicinal que possui flores comestíveis. A seca e o estresse salino diminuem a produção e a qualidade das flores, inclusive afetando o metabolismo de açúcares e a produção de etileno. O uso de poliaminas, principalmente espermina, pode ser uma estratégia para reduzir os efeitos danosos desses estresses no metabolismo de açúcares e compostos fenólicos e para diminuir a produção de etileno, que acelera a senescência, em flores de capuchinha. Portanto, o objetivo foi avaliar o papel da aplicação de espermina nos açúcares e compostos fenólicos e na produção de etileno em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino. Dois experimentos foram realizados isoladamente e ao mesmo tempo para conseguir isso. Um experimento no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com 0 (sem estresse), 40 (estresse salino moderado) e 80 mM NaCl (estresse salino severo) e 0 e 1 mM de espermina com cinco repetições foi usado para o experimento com estresse salino. Um experimento distribuído em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com 30 (déficit hídrico severo), 50 (déficit hídrico moderado) e 80% da capacidade de retenção de vaso (sem estresse) e 0 e 1 mM de espermina com cinco repetições foi usado para o experimento com déficit hídrico. A aplicação de espermina diminuiu a produção de etileno e aumentou o teor de açúcares e compostos fenólicos em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino. Açúcares e compostos fenólicos reduziram a produção de etileno em flores de capuchinha. A espermina pode ser usada para mitigar os efeitos nocivos déficit hídrico e do estresse salino em flores de capuchinha, aumentando os teores de açúcares e compostos fenólicos e diminuindo a produção de etileno.

Palavras-chave: *Tropaeolum majus*, estresses abióticos, poliamina, metabolismo de açúcar e fenólicos

SPERMINE ON PRODUCTION OF ETHYLENE, SUGARS AND PHENOLIC COMPOUNDS IN NASTURTIUM FLOWERS GROWN UNDER DROUGHT AND SALT STRESS

Abstract

Nasturtium (*Tropaeolum majus*) is an ornamental and medicinal plant that has edible flowers. Drought and salt stress decrease flower production and quality, including affecting sugar metabolism and ethylene production. The use of polyamines, mainly spermine, may be a strategy for reducing the harmful effects of these stresses on the metabolism of sugars and phenolic compounds and for decreasing the production of ethylene, which accelerates senescence, in nasturtium flowers. Therefore, the objective was to evaluate the role of spermine application on sugar and phenolic compounds and on ethylene production in nasturtium flowers grown under drought and salt stress. Two experiments were performed in isolation and at the same time in order to achieve this. An experiment distributed in a completely randomized design, in a 3x2 factorial scheme, with 0 (no stress), 40 (moderate salt stress), and 80 mM NaCl (severe salt stress) and 0 and 1 mM spermine with five replications was used for the experiment with salt stress. An experiment distributed in a completely randomized design, in a 3x2 factorial scheme, with 30 (severe drought stress), 50 (moderate drought stress), and 80% pot holding capacity (no stress) and 0 and 1 mM spermine with five replications was used for the experiment with drought stress. Spermine down-regulated ethylene production and up-regulated the content of sugars and phenolic compounds on nasturtium flowers grown under drought and saline stress. Sugars and phenolic compounds down-regulated ethylene production in nasturtium flowers. Spermine can be used to mitigate the harmful effects of drought and salt stress on nasturtium flowers by increasing sugar and phenolic compounds and decreasing ethylene production.

Keywords: *Tropaeolum majus*, abiotic stresses, polyamine, sugar and phenolic metabolism

4.3. Introdução

A capuchinha (*Tropaeolum majus* L. – Tropaeolaceae) é uma planta com flores comestíveis cultivada em diversas regiões do mundo. As flores de capuchinha são uma das principais flores comestíveis comercializadas. O sabor picante de suas flores confere a esta planta uma característica peculiar. As folhas e flores frescas são consumidas principalmente em saladas e sanduíches (Xu et al., 2021), mas também é uma excelente flor para decoração de pratos e uma alternativa de cultivo para pequenos e médios produtores. Além disso, esta planta possui glicosinolatos, flavonóides, ácidos graxos e tiocianatos, um conjunto de substâncias nutracêuticas muito importantes para a saúde humana (Valsalam et al., 2019).

A capuchinha é uma planta cultivada em muitas partes do mundo; no entanto, muitas regiões têm vários estresses abióticos que podem diminuir o crescimento e a produção das

plantas. As plantas, em condições naturais e/ou agrícolas, estão expostas a diversos estresses ambientais (Seleiman et al., 2021). O estresse salino e a seca são dois dos principais estresses abióticos que podem afetar o metabolismo das plantas (Ma et al., 2020). Cerca de 10% das terras aráveis em todo o mundo sofrem de estresse hídrico e salinidade, especialmente em regiões áridas ou semiáridas (Liu et al., 2022). A salinização do solo aumenta anualmente em todo o mundo devido às mudanças climáticas, alta evaporação, baixa precipitação, má gestão da água, fertilização em áreas de cultivo e irrigação com água salina (Nachshon, 2018; Ors et al., 2021). A seca também é uma preocupação para a produção agrícola atual, dada a escassez de água e chuvas irregulares em várias regiões (Shemi et al., 2021). As respostas das plantas ao estresse salino e à seca são semelhantes, como estresse osmótico e diminuição do potencial hídrico, que levam à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), fechamento estomático, diminuição da absorção de água e redução do crescimento e produção (Yolcu et al., 2021).

A seca e o estresse salino dificultam o cultivo de flores comestíveis em vários lugares do mundo, principalmente em regiões áridas e semiáridas. Esses são os dois estresses abióticos mais comuns, que causam distúrbios no crescimento e produtividade das culturas em todos os estágios de desenvolvimento (Ors et al., 2021). Esses estresses podem causar vários tipos de danos ao metabolismo da planta, como estresse osmótico, danos ao aparelho fotossintético, diminuição da eficiência do uso da água e até morte em situações mais extremas (Abd El-Mageed e Semida, 2015). A busca por alternativas para minimizar os danos causados por estresses abióticos é constante. O uso de fitohormônios, como as poliaminas, é uma alternativa promissora para permitir a aclimatação das plantas à seca e ao estresse salino.

As poliaminas participam na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas. No entanto, seu metabolismo sofre mudanças profundas durante o estresse abiótico (Gonzalez et al., 2021). As poliaminas são um grupo de moléculas alifáticas, policatiônicas e de baixo peso molecular com dois ou mais grupos amina sintetizados a partir de aminoácidos e são encontradas em todos os seres vivos (Michael, 2016; Navakoudis e Kotzabasis, 2022). A espermidina e a putrescina estão presentes em todos os organismos que sintetizam poliaminas, enquanto a espermina, a termospermina e a cadaverina não estão presentes em todos os organismos (Gerlin et al., 2021). As poliaminas desempenham um papel fundamental na homeostase redox, pois o seu aumento, especialmente a espermina, atua na eliminação de radicais hidroxila e participa no aumento dos níveis de H_2O_2 através do seu catabolismo por amina oxidases, controlando assim os níveis de EROs (Pottosin et al., 2014) e reduzindo a danos causados por estas.

As poliaminas, particularmente a espermina, interagem com o equilíbrio oxidativo e o metabolismo de açúcar e nitrogênio (transporte de aminoácidos/biossíntese) (Sequera-Mutiozabal et al., 2016). Além disso, elas influenciam a produção de etileno impedindo a transcrição e a atividade da enzima 1-ácido-carboxílico-1-aminociclopropano sintase (ACS), bem como a ação do etileno (Dias et al., 2010; Champa et al. 2015). A ação combinada desses fatores pode retardar a senescência, diminuindo o dano oxidativo. Além disso, os açúcares podem interagir com a biossíntese e sinalização de etileno para regular a senescência floral de espécies sensíveis ao etileno (Yuan et al., 2012). O etileno aumenta a senescência, enquanto as poliaminas a inibem (Del Duca et al., 2014). O efeito anti-senescência das poliaminas é devido à inibição da biossíntese e ação do etileno mediada por poliaminas (Dias et al., 2010; Hasan et al., 2021).

O papel da espermina em influenciar os teores de açúcares e compostos fenólicos e a produção de etileno em flores de capuchinha ainda não foi elucidado. Tampouco essa ação em flores de capuchinha cultivadas sob estresse hídrico e salino foi adequadamente estudada. Portanto, o objetivo foi avaliar o papel da aplicação de espermina nos açúcares e compostos fenólicos e na produção de etileno em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino.

4.4. Material e Métodos

4.4.1. Local do experimento

Dois experimentos foram realizados isoladamente e ao mesmo tempo para avaliar o papel da aplicação de espermina sobre açúcares e compostos fenólicos e produção de etileno em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação no Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

4.4.2. Material vegetal e delineamento experimental

Sementes de *T. majus* (var. Semi-dobrada sortida - Feltrin[®]) foram plantadas em bandeja de poliestireno de 128 células com substrato comercial (Tropstrato). As mudas foram transplantadas para vasos de 1,2 dm³ com substrato comercial (Tropstrato), aos 12 dias após o plantio. A espermina foi diluída em água deionizada com 0,05% de Tween 20 (v/v). O tratamento controle foi água deionizada e 0,05% de Tween 20. As plantas foram pulverizadas com 10 mL de cada solução a cada sete dias durante quatro semanas.

O experimento para avaliar o estresse hídrico foi distribuído em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com três lâminas de irrigação (30 (estresse severo), 50 (estresse moderado) e 80% (sem estresse) da capacidade de retenção de vaso) e duas doses de espermina (0 e 1 mM), com cinco repetições. O início dos tratamentos foi 20 dias após o plantio (oito dias após o transplante). A determinação da capacidade de retenção de vaso (CRV) foi realizada conforme metodologia descrita por Kämpf et al. (2006). A fórmula utilizada foi: $PV = (PV_{crv} - PV_{sec}) \times CRV + PV_{sec}$, onde: PV = peso do vaso, PV_{crv} = capacidade de retenção de água, PV_{sec} = peso do vaso preenchido com substrato totalmente seco, CRV = lâmina de reposição de água (Girardi et al., 2016). A manutenção da CRV foi realizada diariamente em todos os vasos, pesando-os e repondo o volume de água perdido por evapotranspiração, utilizando-se balança com capacidade de 10 kg. As plantas foram fertirrigadas com 4 g L⁻¹ de fertilizante NPK (20-20-20) + micronutrientes (Peters Professional®), uma vez por semana.

O experimento para avaliar o estresse salino também foi distribuído em esquema fatorial 3x2, com três intensidades de estresse salino (0, 40 (estresse salino moderado) e 80 (estresse salino severo) mM de NaCl), duas doses de espermina (0 e 1 mM de espermina – Silva et al., 2022) e cinco repetições. O estresse salino foi iniciado aos 20 dias após o plantio.

4.4.3. Variáveis analisadas

4.4.3.1. Análises de açúcares redutores e não redutores

Açúcares solúveis foram extraídos de aproximadamente 2 g de folha fresca moída e homogeneizados em etanol 80% aquecido a 85 °C. O extrato foi centrifugado por 8 min a 12.000 g. O sobrenadante foi recolhido e o precipitado foi extraído mais uma vez com etanol a 80%. O método do fenol sulfúrico (Dubois et al., 1956) foi utilizado para determinar o teor de açúcares solúveis totais (AST) na amostra. O ensaio contendo 0,25 mL de sobrenadante, 0,25 mL de fenol a 5% e 1,25 mL de H₂SO₄ concentrado foi incubado a 30 °C por 20 min. Após resfriamento, a absorbância foi medida a 490 nm. O AST foi expresso em porcentagens de AST por massa fresca de folhas, utilizando-se a sacarose como padrão.

O teor de açúcares redutores (AR) foi quantificado pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) proposto por Gonçalves et al. (2010), com modificações. 0,5 mL de sobrenadante foi adicionado a 0,5 mL de reagente DNS e os tubos foram aquecidos por 5 min. Após resfriamento em banho de gelo, 4 mL de água foram adicionados e a absorbância foi lida a 540 nm. A frutose foi utilizada como padrão e o teor de AR foi determinado em porcentagem

de AR por massa fresca de folhas. O teor de açúcar não redutor (ANR) foi estimado pela diferença entre AST e AR, com resultados expressos em porcentagem de ANR por massa fresca de folhas.

4.4.3.2. Análise de compostos fenólicos totais

O mesmo extrato usado para a análise de açúcares também foi usado para compostos fenólicos. O ácido gálico foi usado como padrão para determinar o teor de fenólicos de acordo com Fu et al. (2010). A absorvância foi determinada por espectrofotômetro a 760 nm e o teor foi expresso em mg g^{-1} de massa fresca.

4.4.3.3. Medição de etileno

A produção de etileno foi determinada usando uma amostra de uma flor colocada em um recipiente (38 mL) hermeticamente fechado. Após 17 h, 1 mL da atmosfera interna do recipiente foi extraído com uma seringa e o etileno foi quantificado em cromatógrafo a gás (Hewlett-Packard 5890, série II). As temperaturas da coluna, entrada e detector de ionização de chama foram mantidas em 60, 110 e 150 °C, respectivamente. A produção de etileno foi expressa em $\text{pmol etileno g}^{-1} \text{MF h}^{-1}$.

4.4.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey por meio do pacote estatístico ExpDes (Ferreira et al., 2018). Uma análise de variáveis canônicas com elipses de confiança ($p \leq 0,01$) foi realizada para estudar a inter-relação entre variáveis e fatores usando o pacote candisc (Friendly e Fox, 2017). Os dois fatores foram combinados para realizar esta análise. A análise de correlação de Pearson foi realizada usando os pacotes corrplot (Wei e Simko, 2017) e PerformanceAnalytics (Peterson e Carl, 2020). O programa estatístico R (R Core Team, 2021) foi usado para realizar as análises estatísticas.

4.5. Resultados

A aplicação de espermina diminuiu a produção de etileno em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico moderado (24,35%) e severo (17,95%) e estresse salino moderado (55,48%) e severo (72,31%). A produção de etileno foi a mesma em flores cultivadas sob déficit hídrico moderado e severo, e o mesmo comportamento ocorreu em flores sob estresse salino moderado e severo em plantas sem aplicação de espermina. A aplicação de espermina aumentou

o teor de compostos fenólicos totais em flores cultivadas sob déficit hídrico moderado (48,91%) e déficit hídrico severo (13,99%) e em flores cultivadas sob estresse salino severo (252,11%) (Figura 1).

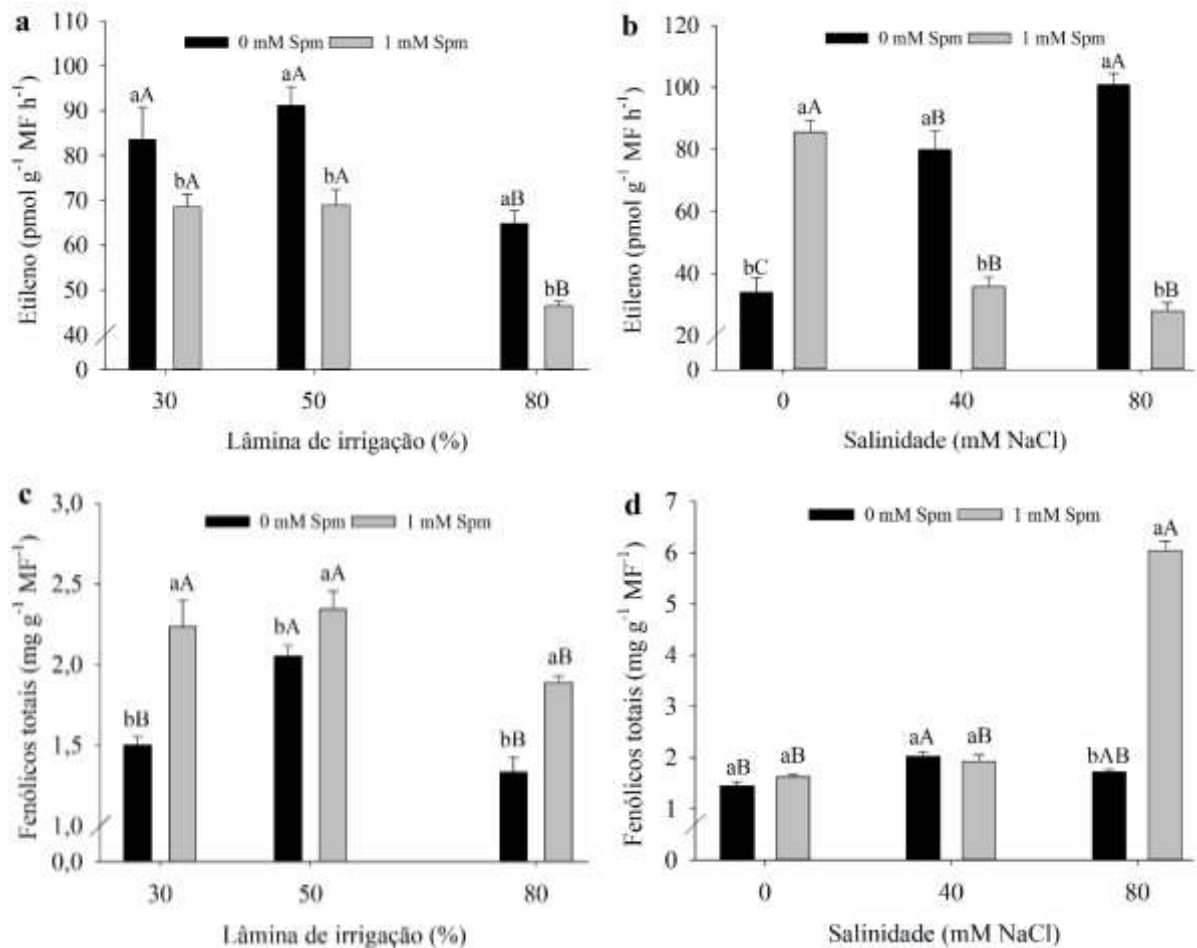


Figura 1. Produção de etileno e teor de compostos fenólicos totais de flores de *Tropaeolum majus* cultivadas sob estresse hídrico (a e c) e salino (b e d). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas e maiúsculas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para espermina e estresses salino/hídrico, respectivamente. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 5).

A aplicação de espermina aumentou os teores de açúcares redutores (44,75%), açúcares não redutores (56,51%) e açúcares totais (56,10%) em flores cultivadas sob déficit hídrico severo, mas diminuiu todos essas variáveis em flores sob déficit hídrico moderado (6,68, 18,49 e 18,13%, respectivamente). Flores cultivadas sob aplicação de espermina e déficit hídrico severo e moderado tiveram maior teor de açúcares redutores em relação às plantas sem estresse e com espermina (29,63 e 20,62%, respectivamente). A aplicação de espermina aumentou os teores de açúcares redutores em flores cultivadas sob estresse salino moderado (24,20%) e

severo (19,06%), além de aumentar os teores de açúcar total em flores sob estresse salino severo (16,30%) (Figura 2).

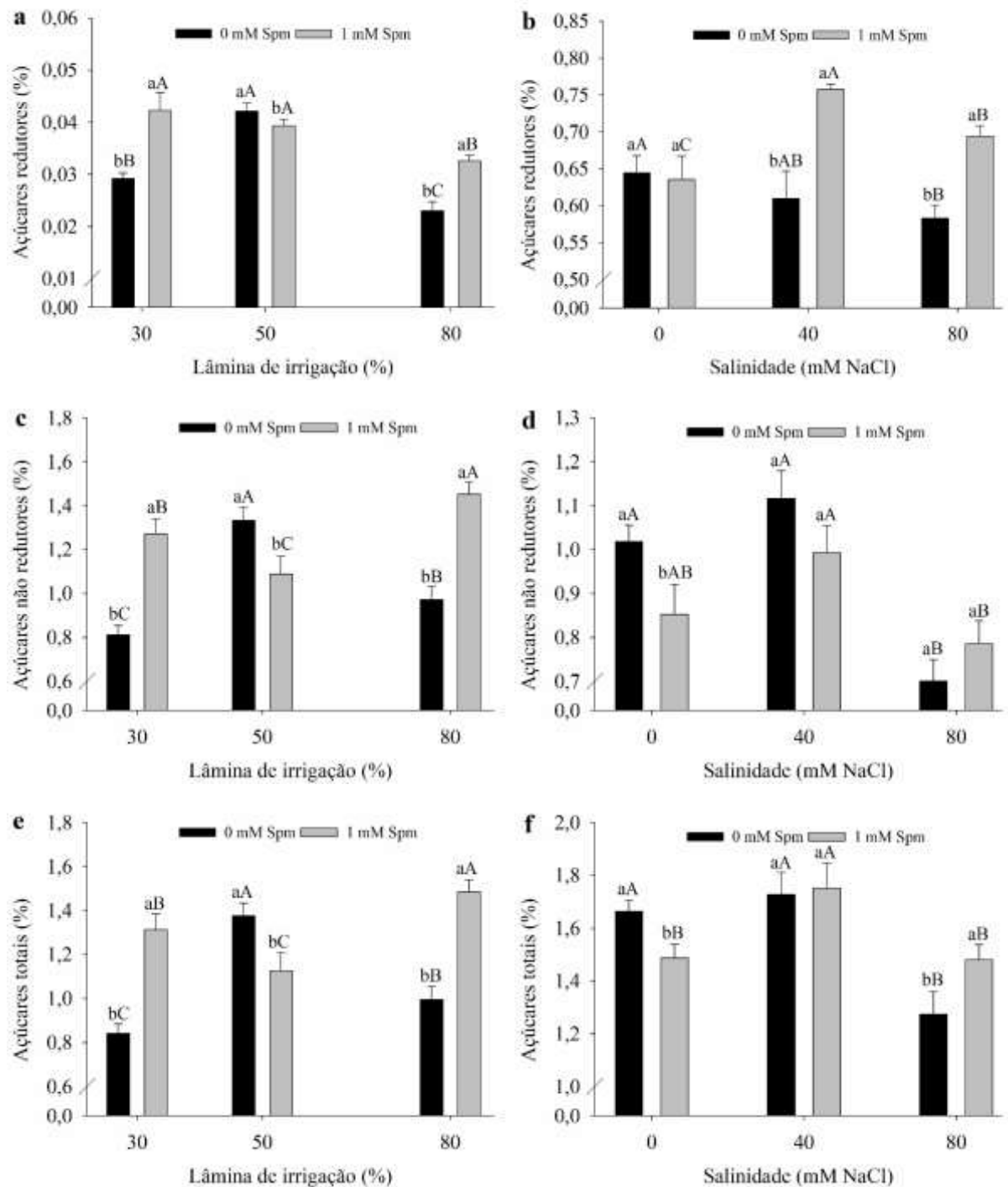


Figura 2. Açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais de flores de *Tropaeolum majus* cultivadas sob estresse hídrico (a, c e e) e estresse salino (b, d e f). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas e maiúsculas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para espermina e estresses salino/hídrico, respectivamente. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 5).

O teor de compostos fenólicos totais (Fen) e açúcares redutores (AR) tiveram os maiores valores em flores cultivadas sob aplicação de espermina e sob déficit hídrico moderado (50P1) e severo (30P1), enquanto o teor de açúcares não redutores (ANR) e açúcares totais (AT) tiveram maiores valores em flores sob aplicação de espermina e sob déficit hídrico severo e sem este estresse (80P1) (Figura 3a). Para o estresse salino, a produção de etileno teve maior valor em flores cultivadas sob estresse salino severo e sem aplicação de espermina (80P0). Os teores de açúcares tiveram maiores valores em flores cultivadas sob aplicação de espermina e estresse salino moderado (40P1) e em plantas sem estresse e sem aplicação de espermina (0P0); não houve diferença entre esses dois tratamentos. O teor de compostos fenólicos teve maior valor em flores cultivadas sob estresse salino severo e aplicação de espermina (80P1) (Figura 3b).

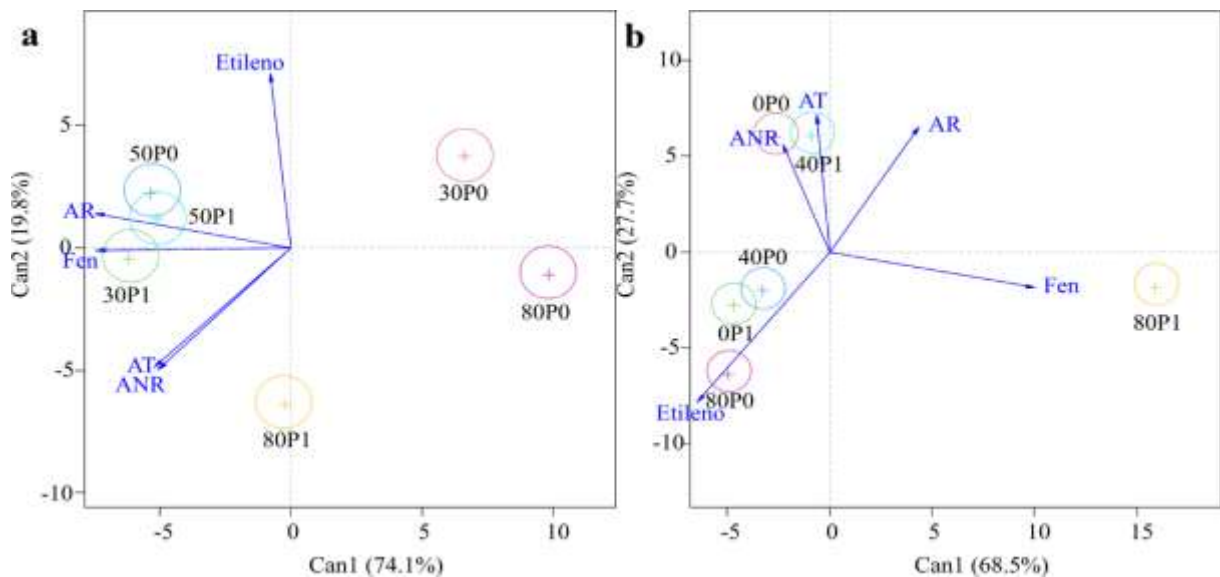


Figura 3. Análise de variáveis canônicas com elipses de confiança de flores de *Tropaeolum majus* cultivadas sob déficit hídrico (a) e estresse salino (b).

O teor de compostos fenólicos totais (Fen), açúcares não redutores (ANR) e açúcares totais (AT) reduziram a produção de etileno em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico. Os teores de açúcares aumentaram o teor de compostos fenólicos (Figura 4a). Os teores de compostos fenólicos totais e açúcares reduziram a produção de etileno de flores de capuchinha cultivadas sob estresse salino. Os teores de açúcares redutores e não redutores aumentaram o teor de compostos fenólicos (Figura 4b).

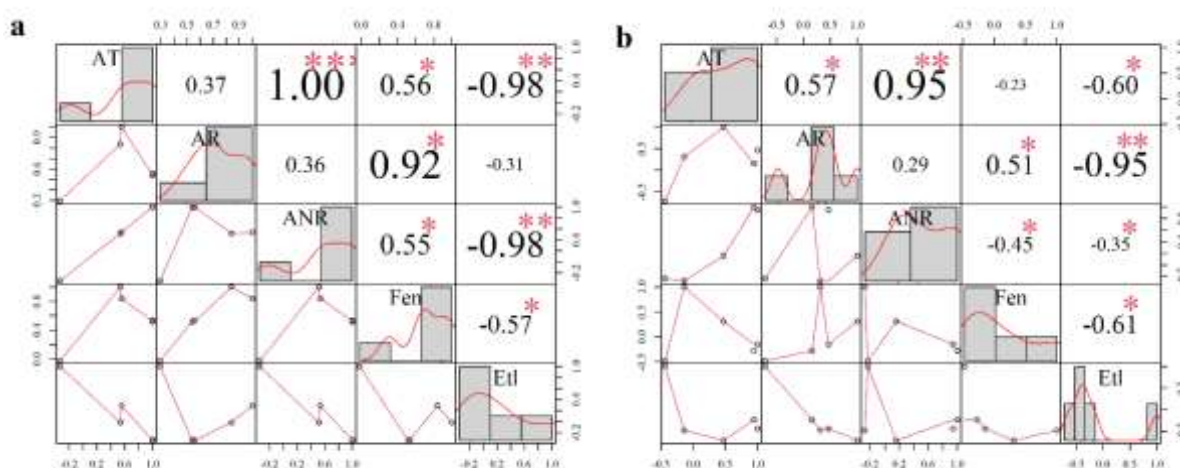


Figura 4. Correlação de Pearson entre as variáveis analisadas de flores de *Tropaeolum majus*, cultivadas sob déficit hídrico (a) e estresse salino (b). *,** significativo a 5 e 1%, respectivamente.

4.6. Discussão

A aplicação de espermina diminuiu a produção de etileno em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino devido à diminuição da senescência mediada pela aplicação desse fitormônio. A aplicação de espermina diminuiu também a produção de etileno em milho (*Zea mays* L.) cultivado sob déficit hídrico (Talaat e Shawky, 2016). A aplicação de espermina aumentou o teor de compostos fenólicos totais em flores cultivadas sob os estresses acima mencionados, pois esse fitohormônio facilita o acúmulo de compostos fenólicos que atuam como sequestradores de espécies reativas de oxigênio (EROs) e antioxidantes essenciais para proteger as plantas contra danos oxidativos (Ghabel e Karamian, 2020). O aumento de compostos fenólicos em *Glycyrrhiza glabra* L. sob estresse por frio foi relatado como sendo devido à capacidade deste antioxidante e neutralização de EROs em resposta ao estresse (Ghabel e Karamian, 2020). Assim, o aumento de compostos fenólicos pode ser uma resposta induzida para lidar com o estresse oxidativo (Bashandy et al., 2020). A espermina foi descrita como produtora de efeito antioxidante em flores de *Nicotiana plumbaginifolia* L. (Nisar et al., 2015).

A aplicação de espermina aumentou o teor de açúcares em flores cultivadas sob estresse hídrico e salino, pois esse fitohormônio desempenha um papel importante na síntese de carboidratos e como regulador de crescimento em alguns processos biológicos associados à síntese de carboidratos (Ghabel e Karamian, 2020). Os açúcares são osmólitos ativos na diminuição do estresse abiótico nas plantas. A espermina tem um papel fundamental na

regulação dos osmólitos ativos em genótipos de soja (*Glycine max* L.) suscetíveis ao déficit hídrico devido à manutenção do estado hídrico em condições adversas (Dawood e Abeer, 2020). Além disso, a espermina está associada à modificação de enzimas do metabolismo de carboidratos e promove a manutenção de um maior teor de açúcares, especialmente sacarose, nas plantas (Song et al., 2015). A aplicação de espermina aumentou o teor de carboidratos solúveis em água (frutose e sacarose) em cultivares de trevo branco (*Trifolium repens* L.) cultivadas sob déficit hídrico (Li et al., 2015). A aplicação de espermidina aliviou os danos no metabolismo de carboidratos causados pelo frio em espinafre (*Spinacia oleracea* L.) (He et al., 2002). Os efeitos nocivos do estresse salino no teor de açúcar estão relacionados ao aumento da produção de EROs, o que leva à oxidação de carboidratos (Noctor et al., 2018). Além disso, as poliaminas desempenham um papel importante na eliminação de EROs e na manutenção da estabilidade das membranas (Yi et al., 2018).

O acúmulo de açúcares produz um efeito osmolítico que desempenha um grande papel na osmoproteção, regulação do ajuste osmótico, eliminação de radicais livres e proteção da membrana para aliviar os efeitos prejudiciais do estresse salino e hídrico (Krasensky e Jonak, 2012; Singh et al., 2015). Os açúcares solúveis estão associados tanto ao anabolismo quanto ao catabolismo de EROs, como o que ocorre na via oxidativa de pentose fosfato envolvida na produção de NADPH, que envolve a eliminação de EROs (Hu et al., 2012). O acúmulo de açúcares previne a oxidação da membrana celular (Arabzadeh, 2012), reduz a taxa fotossintética e o fechamento estomático (Osakabe et al., 2013) e mantém o teor de água foliar (Xu et al., 2007) de plantas sob déficit hídrico.

A produção de etileno foi maior em flores cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino sem espermina porque as poliaminas, incluindo a espermina, inibem a ACS (Takahashi et al., 2010), uma enzima chave na síntese de etileno, e o etileno é um inibidor direto da arginina descarboxilase (ADC) e S-adenosilmetionina descarboxilase (SAMDC) (Pál et al., 2015). A aplicação de espermina diminuiu a produção de etileno em flores de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) (Lee et al. 1997). Além disso, o teor de compostos fenólicos totais e açúcares teve maior relação com flores cultivadas sob estresse hídrico e salino com aplicação de espermina. Esse comportamento está relacionado ao fato da espermina ser um fitohormônio que atua no mecanismo de defesa metabólica contra o estresse oxidativo (Sequera-Mutiozabal et al., 2016). Compostos fenólicos e açúcares são vias não enzimáticas usadas para manter a homeostase celular e eliminar EROs em plantas sob estresse abiótico. O aumento de compostos fenólicos e consequente diminuição na produção de EROs em plantas sob estresse foi observado

em *Anthurium andraeanum* Linden ex André (Simões et al., 2018), *Brassica napus* L. (Bashandy et al., 2020), *G. max* (Dawood e Abeed, 2020) e *Oriza sativa* (Farooq et al., 2009).

Os teores de compostos fenólicos totais e açúcares reduziram a produção de etileno de flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino devido à atividade respiratória indutora de etileno e, conseqüentemente, uma depleção do teor de carboidratos nas flores (Costa et al., 2020). Além disso, os açúcares podem regular negativamente a síntese de etileno, como observado em flores de *Paeonia suffruticosa* Andrews sob aplicação de glicose, através da diminuição da produção de etileno devido ao atraso e inibição da atividade de ACC e ACS e supressão da ACC oxidase (ACO) (Wang et al., 2014). Adicionalmente, vale ressaltar que o crosstalk entre etileno e açúcares, principalmente glicose, ocorre parcialmente por meio da regulação transcricional de genes envolvidos na biossíntese desse fitohormônio (Andriunas et al., 2011). A regulação positiva de açúcares em proporção ao conteúdo de compostos fenólicos pode ter sido devido à ativação do sistema floral sob estresse para eliminar EROs (Torrás-Claveria et al., 2012).

4.7. Conclusão

A aplicação de espermina diminuiu a produção de etileno e aumentou o teor de açúcares e compostos fenólicos em flores de capuchinha cultivadas sob déficit hídrico e estresse salino. A espermina pode ser usada para mitigar os efeitos nocivos do déficit hídrico e do estresse salino em flores de capuchinha, mantendo os teores de açúcares e compostos fenólicos e diminuindo a produção de etileno.

4.8. Referências

- Abd El-Mageed, T.A., Semida, W.M. (2015). Effect of deficit irrigation and growing seasons on plant water status, fruit yield and water use efficiency of squash under saline soil. *Scientia Horticulturae*, 186, 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.013>
- Andriunas, F.A., Zhang, H.M., Weber, H., McCurdy, D.W., Offler, C.E., Patrick, J.W. (2011). Glucose and ethylene signalling pathways converge to regulate trans-differentiation of epidermal transfer cells in *Vicia narbonensis* cotyledons. *The Plant Journal*, 68(6), 987–998. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04749.x>
- Arabzadeh, N. (2012). The effect of drought stress on soluble carbohydrates (sugars) in two species of *Haloxylon persicum* and *Haloxylon aphyllum*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 11(1), 44–51. <https://doi.org/10.3923/ajps.2012.28.35>

- Bashandy, S. R., Abd-Alla, M. H., Dawood, M. F. (2020). Alleviation of the toxicity of oily wastewater to canola plants by the N₂-fixing, aromatic hydrocarbon biodegrading bacterium *Stenotrophomonas maltophilia*-SR1. *Applied Soil Ecology*, 154, 103654. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103654>
- Champa, W. H., Gill, M. I. S., Mahajan, B. V. C., Bedi, S. (2015). Exogenous treatment of spermine to maintain quality and extend postharvest life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Flame seedless under low temperature storage. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 412–419. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.044>
- Costa, L. C., Luz, L. M., Nascimento, V. L., Araujo, F. F., Santos, M. N., Franca, C. D. F., Silva, T. P., Fugate, K. K., Finger, F. L. (2020). Selenium-ethylene interplay in postharvest life of cut flowers. *Frontiers in Plant Science*, 11, 2055. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.584698>
- Dawood, M. F., Abeed, A. H. (2020). Spermine-priming restrained water relations and biochemical deteriorations prompted by water deficit on two soybean cultivars. *Heliyon*, 6(5), e04038. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04038>
- Del Duca, S., Serafini-Fracassini, D., Cai, G. (2014). Senescence and programmed cell death in plants: polyamine action mediated by transglutaminase. *Frontiers in Plant Science*, 5, 120. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00120>
- Dias, L. L. C., Ribeiro, D. M., Catarina, C. S., Barros, R. S., Floh, E. I. S., & Otoni, W. C. (2010). Ethylene and polyamine interactions in morphogenesis of *Passiflora cincinnata*: effects of ethylene biosynthesis and action modulators, as well as ethylene scavengers. *Plant Growth Regulation*, 62, 9–19. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9478-5>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Biochemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Farooq, M., Wahid, A., Lee, D. J. (2009). Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(5), 937–945. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0307-2>
- Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., Nogueira, D. A. (2018). ExpDes: Experimental Designs. R package version 1.2.0.
- Friendly, M., Fox, J. (2017). candisc: visualizing generalized canonical discriminant and canonical correlation analysis. R package version 0.8-0.

- Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Qin, X. S., Gan, R. Y., Li, H. B. (2010). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 wild fruits from South China. *Molecules*, 15, 8602–8617. <https://doi.org/10.3390/molecules15128602>
- Gerlin, L., Baroukh, C., Genin, S. (2021). Polyamines: double agents in disease and plant immunity. *Trends in Plant Science*, 26(10), 1061–1071. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.05.007>
- Ghabel, V. K., Karamian, R. (2020). Effects of TiO₂ nanoparticles and spermine on antioxidant responses of *Glycyrrhiza glabra* L. to cold stress. *Acta Botanica Croatica*, 79(2), 137–147. <https://doi.org/10.37427/botcro-2020-025>
- Girardi, L. B., Peiter, M. X., Bellé, R. A., Robaina, A. D., Torres, R. R., Kirchner, J. H., Ben, L. H. B. (2016). Evapotranspiration and crop coefficients of potted *Alstroemeria* × *Hybrida* grown in greenhouse. *Irriga*, 21(4), 817–829. <http://dx.doi.org/10.15809/irriga.2016v21n4p817-829>
- Gonçalves, M., Rodrigues-Jasso, M. R., Gomes, N., Teixeira, J. A., Belo, I. (2010). Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microliter plates. *Analytical Methods*, 2(12), 2046–2048. <https://doi.org/10.1039/c0ay00525h>
- Gonzalez, M. E., Jasso-Robles, F. I., Flores-Hernández, E., Rodríguez-Kessler, M., Pieckenstain, F. L. (2021). Current status and perspectives on the role of polyamines in plant immunity. *Annals of Applied Biology*, 178(2), 244–255. <https://doi.org/10.1111/aab.12670>
- Hasan, M., Skalicky, M., Jahan, M. S., Hossain, M., Anwar, Z., Nie, Z. F., Alabdallah, N. M., Brestic, M., Hejnak, V., Fang, X. W. (2021). Spermine: its emerging role in regulating drought stress responses in plants. *Cells*, 10(2), 261. <https://doi.org/10.3390/cells10020261>
- He, L., Nada, K., Kasukabe, Y., Tachibana, S. (2002). Enhanced susceptibility of photosynthesis to low-temperature photoinhibition due to interruption of chill-induced increase of S-adenosylmethionine decarboxylase activity in leaves of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Plant and Cell Physiology*, 43(2), 196–206. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcf021>
- Hu, M., Shi, Z., Zhang, Z., Zhang, Y., Li, H. (2012). Effects of exogenous glucose on seed germination and antioxidant capacity in wheat seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 68(2), 177–188. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9705-3>
- Kämpf, A. N., Takane, R. J., Siqueira, P. T. V. (2006). Floricultura: técnicas de preparo de substratos. Brasília, DF: LK. 129 p.

- Krasensky, J., Jonak, C. (2012). Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, 63(4), 1593–1608. <https://doi.org/10.1093/jxb/err460>
- Lee, M. M., Lee, S. H., Park, K. Y. (1997). Effects of spermine on ethylene biosynthesis in cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L) flowers during senescence. *Journal of Plant Physiology*, 151(1), 68–73. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(97\)80038-7](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(97)80038-7)
- Li, Z., Jing, W., Peng, Y., Zhang, X. Q., Ma, X., Huang, L. K., Yan, Y. H. (2015). Spermine alleviates drought stress in white clover with different resistance by influencing carbohydrate metabolism and dehydrins synthesis. *PLoS One*, 10(4), e0120708. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120708>
- Liu, M., Liu, X., Zhao, Y., Korpelainen, H., Li, C. (2022). Sex-specific nitrogen allocation tradeoffs in the leaves of *Populus cathayana* cuttings under salt and drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 172(1), 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.01.009>
- Ma, Y., Dias, M. C., Freitas, H. (2020). Drought and salinity stress responses and microbe-induced tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 1750. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.591911>
- Michael, A. J. (2016). Polyamines in eukaryotes, bacteria, and archaea. *Journal of Biological Chemistry*, 291(29), 14896–14903. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.734780>
- Nachshon, U. (2018). Cropland soil salinization and associated hydrology: Trends, processes and examples. *Water*, 10(8), 1030. <https://doi.org/10.3390/w10081030>
- Navakoudis, E., Kotzabasis, K. (2022). Polyamines: A bioenergetic smart switch for plant protection and development. *Journal of Plant Physiology*, 270, 153618. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153618>
- Nisar, S., Tahir, I., Ahmad, S. S. (2015). Modulation of flower senescence in *Nicotiana plumbaginifolia* L. by polyamines. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(2), 186–190. <https://doi.org/10.1007/s40502-015-0154-7>
- Noctor, G., Reichheld, J. P., Foyer, C. H. (2018). ROS-related redox regulation and signaling in plants. In: *Seminars in Cell & Developmental Biology* (v. 80, pp. 3–12). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.07.013>
- Ors, S., Ekinci, M., Yildirim, E., Sahin, U., Turan, M., Dursun, A. (2021). Interactive effects of salinity and drought stress on photosynthetic characteristics and physiology of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings. *South African Journal of Botany*, 137, 335–339. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.10.031>

- Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Tran, L. S. P. (2014). ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity. *New Phytologist*, 202(1), 35–49. <https://doi.org/10.1111/nph.12613>
- Pál, M., Szalai, G., Janda, T. (2015). Speculation: polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Science*, 237, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003>
- Peterson, B. G., Carl, P. (2020). PerformanceAnalytics: econometric tools for performance and risk analysis. R package version 2.0.4.
- Pottosin, I., Velarde-Buendía, A. M., Bose, J., Zepeda-Jazo, I., Shabala, S., Dobrovinskaya, O. (2014). Cross-talk between reactive oxygen species and polyamines in regulation of ion transport across the plasma membrane: implications for plant adaptive responses. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 1271–1283. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert423>
- R Core Team. (2021). R: A language and environment for statistical computing. Viena, Austria.
- Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroglu, T., Abdul-Wajid, H. H., Battaglia, M. L. (2021). Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, 10(2), 259. <https://doi.org/10.3390/plants10020259>
- Sequera-Mutiozabal, M. I., Erban, A., Kopka, J., Atanasov, K. E., Bastida, J., Fotopoulos, V., Alcázar, R., Tiburcio, A. F. (2016). Global metabolic profiling of *Arabidopsis* polyamine oxidase 4 (AtPAO4) loss-of-function mutants exhibiting delayed dark-induced senescence. *Frontiers in Plant Science*, 7, 173. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00173>
- Shemi, R., Wang, R., Gheith, E. S., Hussain, H. A., Hussain, S., Irfan, M., Cholidah, L., Zhang, K., Zhang, S., Wang, L. (2021). Effects of salicylic acid, zinc and glycine betaine on morpho-physiological growth and yield of maize under drought stress. *Scientific Reports*, 11(1), 3195. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82264-7>
- Silva, T. I., Dias, M. G., Grossi, J. A. S., Ribeiro, W. S., Moraes, P. J., Araújo, F. F., Barbosa, J. G. (2022). Application of phytohormones as attenuators of salt stress in *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae). *Acta Botanica Croatica*, 81(1), 51–60. <https://10.37427/botcro-2022-001>
- Simões, A. N., Diniz, N. B., Vieira, M. R. S., Ferreira-Silva, S. L., da Silva, M. B., Minatel, I. O., Lima, G. P. P. (2018). Impact of GA₃ and spermine on postharvest quality of anthurium cut flowers (*Anthurium andraeanum*) cv. Arizona. *Scientia Horticulturae*, 241, 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.06.095>
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P., Prasad, S. M. (2015). Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. *Reviews in Environmental*

Science and Bio/Technology, 14(3), 407–426. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9372-8>

- Song, J., Wang, Y., Liu, C., Li, D. (2015). Effect of exogenous spermine on quality and sucrose metabolism of vegetable soya bean (*Glycine max* L.) during cold storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(7), 1697–1703. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12828>
- Takahashi, Y., Cong, R., Sagor, G. H. M., Niitsu, M., Berberich, T., Kusano, T. (2010). Characterization of five polyamine oxidase isoforms in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Reports*, 29(9), 955–965. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0881-1>
- Talaat, N. B., Shawky, B. T. (2016). Dual application of 24-epibrassinolide and spermine confers drought stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) by modulating polyamine and protein metabolism. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(2), 518–533. <https://doi.org/10.1007/s00344-015-9557-y>
- Torras-Claveria, L., Jáuregui, O., Codina, C., Tiburcio, A. F., Bastida, J., Viladomat, F. (2012). Analysis of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry in senescent and water-stressed tobacco. *Plant Science*, 182, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.02.009>
- Valsalam, S., Agastian, P., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ghilan, A. K. M., Kaviyarasu, K., Ravindran, B., Chang, S. W., Arokiyaraj, S. (2019). Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced in-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 191, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.010>
- Wang, Y., Zhang, C., Wang, X., Wang, W., Dong, L. (2014). Involvement of glucose in the regulation of ethylene biosynthesis and sensitivity in cut *Paeonia suffruticosa* flowers. *Scientia Horticulturae*, 169, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.02.017>
- Wei, T., Simko, V. (2017). R package "corrplot": visualization of a correlation matrix. (Version 0.84).
- Xu, S. M., Liu, L. X., Woo, K. C., Wang, D. L. (2007). Changes in photosynthesis, xanthophyll cycle, and sugar accumulation in two North Australia tropical species differing in leaf angles. *Photosynthetica*, 45(3), 348–354. <https://doi.org/10.1007/s11099-007-0059-4>

- Xu, W., Lu, N., Kikuchi, M., Takagaki, M. (2021). Continuous lighting and high daily light integral enhance yield and quality of mass-produced nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) in Plant Factories. *Plants*, 10(6), 1203. <https://doi.org/10.3390/plants10061203>
- Yi, Z., Li, S., Liang, Y., Zhao, H., Hou, L., Yu, S., Ahammed, G. J. (2018). Effects of exogenous spermidine and elevated CO₂ on physiological and biochemical changes in tomato plants under iso-osmotic salt stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37(4), 1222–1234. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9856-1>
- Yolcu, S., Alavilli, H., Ganesh, P., Panigrahy, M., Song, K. (2021). Salt and drought stress responses in cultivated beets (*Beta vulgaris* L.) and wild beet (*Beta maritima* L.). *Plants*, 10(9), 1843. <https://doi.org/10.3390/plants10091843>
- Yuan, Y., Qian, H., Wang, Y., Shi, Y., Tang, D. (2012). Hormonal regulation of Freesia cutflowers and FhACS1. *Scientia Horticulturae*, 143, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.06.012>

5. CONCLUSÕES

A aplicação de espermina aumenta a tolerância ao estresse salino e déficit hídrico em capuchinha, aumentando a morfologia, trocas gasosas, teor relativo de água, enzimas do sistema antioxidante e diminuindo a peroxidação lipídica. A aplicação de espermina (1 mM) pode ser usada para mitigar os efeitos danosos do estresse salino e déficit hídrico em capuchinha.