

Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde



Thamires Soares Ricardo Jesus

MARCADORES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS
DA QUALIDADE DE SEMENTES DE *Ricinus
communis* L. SUBMETIDAS A DIFERENTES
CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

PMBqBM
Programa Multicêntrico de
Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular

Salvador
2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOFUNÇÃO
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR (PMBqBM/UFBA - SBBq)**



THAMIRES SOARES RICARDO JESUS

**MARCADORES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DA QUALIDADE
DE SEMENTES DE *Ricinus communis* L. SUBMETIDAS A
DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO**

SALVADOR

2016

THAMIRES SOARES RICARDO JESUS

**MARCADORES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DA QUALIDADE
DE SEMENTES DE *Ricinus communis* L. SUBMETIDAS A
DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular PMBqBM – UFBA/SBBq, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Biologia Molecular pela Universidade Federal da Bahia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Luzimar Gonzaga Fernandez

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Takeshi Hotta

SALVADOR

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Processamento Técnico, Biblioteca Universitária de Saúde,
Sistema de Bibliotecas da UFBA

J58 Jesus, Thamires Soares Ricardo.

Marcadores fisiológicos e bioquímicos da qualidade de sementes de *Ricinus communis* L. submetidas a diferentes condições de armazenamento / Thamires Soares Ricardo Jesus. - Salvador, 2016.

141 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Luzimar Gonzaga Fernandez.

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Takeshi Hotta.

Dissertação (mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde, Salvador; Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, São Paulo, Programa de Pós-Graduação Multicêntrico na área de Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM), 2016.

Área de concentração: Bioquímica e Biologia Molecular.

Linha de pesquisa: Biotecnologia (BT)

1. *Ricinus communis*. 2. Semente de Rícino - Qualidade. 3. Semente de Rícino - Armazenamento. 4. Antioxidantes. 5. Germinação. 6. Mamona. I. Fernandez, Luzimar Gonzaga. II. Hotta, Carlos Takeshi. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. IV. Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. V. Título.

CDU: 606


THAMIRES SOARES RICARDO JESUS

**MARCADORES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DA QUALIDADE DE
SEMENTES DE *Ricinus communis* L. SUBMETIDAS A DIFERENTES
CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM), Universidade Federal da Bahia, para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Biologia Molecular.

Salvador, 20 de abril de 2016.


BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Luzimar Gonzaga Fernandez - Orientadora
Doutora em Bioquímica/Biologia Molecular Estrutural - UPC, Espanha
Profª Associada IV, Departamento de Biofunção do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia - UFBA



Prof. Dr. Jan Willem Ligterink (Wilco Ligterink)
Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular - University of Vienna
Prof. do Departamento de Semente e Fisiologia Vegetal,
Universidade de Wageningen, Holanda - WUR



Profa. Dra. Raquel Guimarães Benevides
Doutora em Bioquímica e em Biologia Estrutural e Nanobiologia - UFC
Profª Adjunta da Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS

Dedico esta dissertação aos meus pais José Carlos e Jaimilza, e ao meu irmão Rodrigo que sempre me deram apoio, carinho, dedicação, incentivo durante a minha graduação e agora no mestrado. Vocês são a razão desta conquista.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que ele representa em minha vida.

Aos meus pais José Carlos e Jaimilza por terem me incentivado sempre a estudar, pelo apoio financeiro e moral, carinho, incentivo e amor.

Ao meu irmão Rodrigo Soares por todo apoio, amizade e cumplicidade.

Aos meus tios em especial a Jailda Soares, Amaro Jorge, Lorival Silva e Jaquito Soares pelo apoio financeiro e moral durante a minha graduação, que me deu uma excelente base para realizar o mestrado.

Aos meus primos que me deram um grande suporte durante a graduação, Sandra Soares, Juliana Soares e em especial Atila Lopes e Ramine Lopes por todo incentivo, apoio e amizade.

A Lucas de Souza pela paciência, parceria, companheirismo, dedicação e amor.

A Solange Souza, por todo amor, carinho, paciência e obrigada por fazer as melhores guloseimas para mim e por ser minha segunda mãe.

As minhas amigas de Valença, mesmo com a minha ausência por causa da correria não me abandonam, Ingrid Brito, Percida Fonseca, Isabele Menezes e Thamara Magalhães.

Obrigada a Cleidiane de Almeida e Anete Almeida grandes amigas, obrigada pelas orações e boas vibrações sempre.

Ao meu grande amigo Eliezer Santana pela grande ajuda, pela paciência, apoio e amizade.

Aos meus grandes amigos Eduardo Silva, Thiago de Jesus. Em Especial Juliana Souza e Milena Anjos, que se tornaram grandes irmãs, que estão presentes diariamente na minha vida, me suportando, me alegrando, me ajudando quando eu

fico doente. Vocês são a minha família, tudo de mais preciso que eu tenho, e que nossa amizade seja eterna.

Aos meus amigos e parceiros do mestrado Patrícia Campos, Adriana Carvalho, Edvan Sampaio, Jessica Laís, Érica Lorena, Brysa Gonçalves e em especial a Tiago Oliveira e Carolina Silva Santos, grandes amigos que me acompanham desde a graduação e me deram um enorme suporte durante o mestrado.

Aos meus companheiro e amigos do Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos – LBBB pela grande amizade, ajuda, bons conselhos e parceria: Talita Anunciação, Bianca Bonfim, Raquel Freitas, Maria Borges, Ricardo Caribé, Matheus Ferreira, Diego Agnelo, Fernando Luiz, Laiana Santiago, Thales Guimarães, Neide Conceição. E em especial a Aliomar Pacheco, Laizo Silva, Isabele Bispo, Valdir Gomes, Geiva Dória e Bianca Vilas. Eu serei grata a todos vocês.

Agradeço aos pós-graduandos do laboratório LBBB que estão presentes e os que saíram do laboratório, obrigada por toda ajuda Ivana Virgens, Paulo Ribeiro, Adilson Nunes, Rafael Simões, Cristiane Brito, Marília Mércia. Mas em especial a Cimille Antunes, pela amizade, pelos bons conselhos, grande ajuda e paciência.

Aos professores do laboratório LBBB por todo suporte e ajudas diárias, ao Professor Renato Delmondez, e em especial a professora Daniele Takahashi que tem sido um anjo na minha vida e me ajudou muito. E a professora Marta Bruno Loureiro, que conheço desde a graduação, que me ajudou muito, muito mesmo. Obrigada por ser essa pessoa maravilhosa com um coração enorme e generoso. Obrigada por todas as oportunidade e indicações que a senhora fez por mim.

Ao professor Carlos Takeshi Hotta, meu co-orientador no programa, pelas contribuições e sugestões quando da correção do projeto e do relatório. Muito obrigada pela atenção dispensada.

Ao professor Wilco Ligterink e a professora Raquel Guimarães por aceitarem o convite como membros da Banca de Avaliação da defesa de dissertação e por todas as sugestões e contribuições quanto à correção deste trabalho.

Meu agradecimento especial a Professora Luzimar Gonzaga Fernandez, minha orientadora, uma pessoa que eu aprendi a admirar a cada dia, pela sabedoria,

inteligência e bom humor. Obrigada professora, pela oportunidade, paciência, confiança e por toda ajuda que a senhora me deu durante o mestrado e muito obrigada pelo conselho e ajuda na correção do meu trabalho para a seleção do doutorado. Eu sou muito grata à senhora por tudo.

A Universidade Federal da Bahia, por me acolher na minha graduação em biotecnologia e agora na pós-graduação. A secretaria do Colegiado Local PMBqBM/UFBA pelo tratamento que nos oferece a cada dia, iniciando pela Secretária Renilta Silva, Patrícia Campos e agora Pedro Nunes.

A Fundação de Amparo a Pesquisa da Bahia – FAPESB, pelo apoio financeiro concedendo a bolsa. Ao CNPq, CAPES/PNPD e PETROBRÁS pelo recurso liberado para os projetos ao qual meu projeto de mestrado está vinculado.

*“Existe pessoas certas em momentos errados,
Existe pessoas erradas em momentos certos,
Existe pessoas certas em momentos certos,
Tudo é questão de tempo e espaço,
Tudo é questão de destino”.*

JULIANO GOUVÊA

RESUMO

Marcadores fisiológicos e bioquímicos da qualidade de sementes de *Ricinus communis* L. submetidas a diferentes condições de armazenamento.

A mamona (*Ricinus communis* L.) apresenta um grande destaque na agricultura brasileira, devido a suas diversas aplicabilidades na indústria, sendo uma alternativa na geração de emprego e renda para o agricultor familiar da região semiárida do nordeste brasileiro. No armazenamento, a qualidade inicial das sementes e condições do ambiente influencia no processo de deterioração. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito de diferentes condições de temperatura (T) e umidade relativa (UR) durante doze meses de armazenamento nas características fisiológicas e bioquímicas de sementes de *Ricinus communis* L.. Foram utilizadas sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu, armazenadas em quatro condições diferentes: (1) com a umidade relativa e a temperatura controlada – URTC; (2) com o controle da umidade relativa – URC; (3) com o controle da temperatura – TC; (4) com umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL. Os ensaios fisiológicos (germinação e teor de umidade) foram realizados mensalmente e para avaliar a viabilidade das sementes foi realizado o teste de tetrazólio a cada três meses. A atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT e ascorbato peroxidase - APX) foram determinadas nas amostras a cada três meses. A umidade das sementes de Nordestina e Paraguaçu se mantiveram entre 3 a 7%, entretanto, o cultivar Nordestina apresentou melhores características fisiológicas, tendo germinação final máxima – GFM (86 - 100%), menor tempo para alcançar 50% de germinação - T50 (31 - 40 horas), melhor uniformidade durante a germinação - U8416 (3 – 16 horas), maior área abaixo da curva – AAC (51 - 69). A maior porcentagem de plântulas normais (56 - 96%), que apresentaram comprimento variando entre 42 a 80 mm, e massa seca entre 0,42 a 0,82g também foi do cultivar Nordestina. As sementes de Paraguaçu obtiveram GFM entre 27 a 83%, T50 entre 48 a 64 horas, foram mais desuniformes (17,8 – 36 horas), com menor AAC (9,62 – 39). As plântulas de Paraguaçu apresentaram maior variação no tamanho, na massa seca de plântulas normais que variou de 0,12 a 0,52g. As sementes de ambos os cultivares apresentaram diferença significativa quanto atividade da SOD ao comparar as diferentes condições em que foram mantidas, com exceção das sementes do cultivar Nordestina mantidas na condição TC. Houve diferença significativa na atividade da CAT das sementes mantidas na condição URC do cultivar Nordestina e nas condições TC e URTAL das sementes de Paraguaçu. A atividade da APX diferiu significativamente entre as sementes de Nordestina armazenadas em todas as condições e nas condições TC e URTAL para o cultivar Paraguaçu. Conclui-se que a UR e a T são fatores determinantes para o armazenamento adequado e que as sementes mantidas nas condições sem controle de UR apresentam redução significativa na qualidade, sofrendo grandes influências do ambiente de armazenamento. Estes resultados poderão ser utilizados para o desenvolvimento de protocolo de armazenamento de baixo custo e útil para agricultura familiar que mantém a tradição no cultivo desta oleaginosa no semiárido brasileiro.

Palavras chave: Enzimas antioxidantes. Germinabilidade. Mamona. Vigor de sementes.

ABSTRACT

Physiological and biochemical quality markers of *Ricinus communis* L. seeds under different storage conditions.

Castor bean (*Ricinus communis* L.) presents a major highlight in Brazilian agriculture because of its diverse applicability in the industry as an alternative to generate employment and income for family farmers in the semiarid region of Northeastern Brazil. The initial seed quality and environmental conditions influence the deterioration process during storage. In this context, the aim of this study was to investigate the effect of different relative humidity (RH) and temperature (T) conditions applied over twelve months of storage on the physiological and biochemical characteristics of *R. communis* seeds. Seeds of two cultivars (Nordestina and Paraguaçu) were stored in four different conditions: (1) controlled relative humidity and temperature – CRHT; (2) controlled relative humidity – CRH; (3) controlled temperature – CT; (4) relative humidity and temperature laboratory environment – RHTLE. Physiological tests (evaluation of germination and moisture content) were performed every month. Seed viability (tetrazolium test) and antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase - SOD, catalase - CAT and ascorbate peroxidase - APX) were determined in the samples collected every three months. The humidity of Nordestina and Paraguaçu seeds remained between 5-7% throughout the period of storage, however, Nordestina seeds showed better physiological characteristics, with maximum percentage of germination (G_{max}) varying from 86 to 100%, time to reach 50% germination (T_{50}) varying from 31 to 40 hours, uniformity of germination (U8416) varying from 3 to 16 hours and area under the curve –(AUC) varying from 51 to 69). Seeds of the cultivate Nordestina showed the highest percentage of normal seedlings (56-96%), which had length between 42 and 80 mm and dry weight between 0.42 to 0.82g. The seeds of the cultivate Paraguaçu obtained G_{max} between 27 and 83%, T_{50} between 48 and 64 hours, uniformity varying from 17,8 to 36 hours, and lower AUC values varying from 9.62 to 39. Seedlings of cultivate Paraguaçu showed greater variation in size and, the dry weight of normal seedlings ranged from 0.12 to 0.52g. The seeds of both cultivars showed significant differences in SOD activity, except for the CT condition in the cultivar Nordestina. CAT activity of Nordestina seeds showed significant differences only for the CRH condition. CAT activity of Paraguaçu seeds, however, showed significant differences in CT and RHTLE. APX activity in Nordestina seeds showed significant difference in all storage conditions and activity in Paraguaçu seeds was only significant for CT and RHTLE conditions. It is concluded that RH and T are determining factors for the proper storage and that the seeds kept in conditions without controlled humidity showed a significant reduction in the quality. From these results, we intend to develop a low-cost storage protocol for proper storage conditions for family farming and its tradition in the cultivation of this oilseed in the Brazilian semiarid.

Keywords: Antioxidant enzymes. Germinability. Castor bean. Seed vigor.

LISTAS DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Cultivares de <i>Ricinus communis</i> L.. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.	30
FIGURA 2 -	Estrutura do ácido recinoléico.	31
FIGURA 3 -	Mecanismos oxidativos proposto durante o envelhecimento de sementes.	37
FIGURA 4 -	Equilíbrio e desequilíbrio entre ERO e antioxidantes	41
FIGURA 5 -	Defesa antioxidante formada por um sistema enzimático e não enzimático.	43
FIGURA 6 -	Representação esquemática da geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) em plantas.	44
FIGURA 7 -	Estrutura molecular da superóxido dismutase Fe-SOD. (A) Estrutura tridimensional da isoforma Fe-SOD. (B) Detalhe do centro ativo.	46
FIGURA 8 -	Estrutura da superóxido dismutase Cu/Zn-SOD. (A) Estrutura tridimensional da isoforma Cu/Zn-SOD. (B) Detalhes do centro ativo.	47
FIGURA 9 -	Estrutura tridimensional da Catalase - CAT (Protein Data Bank).	48
FIGURA 10 -	Mecanismos de desintoxicação de ERO por ação diferentes enzimas antioxidantes.	50
FIGURA 11 -	Modelo estrutural da ascorbato peroxidase - APX mostrando a posição dos resíduos de aminoácido, lisina (Lys55), fenilalanina (Phe201), arginina (Arg64), tripisina (Trp67 e 208), histidina (His68 e 192), asparigina (Asp253).	51
FIGURA 12 -	Localização do Campo Experimental de Montes Claros (CEMC) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG. (A) Estado de Minas Gerais, (B) Cidade de Montes Claros, (C) CMEC.	64
FIGURA 13 -	Montagem do experimento de germinação de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de <i>Ricinus communis</i> L..	68
FIGURA 14 -	Padrões de germinação de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de <i>Ricinus communis</i> L..	69

FIGURA 15 -	Determinação da umidade (%) das sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de <i>Ricinus communis</i> L..	71
FIGURA 16 -	Teste de tetrazólio em sementes <i>Ricinus communis</i> L., padrões de sementes inviáveis (com menos de 50% do endosperma corado e menos de 100% do embrião corado) e viáveis (com mais de 50% do endosperma corado e 100% do embrião corado). (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.	72
FIGURA 17 -	Umidade (%) das sementes de dois cultivares de <i>Ricinus communis</i> L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.	77
FIGURA 18 -	Germinação final máxima (%) de sementes de dois cultivares de <i>Ricinus communis</i> L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.	79
FIGURA 19 -	Tempo para alcançar 50% de germinação (T50) de sementes de dois cultivares de <i>Ricinus communis</i> L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.	82
FIGURA 20 -	Índice de uniformidade (U8416) da germinação de sementes de dois cultivares de <i>Ricinus communis</i> L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.	84

- FIGURA 21 - Área abaixo da curva (AAC) da germinação de sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordeste e (B) Paraguaçu. 86
- FIGURA 22 - Plântulas normais (%) dos dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordeste e (B) Paraguaçu. 88
- FIGURA 23 - Biometria das plântulas normais (mm) das sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenados em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordeste e (B) Paraguaçu. 90
- FIGURA 24 - Massa seca das plântulas normais (g) das sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordeste e (B) Paraguaçu. 92
- FIGURA 25 - Teste de tetrazólio em sementes viáveis do cultivar Nordeste de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controlada – URTC, umidade relativa controlada – URC, temperatura controlada – TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL). LBBB/ICS/UFBA durante março de 2014 a março de 2015. (A) Nordeste e (B) Paraguaçu. 94

- FIGURA 26 - Teste de tetrazólio em sementes inviáveis do cultivar Paraguaçu de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controlada – URTC, umidade relativa controlada – URC, temperatura controlada – TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL). LBBB/ICS/UFBA durante março de 2014 a março de 2015. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu. 94
- FIGURA 27 - Sementes viáveis (%) dos dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controlada - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu. 95
- FIGURA 28 - Germinação final máxima (%) na presença e ausência do tegumento das sementes de *Ricinus communis* L do cultivar Paraguaçu, armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controlada - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu. 97
- FIGURA 29 - Atividade da superóxido dismutase (SOD) em sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controlada - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu. 121
- FIGURA 30 - Atividade da catalase (CAT) em sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controlada - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A)

FIGURA 31 -

Atividade da ascorbato peroxidase (APX) em sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordeste e (B) Paraguaçu.

LISTAS DE TABELAS

TABELA 1-	Mecanismo de remoção das ERO em células vegetais através de enzimas antioxidantes.	43
TABELA 2-	Condições de armazenamento de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de <i>Ricinus communis</i> L. no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos – LBBB, durante o período de 12 meses (março de 2014 a março de 2015).	65
TABELA 3-	Morfometria (altura, comprimento, largura (mm) e volume (mm ³)) e massa de mil sementes (g) dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de <i>Ricinus communis</i> L. produzidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gérias – EPAMIG, 2013.	72
TABELA 4-	Caracterização inicial de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de <i>Ricinus communis</i> L. produzidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gérias – EPAMIG, 2013. Germinação final máxima – GFM (%), tempo para alcançar 50% da germinação - T50 (horas), índice de uniformidade da germinação - U8416 (horas), área abaixo da curva de germinação – AAC, biometria das plântulas normais – BPN (mm), umidade (%) e peso da massa seca das plântulas normais – PMSPN (g).	75
TABELA 5-	Condições de armazenamento de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de <i>Ricinus communis</i> L. no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos – LBBB, durante o período de 12 meses (março de 2014 a março de 2015).	114

LISTA DE SIGLAS

A -	Antioxidante
AAC/AUC -	Área abaixo da curva
APX -	Ascorbato peroxidase
AsA -	Ascorbato
ATP -	Adenosina trifosfato
BOD -	Câmara de germinação
BPN -	Biometria das plântulas normais
CAT -	Catalase
CRH -	Controle relativo de umidade
CRHT -	Controle relativo de umidade e temperatura
CT -	Controle de temperatura
DNA -	Ácido desoxirribonucléico
DHAR -	Dehidroascorbato redutase
EBDA-	Empresa Brasileira de Desenvolvimento Agrícola
EDTA -	Ácido etilenodiaminotetracético
EMBRAPA -	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPAMIG -	Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
ERO -	Espécies reativas de oxigênio
FLs -	Fosfolípidios de membrana
FR I -	Radical livre primário
FR II -	Radical livre secundário
GFM -	Germinação final máxima
GPX -	Glutaciona peroxidase
GR -	Glutaciona redutase
GSSG -	Glutaciona oxidada

GSH -	Glutathiona reduzida
GST -	Glutathiona S-transferase
H ₂ O ₂ -	Peróxido de hidrogênio
H ₂ O-	Água
ICS -	Instituto de Ciências da Saúde
LBBB -	Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos
MDA -	Malondialdeído
MDHA -	Monodehidroascorbato
MDHAR -	Monodehidroascorbato redutase
MITO -	Mitocôndria
NADP ⁺ -	Nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato oxidado
NADPH -	Nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato reduzido
NBT -	Nitrozul de tetrazólio
NO	Óxido nítrico
O -	Oxigênio atômico
O ₂ -	Oxigênio molecular
O ₂ ^{•-}	Radical superóxido
OH [•]	Radical hidroxila
ONOO ⁻	Peroxinitrito
PMSPN -	Peso da massa seca das plântulas normais
Q [•]	Radical semiquinona
R -	Pode ser um grupo alifático, aromático ou heterocíclico
RAS -	Regras de análise de sementes
RHTLE -	Umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório
RNA -	Ácido ribonucleico
SOD -	Superóxido dismutase
T -	Temperatura

T 50 -	Tempo para alcançar 50 % de germinação
TAG -	Triglicerídeos
TC -	Temperatura controlada
U -	Umidade
U8416 -	Uniformidade de germinação medindo-se o intervalo de tempo em horas entre 84% e 16% de germinação das sementes
UFBA -	Universidade Federal da Bahia
UR/RH -	Umidade relativa
URC -	Umidade relativa controlada
URTAL -	Umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório
URTC -	Umidade relativa e temperatura controlada
UV -	Ultravioleta
X -	Pode ser um sulfato, nitrito ou grupo halogênio

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	25
OBJETIVOS	29
Objetivo geral.....	29
Objetivos específicos.....	29
REVISÃO DE LITERATURA.....	30
<i>Ricinus communis</i> L.: cultivares e agricultura familiar	30
Armazenamento e deterioração de sementes de mamona	34
Análises importantes durante o armazenamento.....	39
Estresse Oxidativo	41
Mecanismo de desintoxicação das ERO	43
Superóxido dismutase (SOD)	46
Catalase (CAT)	49
Ascorbato peroxidase (APX).....	50
REFERÊNCIAS.....	54
CAPÍTULO 1	62
RESUMO.....	62
1. INTRODUÇÃO	63
2. MATERIAS E MÉTODOS.....	65
2.1. Material biológico e condução do armazenamento.....	65
2.1.1. Cultivar Nordeste e Paraguaçu.....	65
2.2. Armazenamento	66
2.3. Morfometria das sementes	67

2.4. Massa de mil sementes	68
2.5. Teste de germinação	68
2.6. Teste de umidade	71
2.7. Teste de tetrazólio	72
2.8. Análise dos dados e tratamento estatístico	73
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
3.1 Morfometria das sementes	73
3.2 Umidade	77
3.3. Germinação	79
3.4. Viabilidade das sementes	94
4. CONCLUSÃO.....	100
5. REFERÊNCIAS.....	102
CAPÍTULO 2	109
RESUMO.....	109
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	115
2.1. Material biológico.....	115
2.1.1. Cultivar Nordeste e Paraguaçu.....	115
2.2. Armazenamento	115
2.3. Extração e quantificação de proteínas totais	116
2.4. Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)	118
2.5. Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)	119
2.6. Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11).....	120
2.7. Análises dos dados.....	121

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	121
3.1. Atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)	121
3.2. Atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6)	126
3.3. Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11).....	129
4. CONCLUSÃO.....	133
5. REFERÊNCIAS.....	134
CONCLUSÃO FINAL	141

INTRODUÇÃO GERAL

Ricinus communis L. (Euphorbiaceae), comumente chamada de mamona, é uma planta de origem Africana frequentemente encontrada em todos os continentes (ALBUQUERQUE et al., 2014). Os principais países produtores de mamona no mundo incluem a Índia, China, Brasil, Moçambique, Etiópia, Paraguai e Tailândia (SINGH, 2015). No Brasil, a região Nordeste é a principal produtora de mamona, sendo responsável por mais de 90% da produção Nacional, com destaque para a Bahia, mais especificamente a microrregião de Irecê. Contudo, essa cultura pode ser cultivada em várias regiões do país, encontrando-se plantios comerciais nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (AMORIM, 2005; SEVERINO et al., 2006; VASCONCELLOS, 2012).

Essa espécie vegetal é uma oleaginosa que apresenta-se como uma alternativa de grande importância econômica e social ao semiárido nordestino, principalmente devido às características e possibilidades de uso do óleo extraído de suas sementes e pelas suas características de produção, relativamente bem, até em condições de baixa precipitação pluviométrica, além de apresentar baixo custo, fácil manejo e um bom mercado consumidor. Pode ser consorciada com outras culturas, tornando-se assim uma excelente opção para a agricultura familiar desta região (BELTRÃO et al., 2003; VASCONCELLOS, 2012).

O óleo extraído da mamona é a única fonte comercial de ácido ricinoléico (12-hidroxi-cis-9-octadecenoico) (SOUZA et al., 2010; RIBEIRO et al., 2015). Este ácido graxo é bastante viscoso e possui maior estabilidade oxidativa do que outros óleos vegetais, sendo usado atualmente na composição de tintas, vernizes, lubrificantes, plástico, prótese e cosmético (BALDONI et al., 2011; ALBUQUERQUE et al., 2014; BRANDON et al., 2015), com particular interesse da indústria oleoquímica (BAFOR et al., 1991).

Após a extração do óleo de mamona, o restante do material (torta) poderia ser processado e ser usado como ração animal e, assim, agregar valor comercial à mamona. Contudo o seu uso como alimento animal não tem sido possível devido à presença de elementos tóxicos e alergênicos na sua composição e a

falta de tecnologia economicamente viável em nível industrial para seu processamento. A utilização da torta é limitada pela alta concentração de ricina, proteína tóxica, que faz parte de uma ampla família de enzimas conhecidas como Proteínas Inibidoras de Ribossomos (RIP) que, impossibilita a síntese proteica, levando à morte celular. Essa proteína é uma das toxinas naturais mais potentes que existem, podendo ser considerada como uma arma biológica (LUBELLI et al, 2006; HOFFMAN et al., 2007; CANGEMI et al., 2010; BALDONI et al., 2011; BRANDON et al., 2015; SINGH, 2015).

As sementes de mamona é o principal insumo para a extração de óleo de rícino, e este possui várias aplicações, saber como melhor armazenar as sementes é a principal preocupação principalmente para os pequenos agricultores. O armazenamento tem por objetivo principal conservar as sementes, preservando a qualidade fisiológica, física e sanitária. A manutenção da qualidade das sementes no decorrer do tempo depende diretamente da longevidade inerente à espécie, da qualidade inicial do lote e do ambiente de armazenamento (FIGUEIREDO, 2006).

A qualidade da semente é geralmente determinada pela genética e fatores fisiológicos, mas o tempo de colheita, processo de manipulação e armazenamento das sementes também deve ser considerado. Fatores como teor de umidade, danos mecânicos, pesticidas, embalagens, envelhecimento, temperatura e umidade relativa são responsáveis pelo declínio da qualidade de sementes durante o armazenamento. Condições adequadas de armazenamento são importantes, para garantir a qualidade da semente quanto aos aspectos físicos, fisiológicos e sanitários. Um bom armazenamento permitirá manter a qualidade e a viabilidade da semente por um maior período de tempo (SINGH et al., 2015).

Os principais fatores que influenciam no armazenamento de sementes é a umidade e a temperatura, portanto, para um melhor armazenamento é necessário um local fresco e seco, evitando-se flutuações de temperatura e umidade. Principalmente quando se trata do armazenamento de sementes oleaginosas, pois apresentam altos teores de lipídeos, sendo mais susceptíveis a deterioração dificultando assim o armazenamento (TRZECIAK, 2012).

A peroxidação de lipídeos pode ser a causa mais frequente de deterioração e perda da viabilidade das sementes, uma vez que é um fator que leva à redução no teor de lipídeos em sementes oleaginosas ao longo do armazenamento. No processo de deterioração da semente, ocorre aumento na peroxidação de lipídeos, danos à membrana celular e conseqüentemente a geração de subprodutos tóxicos. Acontecem também, alterações enzimáticas, como degradação e inativação de enzimas (VIDIGAL et al., 2009; SHARMA et al., 2012; ABREU et al., 2013).

Todos os organismos aeróbicos produzem espécies reativas de oxigênio ERO, a formação desses compostos é determinada pela perda ou ganho de um elétron, ficando com um elétron desemparelhado, a formação ERO ocorre durante processos oxidativo biológicos (Ribeiro et al., 2005; GILL & TUJETA, 2010). A proteção contra as espécies reativas de oxigênio (ERO) envolve mecanismo de ação enzimática e não enzimática (RIBEIRO et al., 2005). Espécies reativas de oxigênio podem causar danos oxidativo aos lipídios, proteínas e material genético (COSTA & HUANG, 2007).

As enzimas desempenham um papel importante durante o armazenamento de sementes, e alterações na sua atividade podem indicar perda de qualidade. Todas as sementes passam por processo de envelhecimento durante o armazenamento em longo prazo. No entanto, a taxa de deterioração varia de acordo com o tipo de espécie, condições atmosféricas, disponibilidade de oxigênio (SHABAN, 2013).

São varias as enzimas que atuam durante a presença de estresse oxidativo, existem três enzimas em especial, que são muito estudadas durante o estresse oxidativo, a primeira enzima a ser ativada devido à presença de radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) no ambiente é a superóxido dismutase (SOD). E ela faz parte do mecanismo de defesa inicial, sendo responsável por dismutar o radical superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de hidrogênio pode ser convertido em água (H_2O) e oxigênio pelas enzimas catalase (CAT) e pela ascorbato peroxidase (APX) (GILL & TUJETA, 2010).

Para o armazenamento de sementes em longo prazo é importante controlar a temperatura e a umidade, baixa temperatura e baixa umidade é ideal para o

armazenamento. O teor de água é determinante para garantir a longevidade da semente, pois depende da umidade relativa do ambiente. Quanto maior a umidade do ambiente maior a umidade das sementes, já que, estas tendem a entrar em equilíbrio higroscópico (SHABAN, 2013; SANTOSO et al., 2015).

Neste contexto, este estudo visou avaliar o efeito de diferentes condições de armazenamento nas características fisiológicas e bioquímicas de sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *Ricinus communis* L., armazenadas em diferentes condições de temperatura e umidade, durante 12 meses.

O trabalho está apresentado em dois capítulos. O capítulo 1 trata sobre o efeito da temperatura e umidade relativa nas características fisiológicas das sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *Ricinus communis* L. durante 12 meses de armazenamento. No capítulo 2 descreve-se sobre a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase em sementes dos dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições de temperatura e umidade relativa durante 12 meses.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Investigar o efeito do armazenamento nas características fisiológicas e bioquímicas de sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *Ricinus communis* L. armazenadas durante 12 meses em diferentes condições de temperatura e umidade.

Objetivos específicos

- Avaliar a germinação, viabilidade e vigor das sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis* quando submetidas a diferentes condições de temperatura e umidade relativa, e períodos de armazenamento;
- Comparar o efeito do armazenamento, durante 12 meses, nas características fisiológicas e bioquímicas de sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis*;
- Determinar a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase em sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis* quando submetidas a diferentes condições de temperatura e umidade relativa, e períodos de armazenamento;
- Identificar marcadores bioquímicos enzimáticos para avaliação de sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis* submetidas ao armazenamento;
- Indicar a melhor condição de armazenamento de sementes para os cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis*, que possa ser reproduzida.

REVISÃO DE LITERATURA

***Ricinus communis* L.: cultivares e agricultura familiar**

A momoneira, *Ricinus communis* L., conhecida como carrapateira, rícino ou mamona, é uma xerófila das 700 espécies da família Euforbiácea. De origem tropical, esta oleaginosa é proveniente da África frequentemente encontrada em todos os continentes (MACHADO, 2011; LOPES, 2012; ALBUQUERQUE et al., 2014; SINGH, 2015).

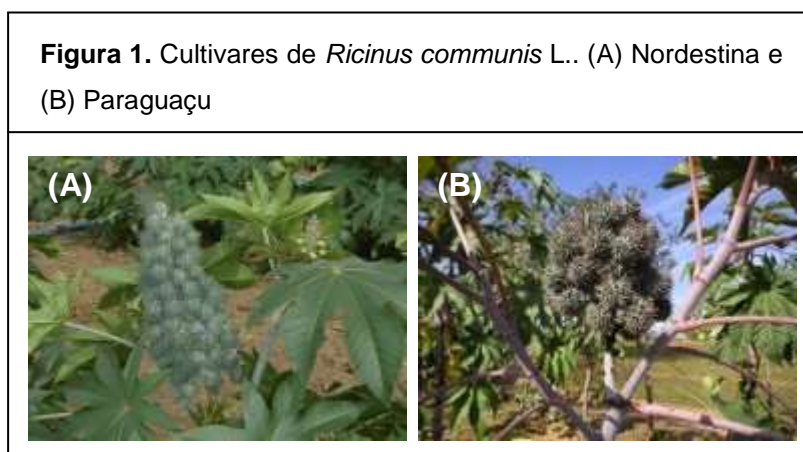
Em virtude das suas características, pode ser facilmente plantada em regiões de baixa precipitação pluviométrica, pois, é uma espécie tolerante à seca na fase adulta, sendo bem adaptada a climas quentes (ZUCHI et al., 2010; RIBEIRO et al., 2014). Além de possuir baixo custo de produção e ser de fácil manejo, sua produção constitui uma das opções agrícolas, que serve como alternativa de trabalho e renda, principalmente para o pequeno agricultor (GUILHERME et al., 2012). Os produtores tradicionais se concentram no semiárido nordestino, sendo a cultura de *R. communis* capaz de fomentar o crescimento da economia dessa região, gerando aumento de empregos no campo e matéria prima para a indústria (LUZ, 2012).

A *R. communis* L. têm grande utilização industrial, cujo principal produto, o óleo de mamona, abre um leque de possibilidades para a obtenção de diferentes derivados. Um aspecto importante para a cadeia produtiva de mamona é o uso de sementes com boa qualidade. Numa forma de obter maior lucro com a produção, cerca de 84% dos produtores de mamona do nordeste brasileiro, consorcia essa oleaginosa com outras culturas (ZUCHI et al., 2010; LUZ, 2012). Em 2004 foi lançado pelo Governo Federal, o Programa Nacional do Biodiesel, que teve como enfoque a inclusão social e o desenvolvimento regional, através da geração de renda e emprego, despertando um grande interesse pelo cultivo da mamona (*Ricinus communis* L.) em vários agricultores familiares do semiárido brasileiro, além de ser uma cultura adaptada à região e uma alternativa de renda aos pequenos agricultores (SILVA, 2013).

Pesquisas são desenvolvidas com o intuito do melhoramento genético da espécie de mamona, a fim de se obter variedades com características de

interesse agrônomo como indeiscência de frutos, precocidade da planta, maior produção, teor de óleo da semente, tolerância a estresse, dentre outras características agronomicamente desejáveis. As sementes da mamona possuem uma grande variabilidade em cor do tegumento, formas e tamanhos, presença e ausência de carúncula, e teores de componentes químicos (SOUZA, 2012; EMBRAPA, 2015).

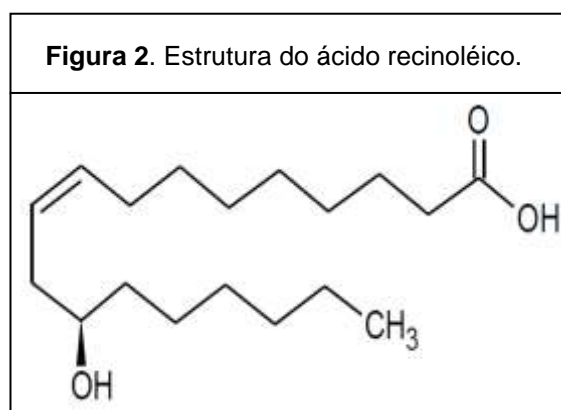
A mamoneira apresenta uma grande variedade genética, dentre elas destacam-se os cultivares bastante utilizados na agricultura. Apesar de sua importância socioeconômica, a espécie conta com poucos cultivares melhorados para o semiárido nordestino. Dentre os cultivares existentes se destacam BRS 149 Nordestina (Nordestina) e a BRS 188 Paraguaçu (Paraguaçu), ambos criados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (Figura 1) e utilizadas no presente estudo.



FONTE: EMBRAPA ALGODÃO (2015).

As sementes de Nordestina e de Paraguaçu são grandes, de coloração preta e usadas para o plantio em região semiárida, principalmente por pequenos agricultores. O cultivar Nordestina, possui porte médio (1,9 m), caule de cor verde e coberto por cera, racemo cônico, frutos semideiscentes, semente pesando aproximadamente 0,68 g e com 49% de óleo. O cultivar Paraguaçu, possui porte médio (1,6 m), caule roxo e coberto por cera, racemo oval, frutos semideiscentes e semente pesando aproximadamente 0,71g e com 48% de óleo (BAHIA et al., 2008; ZUCHI et al., 2010; EBRAPA ALGODÃO, 2015).

A mamona possui sementes com elevado teor de óleo, variando entre 40 a 55% do peso da semente. O óleo é composto de uma mistura de triacilgliceróis, que contêm diferentes tipos de ácidos graxos, sendo o ácido ricinoléico (ácido 12-hidroxi-cis-9-octadecenóico) (Figura 2) o mais abundante dentre os óleos presentes na mamona, consistindo em 94 %. Este ácido graxo confere propriedades únicas como alto valor calorífico, número de cetanos elevados, com baixo teor de fósforo e resíduos de carbono (RIBEIRO et al., 2014; ARMENDÁRIZ et al., 2015). A principal característica desse óleo é a elevada viscosidade e estabilidade, devido à presença de hidroxila na sua cadeia, tornando o óleo de mamona possivelmente o único glicerídeo solúvel em álcool em temperatura ambiente (OLIVEIRA, 2011; ARMENDÁRIZ et al., 2015).



Fonte: GRAMACHO, 2012.

O óleo de mamona, como todos outros óleos vegetais, possui diferentes propriedades físico-químicas, as quais variam de acordo com o método de extração. O óleo pode ser extraído a frio, por prensagem mecânica; a quente, com a utilização de solventes (a exemplo do hexano), pelo uso combinado dos dois processos; ou ainda com a tecnologia de fluido supercrítico (SOUZA, 2010). Embora a toxicidade da mamona seja reconhecida pela presença da rícina, o seu óleo não é tóxico, visto que a rícina, não é solúvel em lipídeos, ficando todo o componente tóxico restrito à torta após a sua extração (FONSECA e SOTO-BLANCO, 2014; MAIA et al., 2010).

O óleo de mamona é mais viscoso que a maioria dos óleos vegetais, devido principalmente ao ácido ricinoléico. A viscosidade elevada deixa o óleo de mamona fora das especificações, segundo a Resolução nº 7 da Agência

Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) de 19 de Março de 2008 (COSTA NETO et al., 2000). Uma alternativa é produzir biodiesel a partir de uma mistura do óleo de mamona com outro óleo de baixa viscosidade, para que o biodiesel apresente viscosidade dentro das especificações. Ainda existem poucos estudos sobre a produção de biodiesel a partir de misturas de óleos, porém a ideia é bastante promissora (MENEGHETTI et al., 2007; SILVAL & FREITAS, 2008).

O ácido ricinoléico é armazenado nas células em estruturas de membrana única denominadas de oleossomos ou esferossomos (TAIZ & ZEIGER, 2004). O ácido ricinoléico apresenta três grupos altamente reativos, que permitem realizar reações químicas decorrentes da presença do grupo carboxila, de uma dupla ligação e uma hidroxila, juntas, permitem qualidades específicas para a produção de uma infinidade de aplicações deste óleo (SANTOS, 2010). É empregado na indústria de plástico, siderurgia, cosméticos, curtume, lubrificante de tintas e vernizes, podendo ser também usado para fabricação de sabão, shampoo, próteses para ossos humanos, biocombustível, lubrificante de aeronaves como também na medicina tradicional, dentre outras aplicabilidades (CANGEMI et al., 2010; OLIVEIRA, 2011; ARMENDÁRIZ et al., 2015; CAMPOS e SANTOS 2015).

A torta produzida durante a extração do óleo poderia ser utilizada na alimentação animal, entretanto, o seu uso não é possível devido à presença de proteínas tóxicas e alergênicas e outras toxinas na sua composição, as principais toxinas são a ricina e a ricinina, e as principais proteínas alergênicas são as da família das albuminas 2S. A ricina é uma das toxinas naturais mais potentes que existem, faz parte de uma ampla família de enzimas conhecidas como Proteínas Inibidoras de Ribossomos (RIP) que, impossibilita a síntese proteica, levando à morte celular. A ricinina é um alcalóide que tem efeito sobre o sistema nervoso central. E a família das albuminas 2S, é um grupo de proteínas de reserva. Estas proteínas são heterodiméricas e apresentam altos teores de arginina, serina e glutamina; algumas delas são inibidoras de proteases e outras podem ainda apresentar propriedades alergênicas. Há também o composto alergênico CB-1, que é formado por proteínas da família das albuminas 2S e polissacarídeos (LUBELLI et al, 2006; HOFFMAN et al.,

2007; CANGEMI et al., 2010; BALDONI et al., 2011; BRANDON et al., 2015; SINGH, 2015).

Uma torta de mamona detoxificada chamada Lex Protéico já foi comercializada no Brasil na década de 60 pela empresa SANBRA. No entanto, o processo de produção foi suspenso pela dificuldade no controle da eficiência do processo de detoxificação, que ocasionava a liberação de lotes do produto ainda tóxicos que poderiam causar a morte de animais (SEVERINO, 2005; HOFFMAN et al., 2007). Devido ao alto custo dos processos de detoxificação, as tortas de mamona têm sido frequentemente usadas como adubo, devido a presença de nutrientes (proteínas, nitrogênio, potássio e fósforo) (FREIRE, 2001; HOFFMAN et al., 2007; MONTEIRO, 2014).

Existem diversos métodos para promover a destoxificação e a desalergenização da torta da mamona, usando processos físicos e químicos. Os tratamentos com agentes químicos são mais eficientes que aqueles que empregam aquecimento para destoxificação da torta de mamona. Uma maneira ainda mais eficaz de eliminar a ricina da mamona é por meio do melhoramento genético, selecionando sementes com menor teor da toxina, por melhoramento tradicional ou mesmo por transgenia. Devido ao alto custo dos processos de destoxificação, as tortas de mamona tem sido frequentemente usadas como adubo, devido a presença de nutrientes (proteínas, nitrogênio, potássio e fósforo) (FREIRE, 2001; HOFFMAN et al., 2007; MONTEIRO, 2014).

Armazenamento e deterioração de sementes de mamona

A produção agrícola do mundo depende fundamentalmente das sementes, logo, a manutenção de sua viabilidade durante o seu armazenamento é de particular importância. Condições de armazenamento são definitivas para garantir a qualidade fisiológica da semente, adiando o processo de deterioração, logo produtores de sementes se preocupam com a utilização de técnicas que propiciem a minimização dos fatores de deterioração (ALMEIDA et al., 2010). Sementes destinadas ao plantio e que estão armazenadas devem ser cuidadosamente conservadas, até o momento de sua utilização, a fim de garantir a preservação da qualidade fisiológica. Nesse sentido é importante

salientar que a utilização de sementes com boa qualidade física, fisiológica e sanitária, são fatores de fundamental importância para o sucesso da produção (NOBRE, 2014).

As sementes oleaginosas apresentam menor potencial de armazenamento quando comparadas as amiláceas, devido à menor estabilidade química dos lipídios em relação ao amido. Quando imprópriamente armazenadas, as sementes de oleaginosas se deterioram e há o aumento da acidez (formação de ácidos graxos livres, resultantes de decomposição dos glicerídeos). Sendo assim, uma elevação moderada da temperatura, como consequência do processo respiratório, já é suficiente para a decomposição dos lipídios e elevação da taxa de deterioração (MARCOS FILHO, 2005). Além disso, o armazenamento inadequado provoca problemas como: mofo, perda de cor, diminuição do vigor e das reservas nutritivas da semente. O que faz com que os produtores de sementes se preocupem com a utilização de técnicas que propiciem a minimização dos fatores de deterioração (FIGUEREDO, 2006).

Embora a qualidade de sementes armazenadas não possa ser melhorada, boas condições durante este período contribuirão para mantê-las viáveis por um tempo mais longo, retardando o processo de deterioração (ALMEIDA, 2010). A qualidade das sementes é fundamental para o processo de produção das mesmas, pois somente aquelas de elevado nível de qualidade proporcionam a maximização do desenvolvimento da planta (ALMEIDA et al., 1999). O período de tempo em que um lote irá manter-se viável, ou seja, o seu potencial de armazenamento, dependerá de uma série de fatores tais como a umidade relativa do ar, teor de umidade das sementes, temperatura do ar, ação de fungos e insetos de armazenamento, tipo embalagens, etc. (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). As altas temperaturas e umidades relativas que prevalecem durante a fase de armazenamento, podem afetar de maneira direta e/ou indireta as sementes, uma vez que devido às suas propriedades higroscópicas, a água está sempre em equilíbrio com a umidade relativa do ar (SANTOS, 2010). O conteúdo de água e a temperatura de armazenamento podem ser controlados durante o armazenamento, controlando-se e monitorando-se o ambiente de armazenamento (SANTOS, 2010).

A qualidade das sementes esta diretamente ligada à produção de frutos de mamona, que podem ser prejudicados devido à ocorrência de sementes vazias, porosas ou danificados internamente (CARVALHO et al., 2010). O tipo de cultivar, a região de cultivo e as condições de armazenamento interferem diretamente na composição do óleo, e alterações nessas variáveis influenciam diretamente a degradação do óleo (MARCOS FILHO, 2005). Logo, a avaliação do perfil dos ácidos graxos do óleo extraído de sementes de mamona armazenadas em diferentes condições pode vir a elucidar dúvidas relacionadas ao processo de deterioração de sementes (LAGO et al., 1985; SANTOS, 2010).

A qualidade das sementes de mamona pode ser afetada por diversos fatores durante o armazenamento e a manutenção desta qualidade no decorrer do tempo vai depender diretamente das condições de armazenamento e da longevidade da espécie. Sementes armazenadas de forma inadequada podem ser facilmente contaminadas, afetando de forma direta a qualidade da semente e no seu poder germinativo. Além de reduzir o valor da cultura, pode disseminar patógenos para outras áreas onde estes não ocorrem, causando com isso, inúmeros prejuízos ao produtor. Para isso, há necessidade de se desinfestar as sementes (quando semear), a fim, de trazer o sucesso para produção (SANTOS, 2013).

Alterações ou perda na integridade das membranas celulares, bem como a perda ou aumento da atividade de determinadas enzimas poderão contribuir para o início do processo deteriorativo em sementes. Além de poder se observar também uma redução da produção de ATP, diminuição na síntese de proteínas e ácidos nucléicos (MARCOS FILHO, 2005). Apesar de todas essas informações sobre o mecanismo de deterioração de semente, sabe-se que a redução na qualidade fisiológica das sementes está relacionada a alterações bioquímicas que conduzem ao comprometimento de suas atividades metabólicas (FREITAS et al., 2004).

O processo de deterioração é inevitável, este pode ser acelerado ou retardado, dependendo do ambiente e das características da semente. De uma maneira geral a redução da temperatura do ambiente e da umidade das sementes, fazem com que ocorra uma redução do metabolismo, e as sementes sejam

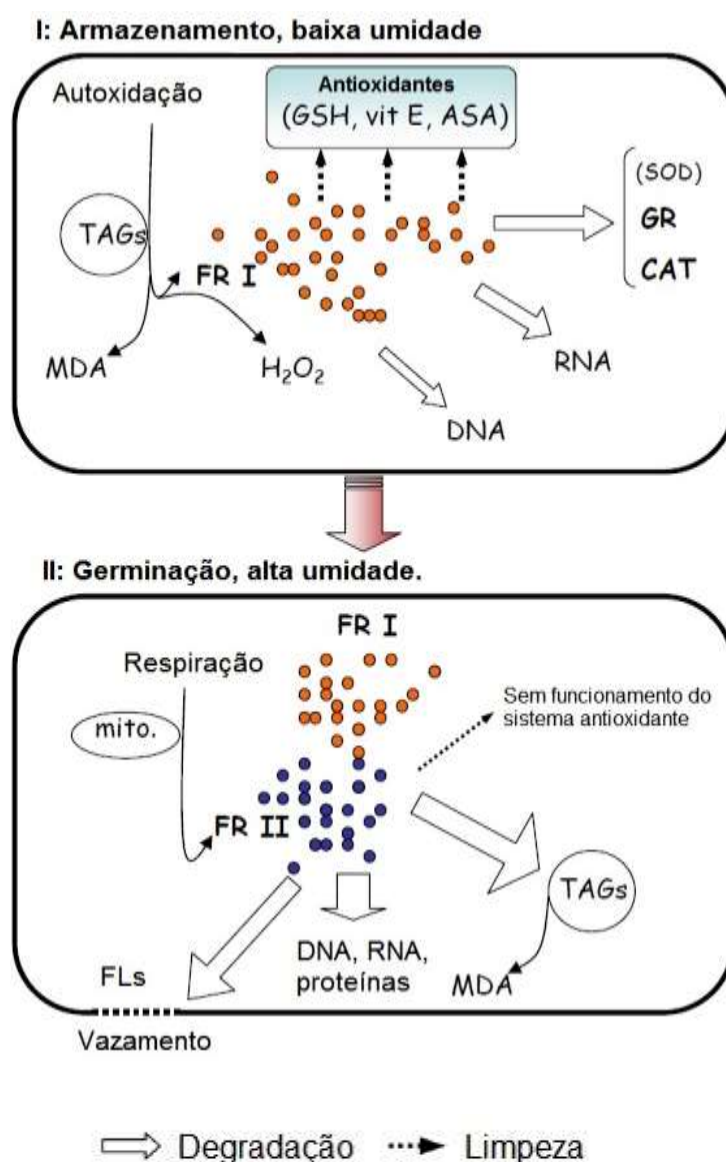
conservadas (VIEIRA et al., 2002). Uma consequência do processo deteriorativo é a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), as quais são capazes de destruir DNA, lipídeos, proteínas, podendo causar morte celular. A oxidação é a parte fundamental da vida e do metabolismo e, assim, as espécies reativas de oxigênio são produzidas naturalmente ou por alguma disfunção biológica (BARREIROS & DAVID, 2006). São formados durante a transferência de elétrons a partir da via de ação catalítica de enzimas e por exposição a fatores exógenos. E como resposta há um grupo de compostos não enzimáticos e enzimas removedores de radicais livres, formados durante o processo deteriorativo de sementes (GILL & TUTEJA, 2010).

O acúmulo de espécies reativas de oxigênio e radicais livres tem sido considerado como fator importante durante o envelhecimento de sementes. Quando considerado o envolvimento do processo oxidativo durante o envelhecimento das sementes, há duas fases (FIGURA 3). Primeira fase, sementes ortodoxas têm geralmente um baixo teor de umidade durante o armazenamento, e neste pode ocorrer reações de autooxidação que levam a produção de radicais livres. Em tais condições, *in vivo* as atividades de enzimas antioxidantes são quase ausentes e, portanto, incapaz de remover as espécies reativas de oxigênio, que possuem um efeito deletério nos componentes celulares (lipídios, enzimas, proteínas e ácidos nucleicos) (BAILLY, 2002).

Vários estudos demonstram que durante o envelhecimento há o acúmulo de espécies reativas de oxigênio e radicais livres na semente, que estão associados com a perda da atividade das enzimas antioxidantes. O armazenamento prolongado ou condições de armazenamento inadequadas (temperatura e umidade relativa) ampliam tais processos (FIGURA 3).

A segunda fase ocorre durante embebição e germinação de sementes previamente armazenadas, e deve ser considerada como o passo crítico do processo oxidativo que está relacionada ao envelhecimento, uma vez que as disfunções celulares resultantes da acumulação de espécies reativas de oxigênio são expressas.

Figura 3. Mecanismos oxidativos proposto durante o envelhecimento de sementes. (I) Durante o armazenamento prolongado, a autoperoxidação de lipídeos gera radicais livres primários (FRI), resultantes da degradação de triacilgliceróis (TAG), DNA, RNA e proteínas. Durante este período os FRI podem também danificar as enzimas antioxidantes. Durante a germinação a retomada do metabolismo leva à produção de novas espécies ativas de oxigênio (radicais livres secundários: FRII), principalmente através de atividade respiratória dentro da mitocôndria (mito.), além dos já presentes radicais livres primários (FRI). A ineficiência da maquinaria antioxidante enzimática é alterada durante o armazenamento prolongado, leva ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio e novos danos aos triacilgliceróis, fosfolipídios de membrana (FLs) e outras macromoléculas.



FONTE: BAILLY et al., 2004 (Figura adaptada).

A inibição resulta na liberação de radicais livres produzidos durante o armazenamento e na produção de novas espécies reativas de oxigênio proveniente do metabolismo. As células então têm que lidar com um estresse oxidativo, cuja intensidade depende das condições de armazenamento. O atraso na germinação de sementes envelhecidas, mas ainda viáveis, pode corresponder ao tempo necessário para que as células reiniciem a maquinaria antioxidante para escapar de um o estresse oxidativo (BAILLY et al., 1996; BAILLY, 2002; BAILLY et al., 2008).

Análises importantes durante o armazenamento

A avaliação da qualidade de um lote requer que se utilizem metodologias padronizadas de modo que os testes sejam reproduzíveis em qualquer laboratório. As regras de análises de sementes (RAS) estabelecem especificidade de padrão a serem utilizados, desde tamanho da amostra até instruções para a realização da análise de qualidade (BRASIL, 2009).

A avaliação da qualidade das sementes por meio de testes de germinação permite que elas expressem sua máxima germinação sob condições favoráveis. Entretanto, em situações naturais, as sementes estão submetidas a uma série de pressões, como variação na umidade, na temperatura, no solo, entre outras (FERREIRA & BORGHETTI, 2004).

O teste de avaliação de vigor é essencial, pois retrata o comportamento das sementes sob maior amplitude de ambientes (MENDES et al., 2010). Podem ser classificados em diretos, quando realizados no campo ou em condição de laboratório que simule fatores adversos de campo, ou indiretos, quando realizado em laboratório, mas avaliando as características físicas, fisiológicas e bioquímicas que expressam a qualidade das sementes (FERREIRA & BORGHETTI, 2004). O teste mais simples para a avaliação de vigor são os de velocidade de desenvolvimento, cujos resultados podem ser obtidos pela análise de germinação. Os mais utilizados são o tempo médio de germinação, o índice de velocidade de germinação, a primeira contagem do teste de germinação e a análise de plântulas (FERREIRA & BORGHETTI, 2004).

A avaliação da viabilidade pode ser determinada pelo teste bioquímico de tetrazólio, um teste rápido e que fornece resultados confiáveis. O princípio do teste se baseia na atividade das enzimas desidrogenases que catalisam as reações respiratórias, presentes nas mitocôndrias, localizadas no interior das células vegetais. Assim na respiração celular, há liberação de íons H^+ , que reagem com o sal de 2,3,5-trifenil tetrazólio (incolor e difusível), formando uma substância de cor vermelha e insolúvel, denominada formazam, delimitando os tecidos vivos da semente (GARLET et al., 2015).

Vários fatores podem interferir no alcance de resultados satisfatórios no teste de tetrazólio, especialmente aqueles relacionados à metodologia de execução como preparo e pré-condicionamento das sementes antes da coloração, concentração da solução de tetrazólio, período e temperatura de exposição da solução e critérios de interpretação. O pré-condicionamento ou hidratação, das sementes é o procedimento adotado no início do teste de tetrazólio para a ativação do sistema enzimático, com intensificação da respiração e das demais atividades metabólicas. Por esses motivos, este processo facilita o preparo das sementes para o teste, a penetração da solução de tetrazólio e o desenvolvimento de uma coloração nítida e evidente. No entanto, um pré-condicionamento inadequado pode levar à obtenção de sementes com manchas, fissuras, problemas de coloração, e conseqüentemente, a resultados não-confiáveis para o teste de tetrazólio (GASPAR-OLIVEIRA et al., 2009; GASPAR-OLIVEIRA, 2011).

Outros testes bioquímicos enzimáticos são importantes e tem sido utilizados por pesquisadores para a caracterização de lotes com diferentes níveis de deterioração e tolerância à dessecação, na avaliação da qualidade fisiológica de sementes armazenadas ou submetidas a diferentes testes e aos processos de germinação de diversas espécies vegetais. Entre as enzimas frequentemente estudadas associadas ao processo de deterioração das sementes, destacam-se as antioxidantes ou removedoras espécies reativas de oxigênio, tais como a superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT e ascorbato peroxidase – APX (HEBERLE, 2012).

As superóxido dismutase (SOD) constituem o primeiro grupo de enzimas que catalisam a reação de dismutação do superóxido ($O_2^{\bullet -}$) (primeira espécie reativa de oxigênio a ser formado) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de hidrogênio é decomposto a água (H_2O) pelas enzimas catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (HEBERLE, 2012).

Uma das formas de se avaliar a qualidade física da semente é através da determinação da umidade da semente, a qual mensura o conteúdo de água presente nas sementes com o objetivo de estabelecer parâmetros adequados para a manutenção da qualidade fisiológica para fins de armazenamento e, principalmente, para a comercialização (FERREIRA & BORGHETTI, 2004).

Estresse Oxidativo

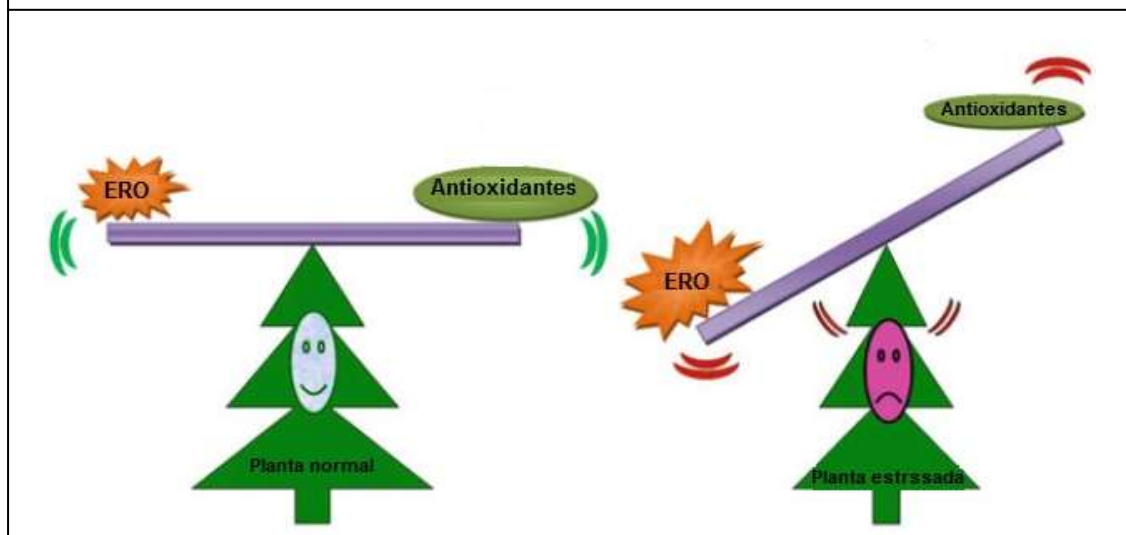
Enzimas do estresse oxidativo evidenciam a resposta da planta/ organismo frente a um estresse. Os vegetais são expostos a diversos fatores bióticos ou abióticos, tais como salinidade, radiação UV, seca, metais pesados, temperaturas extremas, deficiência de nutrientes, poluição do ar, herbicidas e ataques de patógenos. Estes distúrbios no equilíbrio levam ao aumento súbito de níveis intracelulares de ERO, que podem causar danos significativos a estrutura da célula (BARBOSA et al., 2010; GILL & TUTEJA, 2010; ROCHA, 2014).

Está bem estabelecido que organelas como cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos com uma atividade metabólica altamente oxidante ou com taxa de intenso fluxo de elétrons são uma importante fonte de ERO nas plantas. Os organismos fotossintetizantes sofrem danos oxidativos, devido ao seu estilo de vida bioenergética, que utiliza O_2 como receptor final de elétrons, levando também a formação de ERO nas células (BARBOSA et al., 2010; GILL & TUTEJA, 2010).

Em condições normais na célula, as ERO são componentes de diversas vias de sinalização, sendo produzidas continuamente como subprodutos das reações de oxidação-redução em níveis menores em organelas tais como: cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos. Porém durante condições

estressantes (Figura 4), a taxa de produção destas espécies se eleva consideravelmente, como consequência do desequilíbrio entre a sua produção e os mecanismos de eliminação (GILL & TUJETA, 2010; SILVA, 2012). O excesso de ERO causa danos oxidativo em proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos, caracterizando o estresse oxidativo (MAIA, 2012).

Figura 4. Equilíbrio e desequilíbrio entre espécies reativas de oxigênio (ERO) e antioxidantes.



Fonte: VENKATESWARLU et al., 2012 (figura adaptada).

O oxigênio molecular (O_2) é relativamente não reativo e não tóxico, devido a sua estrutura estável dos elétrons na sua camada externa. No entanto, alterações na distribuição dos elétrons podem provocar a sua ativação e influenciar os sistemas biológicos. As espécies reativas de oxigênio (ERO) podem ser geradas dentro das plantas como resultado da excitação ou um “leve toque” no elétron externo, formando oxigênio atômico (O) ou de uma sucessiva adição de elétrons ao oxigênio molecular produzindo superóxido ($O_2^{\cdot-}$) peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroxila (OH^{\cdot}) (RESENDE et al., 2003).

As principais espécies reativas de oxigênio distribuem-se em dois grupos, radicais livres e os que não são radicais. Radicais livres são definidos como moléculas e (ou) átomos de oxigênio ou nitrogênio que apresentam um ou mais elétrons não pareados na última camada de valência, tornando-se, assim, altamente instáveis e quimicamente reativos. São exemplos de radicais livres: NO (Óxido Nítrico), $ONOO^-$ (Peroxinitrito), Radical Semiquinona (Q^{\cdot}), Radical Hidroxila (OH^{\cdot}), Radical Superóxido ($O_2^{\cdot-}$), sendo esse último precursor das

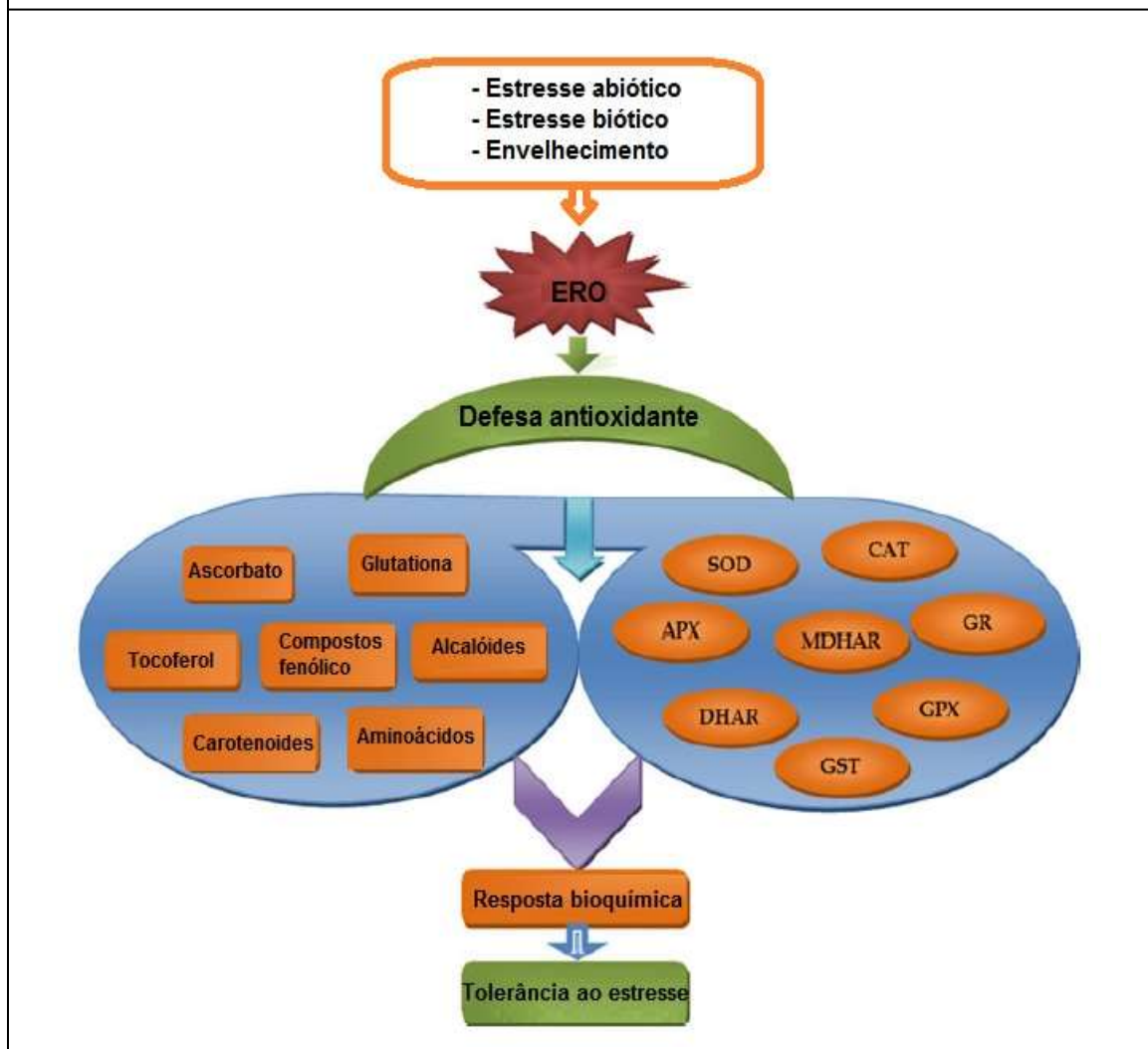
outras espécies reativas (GILL & TUTEJA, 2010). E o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma espécie reativa de oxigênio não radical. Enquanto alguns deles podem ser altamente reativos no organismo atacando lipídeos, e existem ainda alguns que são pouco reativos, mas apesar disso podem gerar espécies danosas (BARREIROS & DAVID, 2006; GILL & TUTEJA, 2010).

As espécies reativas de oxigênio quando em baixas quantidades apresentam papéis importantes, pois estão envolvidas em vários aspectos da fisiologia da semente. Fazem parte da sinalização celular, elas estão envolvidas no processo de crescimento que ocorre na embriogênese inicial durante o desenvolvimento da semente, e participa do mecanismo adjacente de protrusão de raiz durante a germinação. As ERO também podem ter uma função reguladora nas mudanças na expressão gênica durante o desenvolvimento, dormência e germinação da semente. A sua interação com outras moléculas, particularmente com hormônios, tais como, o ácido abscísico, sugere que as ERO devem ser consideradas como componentes-chaves de uma rede de sinalização integrada em muitos aspectos da fisiologia da semente (BAILLY, 2004).

Mecanismo de desintoxicação das ERO

A resposta celular é iniciada dependendo de vários fatores, a acumulação das ERO induzida por estresse é combatida por um sistema antioxidante enzimático, que incluem uma variedade de agentes de limpeza, tais como: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), monodeidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR), glutathione peroxidase (GPX), glutathione redutase (GR), dentre outras, e metabólitos não enzimáticos, tais como: ascorbato, glutathione, tocoferol, compostos fenólicos, alcalóides, carotenoides, aminoácidos (GILL & TUTEJA, 2010; VENKATESWARLU et al., 2012). O sistema antioxidante tem função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e/ou espécies reativas não radicais, sendo que o último pode ter origem endógena ou exógena (BARBOSA et al., 2010). A Figura 5 ilustra o sistema antioxidante não enzimático e enzimático.

Figura 5. Defesa antioxidante formada por um sistema enzimático e não enzimático. Espécies reativas de oxigênio (ERO), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), glutatona redutase (GR), dehidroascorbato redutase (DHAR), glutatona peroxidase (GPX), glutatona S-transferase (GST).



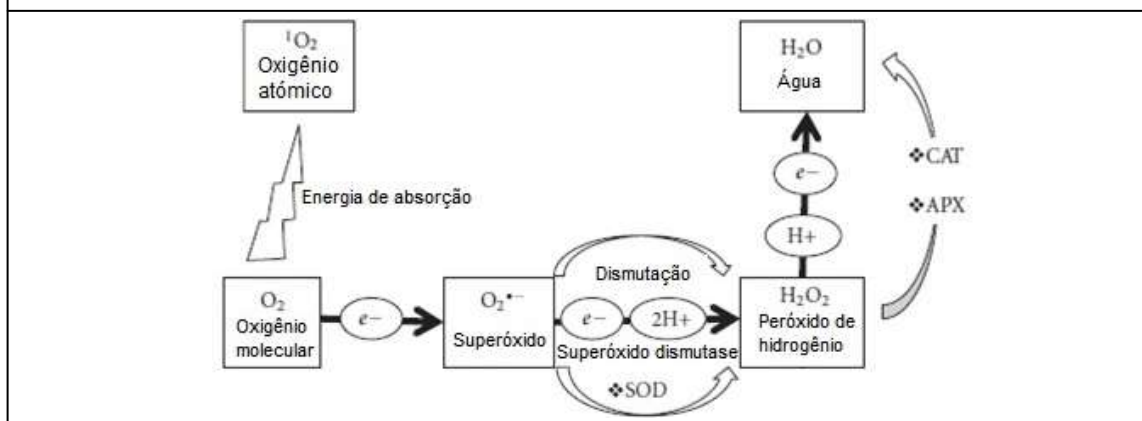
Fonte: VENKATESWARLU et al., 2012 (figura adaptada).

Há diversos sistemas de enzimas que catalisam reações para neutralizar espécies reativas de oxigênio (ERO). As enzimas antioxidantes formam o mecanismo de defesa endógeno que protege a planta contra os danos causados pelas ERO. Dentre as principais enzimas envolvidas na detoxificação das ERO, destacam-se em especial por três enzimas (Tabela 1 e Figura 6): superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), (MAIA, 2012).

Tabela 1. Mecanismo de remoção das espécies reativas de oxigênio (ERO) em células vegetais através de enzimas antioxidantes.

Enzimas	Mecanismo	Localização	Referências
Superóxido dismutase (EC 1.15.1.1)	$O_2^- + O_2^- + 2H^+ = H_2O_2$	Mitocôndria, cloroplastos e citoplasma	GILL & TUJETA, 2010.
Catalase (EC 1.11.1.6)	$H_2O_2 = O_2 + H_2O$	Peroxissomo, gliossomos, mitocôndria e citoplasma	RESENDE et al., 2003; ROCHA, 2014; FLORES et al., 2014.
Ascorbato peroxidase (EC 1.11.1.11)	$H_2O_2 = O_2 + H_2O$	Peroxissomo, citoplasma e clorosplasto	KARYOTOU & DONALDSON, 2005

Figura 6. Representação esquemática da geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) em plantas. A ativação ocorre no O_2 por dois diferentes mecanismos. Redução gradual monovalente de oxigênio atômico (1O_2) que leva à formação de oxigênio molecular (O_2), superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e hidroxila (OH^\cdot), enquanto a transferência de energia para O_2 leva a formação de 1O_2 , superóxido (O_2^-) é facilmente dismutado ao H_2O_2 enzimaticamente pela superóxido dismutase (SOD). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é convertido em água (H_2O) pela catalase (CAT), e ascorbato peroxidase (APX).



FONTE: SHARMA et al., 2012 (Figura adaptada).

O sistema de defesa antioxidante trabalha em conjunto para controlar as cascatas de oxidação descontrolada e proteger a célula vegetal dos danos oxidativos das ERO. Este sistema de defesa antioxidante é encontrado em quase todos os compartimentos celulares, demonstrando a importância na desintoxicação de ERO para sobrevivência celular (VENKATESWARLU et al., 2012).

Superóxido dismutase (SOD)

A enzima superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) foi isolada pela primeira vez em 1938 por Mann & Keilin a partir de sangue de bovino, na época cogitava-se que fosse uma proteína de armazenamento de cobre. No entanto, sua função catalítica só foi descoberta em 1969 por McCord & Fridovich (CASTRO, 2002). A superóxido dismutase é uma metaloenzima do sistema antioxidante enzimático intracelular eficaz, que catalisa dismutação de radicais superóxido (radicais com tempo de vida curto) em peróxido de hidrogênio (ERO mais estável) (GILL & TUJETA, 2010).

As SOD se localizam principalmente nas mitocôndrias e cloroplastos, compartimentos que geram a maior parte das ERO (MAIA, 2012). É importante ressaltar que a membrana fosfolipídica é impermeável aos radicais superóxido, conduzindo assim a sua acumulação nas células em níveis tóxicos em situações de estresse. Portanto, é crucial que diferentes isoformas de SOD sejam ativadas para a remoção de $O_2^{\bullet-}$, nos compartimentos subcelulares onde os radicais são gerados (ARORA & BHATLAS, 2015).

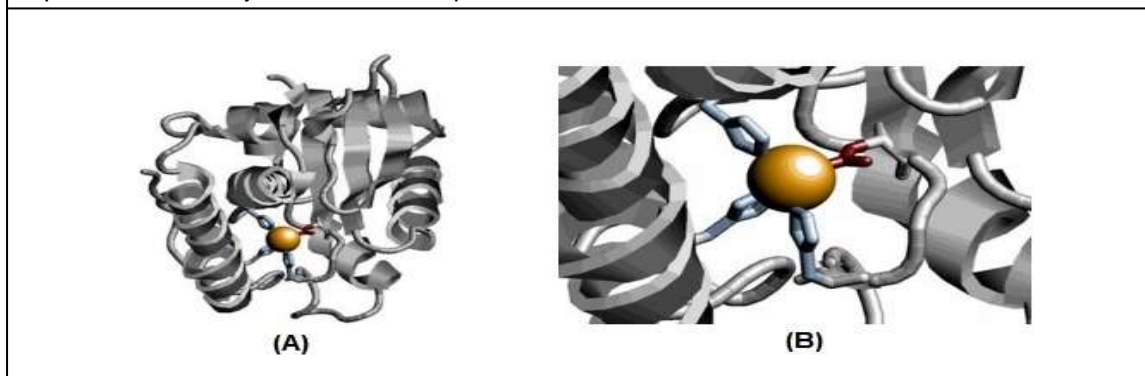
Está bem estabelecido que estresses ambientais muitas vezes levam ao aumento da geração de ERO. A SOD tem sido muito estudada por sua importância na tolerância ao estresse de plantas e por fornecer a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos dos níveis elevados de espécies reativas de oxigênio (MITTLER, 2002). As SOD são classificadas pelos seus cofatores de metal, em três tipos: cobre/ zinco (Cu/ Zn-SOD), manganês (Mn- SOD) e ferro (Fe-SOD), que estão localizados em diferentes compartimentos celulares (GILL & TUTEJA, 2010). A Cu/Zn-SOD está localizada principalmente no citoplasma das células eucarióticas, Mn-SOD existe na mitocôndria de células eucarióticas e citoplasma de células procarióticas, e a Fe-SOD ocorre principalmente nos procariotos e cloroplastos de plantas (ARORA & BHATLAS, 2015).

Tem sido relatado um novo tipo de SOD, em seu sítio ativo há níquel (Ni-SOD), estando presente em *Streptomices* e cianobactérias. A Ni-SOD possui uma estrutura homohexamérica onde cada subunidade está conformada por quatro hélices, onde se localiza o sítio ativo. A Ni-SOD, apresenta baixo peso

molecular, sendo que toda a estrutura apresenta de 13.000 KDa (WUERGES et al., 2004; PEREIRA, 2010).

De maneira geral, as Cu/Zn-SOD são encontradas no citosol e no estroma dos cloroplastos, possuem um peso molecular de 32.000 KDa. Em folhas de *Nicotiana plumbaginifolia* (TABACO) a isoenzima Cu/Zn-SOD, teve seu peso molecular em cerca de 33,2 KDa, sendo que a eletroforese revelou a presença de duas subunidades iguais de 16,6 KDa (HAYKAWA et al., 1994; PEREIRA, 2010). As Mn-SOD e Fe-SOD têm sido achadas comumente na matriz mitocondrial de células eucarióticas e em células procarióticas. A Mn-SOD é uma proteína cujo peso molecular é de 40.000 KDa, a Fe-SOD foi encontrada em algumas famílias de plantas superiores e está associada principalmente aos cloroplastos, possui peso molecular de 55,85 KDa. A estrutura molecular da Fe-SOD está representada na Figura 7 (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1990; MALLICK & MOHN, 2000; PEREIRA, 2010).

Figura 7. Estrutura molecular da superóxido dismutase Fe-SOD. (A) Estrutura tridimensional da isoforma Fe-SOD. (B) Detalhe do centro ativo. Desenhados a partir do modelo descrito para Fe-SOD de *Escherichia coli* (Cod. 11SA do Protein Data Bank), utilizando o programa RasMol (SAYLE e MILNER-WHITE, 1995). Em azul, os resíduos de histidina, em vermelho resíduos de aspartato, em laranja Fe^{+2} , em cinza β -fias e α -hélices.

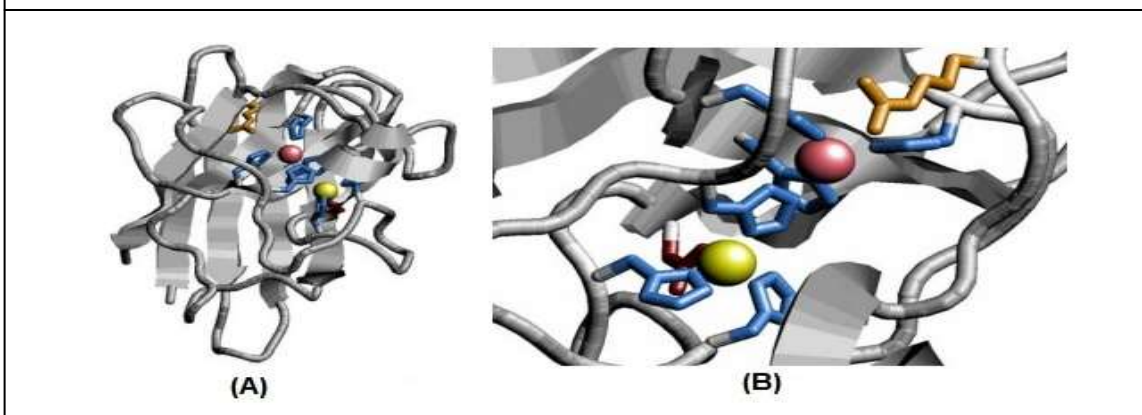


Fonte: CASTRO, 2002.

A estrutura da Cu/Zn-SOD (Figura 8) consiste em uma chave-grega beta-barril com oito fitas antiparalelas, apresentando-se como um homodímero com massa molecular de cerca de 32.000 Da e contém um átomo de cobre e zinco por subunidades, sendo o cobre específico e o zinco pode ser substituído por outros metais sem diminuição da atividade. O centro ativo está localizado no fundo de um canal profundo do lado de fora do β -barril entre dois loops largos

(HASSAN, 1989; JAMES, 1994; CASTRO, 2002). Durante a reação catalítica, o Cu^{2+} é reduzido e oxidado durante encontros sucessivos com o substrato superóxido no centro ativo (TAINER et al., 1983; CASTRO, 2002).

Figura 8. Estrutura da superóxido dismutase Cu/Zn-SOD. (A) Estrutura tridimensional da isoforma Cu/Zn-SOD. (B) Detalhes do centro ativo. Desenhados a partir do modelo descrito para Cu/Zn-SOD de levedura (Cod. 1SDY do Protein Data Bank), utilizando o programa RasMol (SAYLE e MILNER-WHITE, 1995). Em azul, os resíduos de histidina em vermelho, o resíduo de aspartato em laranja, o resíduo de arginina, em amarelo Zn^{+2} , em rosa Cu^{+2} , em cinza β -fias e α -hélices.



Fonte: CASTRO, 2002.

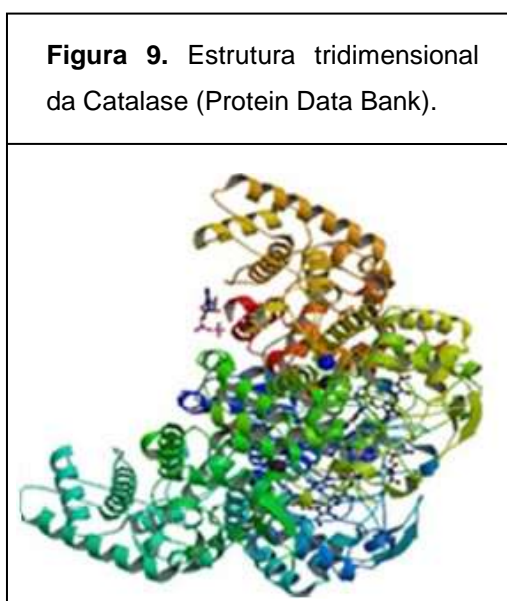
Pouco se sabe sobre a regulação dos tipos de SOD por modificações pós-traducionais (GILL et al., 2015). No entanto, sabe-se que na bactéria *Escherichia coli*, a atividade da SOD é regulada na transcrição pelo operon *soxRS* (CASTRO, 2002). Em plantas a atividade da SOD nas células é aumentada em respostas a diversos estresses xenobiótico, biótico e abiótico. Aparentemente cada uma das isoenzimas de SOD é independentemente regulada de acordo com o grau de estresse oxidativo existentes em cada compartimento celular, mas os mecanismos moleculares dessa comunicação ainda são desconhecidos (BOWLER et al., 1992; CASTRO, 2002)

A enzima superóxido dismutase tem sido utilizada como agente antioxidante em aplicações na medicina, na cosmética, indústria química e alimentícia. E são atualmente fornecidas por métodos de extração ou o uso de clonagem recombinante a partir de plantas. Além disso, algumas isoformas de SOD em plantas estão envolvidas na defesa contra agentes patogênicos e na sinalização para as várias tensões, uma vez que as diferentes isoformas de

SOD em plantas apresentam diferentes respostas a infecções e estresse (NIYOMPLOY et al., 2014). O nível de expressão das isoenzimas de SOD são específicos em tecidos chave e pode ser utilizado como um indicador para determinar o estágio de crescimento ou circunstância de um estresse ou infecção na planta (NIYOMPLOY et al., 2014).

Catalase (CAT)

A Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) é uma enzima tetramérica (Figura 9) que contém um grupamento heme em cada subunidade encontrada e está presente em todos os organismos aeróbicos (HORVÁTH et al., 2002). A CAT apresenta um peso molecular de 240.000 KDa em célula animal e em plantas existem pelo menos três tipos de catalases distintas, que diferem em termos de localização e regulação (PEREIRA, 2010).



FONTE: PEREIRA, 2010.

A CAT decompõe o H_2O_2 em água e gás oxigênio, evitando que as células sofram danos oxidativo. As catalases estão presentes nos peroxissomos, glioxissomos e organelas relacionadas onde enzimas geradoras de peróxido estão localizadas. Mas também podem estar presentes em mitocôndrias e no citoplasma (RESENDE et al., 2003; ROCHA, 2014). A CAT tem uma das maiores constante de catálise (taxas de rotatividade) de todas as enzimas, uma molécula de CAT converte cerca de seis milhões de moléculas de H_2O_2 para

H₂O e O₂ por minuto. Assim a CAT é importante na remoção de peróxido de hidrogênio, que é gerado em peroxissomos pelas oxidases envolvidas na β-oxidação de ácidos graxos, fotorrespiração e catabolismo de purinas (GILL & TUJETA, 2010; HASANUZZAMAN et al., 2012).

Devido a sua larga distribuição, conservação evolutiva e capacidade de degradar rapidamente o peróxido de hidrogênio, a CAT possui uma extrema importância nos sistemas que evoluíram para permitir que organismos pudessem habitar em sistemas aeróbicos, pois esta é responsável pela remoção do excesso de ERO (SCANDALIOS, 2005).

Os genes CAT respondem diferencialmente a vários estresses conhecidos que geram ERO (SCANDALIOS, 2005). As plantas possuem várias isoformas de CAT presentes nos peroxissomas e glioxissomas. Podem ser divididas em três categorias: 1 – catalase monofuncional, removedora de H₂O₂ produzido durante a fotorrespiração em tecidos fotossintéticos; 2 – catalase peroxidase bifuncional (KatG), são produzidas em tecidos vasculares e podem exercer uma função de lignificação, sua exata função biológica permanece desconhecida; 3 – binuclear catalase de manganês (Mn-catalase), estão presentes abundantemente em sementes de plantas jovens, cuja atividade está relacionada à remoção do H₂O₂ produzido durante a degradação dos ácidos graxos no glioxissoma (CHAKRAVARTY et al., 2015).

A CAT 1 e CAT 2, têm sido extensivamente caracterizadas a partir de vários organismos procariotos e eucariotos. E a distribuição da Mn-CAT é restrita a procariotos e Arquea. A Mn-CAT tem sido relativamente mal caracterizada, a estrutura cristalina de somente duas Mn-CAT foram relatadas até agora, estas estruturas têm demonstrado que as mesmas são proteínas de 4 hélices pertencentes à superfamília do tipo de ferritina (CHAKRAVARTY et al., 2015).

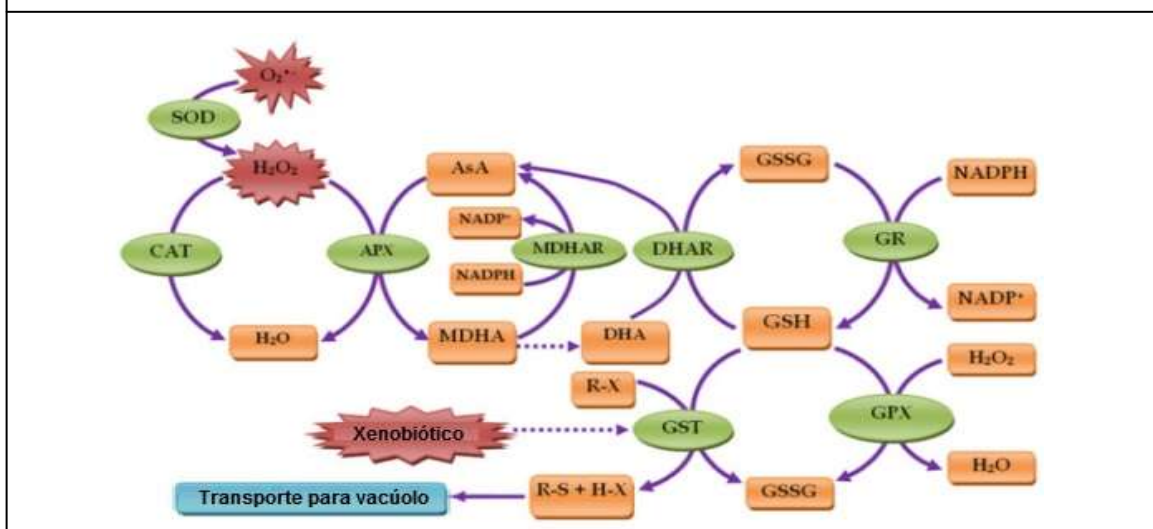
Ascorbato peroxidase (APX)

Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) é uma enzima responsável pela eliminação de H₂O₂, é o primeiro passo do ciclo do ascorbato glutationa (ASA-GSH) e pode desempenhar o papel mais importante na limpeza de ERO,

protegendo as células de plantas superiores. APX são enzimas que contêm grupo heme envolvido na decomposição de H_2O_2 em H_2O no ciclo do ASA-GSH, utilizando o ascorbato (ASA) como substrato e catalisando elétrons de ASA para H_2O_2 , produzindo dehidroascorbato (DHA) e água (HASANUZZAMAN et al., 2012).

O ciclo ascorbato-glutationa é um caminho eficiente para as células vegetais eliminarem o H_2O_2 em certos compartimentos celulares onde esse metabólito é produzido e nenhuma catalase está presente. Esse ciclo usa os antioxidantes não enzimáticos (ascorbato e glutatona) em uma série de reações catalisadas por quatro enzimas antioxidantes: ascorbato – APX, monodehidroascorbato redutase – MDHAR, dehidroascorbato redutase – DHAR e glutatona redutase – GR, como demonstrado na Figura 10 (RESENDE, 2010; HASANUZZAMAN et al., 2012).

Figura 10. Mecanismos de desintoxicação de ERO por ação diferentes enzimas antioxidantes. As linhas pontilhadas denotam conversão não enzimática. R pode ser um grupo alifático, aromático ou heterocíclico; X pode ser um sulfato, nitrito ou grupo halogênio. Superóxido dismutase (SOD), radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), água (H_2O), ascorbato (AsA), nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato oxidado (NADP^+), nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato reduzido ($\text{NADPH} + \text{H}^+$), monodehidroascorbato (MDHA), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR), glutatona redutase (GR), glutatona oxidada (GSSG), glutatona reduzida (GSH), glutatona S-transferase (GST), glutatona peroxidase (GPX).

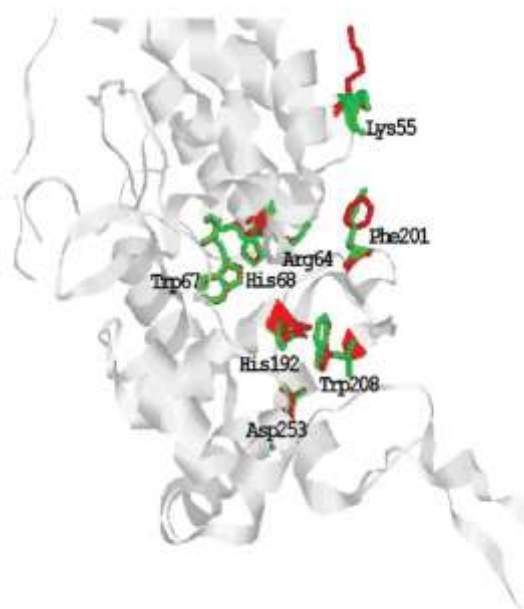


Fonte: VENKATESWARLU et al., 2012 (Figura adaptada).

A família APX consiste em pelo menos cinco diferentes isoformas incluindo a mitocondrial (mAPX), a tilacóide (tAPX), formas na membrana dos glioxissomos (gmAPX), bem como a forma solúvel do estroma do cloroplasto (sAPX) e a forma citosólica (cAPX). A atividade da APX é melhorada em plantas em respostas as diferentes condições de estresses abióticos (HASANUZZAMAN et al., 2012).

As APX são hemoproteínas contendo o grupo prostético protoporfirina, similar a guaiacol peroxidase em plantas (Figura 11). As propriedades enzimáticas da APX, contudo, são bem diferentes de outras heme – peroxidases. As isoenzimas variam em uma faixa de massa molecular entre 27 e 40 kDa. Geralmente, a APX está presente como um monômero, ou como um homodímero (ASADA, 1992; SOARES, 2006).

Figura 11. Modelo estrutural da APX mostrando a posição dos resíduos de aminoácido, lisina (Lys55), fenilalanina (Phe201), arginina (Arg64), tripisina (Trp67 e 208), histidina (His68 e 192), asparigina (Asp253). Os resíduos de cor verde e vermelho representam resíduos de APX o modelo é baseado em estruturas cristalinas publicadas para soja complexo citosólico APX-ascorbato.



Fonte: ADAK e DATTA, 2005.

A diferença de afinidade entre a Ascorbato peroxidase (APX) (faixa de μM) e a CAT (faixa de mM) pelo H_2O_2 sugere que elas pertençam a duas classes

distintas de enzimas responsivas ao H_2O_2 : APX pode ser responsável pela fina modulação das ERO para a sinalização, enquanto a CAT pode ser responsável pela remoção do excesso de ERO durante o estresse (MITTLER, 2002; ROLÃO, 2010;). A CAT é única dentre as enzimas que degradam H_2O_2 , pois não consome equivalentes redutores celulares, além de possuir um mecanismo muito mais eficiente para a remoção do peróxido de hidrogênio formado nas células sob condições de estresse (SCANDALIOS, 2005; ROLÃO, 2010).

REFERÊNCIAS

ABREU, L. A. S.; CARVALHO, M. L. M.; GOMES PINTO, C. A.; KATAOKA, V. Y.; SILVA, T. T. A. Deterioration of sunflower seeds during storage. **Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 240-247, 2013.

ADAK, S.; DATTA, A. K. Leishmania major encodes an unusual peroxidase that is a close homologue of plant ascorbate peroxidase: a novel role of the transmembrane domain. **Jornal Biochemical**, Londres, v. 390, p. 4655-474, 2005.

ALBUQUERQUE, S. C.; ROCHA, B.; ALBUQUERQUE, R. F.; OLIVEIRA, J. S.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F.; EVÊNCIO-NETO, J.; MENDONÇA, F. S. Spontaneous poisoning by *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) in cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 9, p. 827-831, 2014.

ALMEIDA, F. A. C.; FONSECA, K. S.; GOUVEIA, J. P. G. G. Influência da embalagem e do local de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de gergelim. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.3, n.2, p. 195-201, 1999.

ALMEIDA, F. A. C.; JERÔNIMO, E. S.; ALVES, N. M. C.; GOMES, J. P. SILVA, A. S. Estudo de técnica para o armazenamento de cinco oleaginosas em condições ambientais e criogênicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campinas Grande, v. 12, n. 2, p.189-202, 2010.

ANP. Resolução nº 07, de 19 de março de 2008, Regulamento técnico para a qualidade dos biocombustíveis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 01-09, 2008.

ARMENDÁRIZ, J.; LAPUERTA, M.; ZAVALA, F.; GARCÍA-ZAMBRANO, E.; OJEDA, M. C. Evaluation of eleven genotypes of castor oil plant (*Ricinus communis* L.) for the production of biodiesel. **Industrial Crops and Products**, Clegg, v. 77, p. 489-490, 2015.

ARORA, D. & BHATLAS, S. C. Nitric oxide triggers a concentration-dependent differential modulation of superoxide dismutase (Fe-SOD and Cu/Zn-SOD) activity in sunflower seedling roots and cotyledons as an early and long distance signaling response to NaCl stress. **Plant Signaling & Behavior**, Londres, v.10, n. 10, p. 1-28, 2015.

ASSADA, K. Ascorbato peroxidase – a hydrogen peroxidase-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 85, p. 235-241, 1992.

AZEVEDO, D. M. P. de; BELTRÃO, N. E. de M. (Ed.). O agronegócio da mamona no Brasil. 2. ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. 506 p.

BAFOR, M.; SMITH, M. A.; JONSSON, S. L.; STOBART, K.; STYMNET, S. Ricinoleic acid biosynthesis and triacylglycerol assembly in microsomal preparations from developing castor-bean (*Ricinus communis*) endosperm. **Biochemical**, Londres, v. 280, p. 507-514, 1991.

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 14, p. 93-107, 2004.

BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in malodialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiology Plantarum**, Campos dos Goytacazes, v. 97, n. 1, p. 104-110, 1996.

BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUATEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, França, v. 331, p. 806–814, 2008.

BALDONI, A. B.; CARVALHO, M. H.; SOUSA, N. L.; NÓBREGA, M. B. M.; MILANI, M.; ARAGÃO, F. J. L. Variability of ricin content in mature seeds of castor bean. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 7, p. 776-779, 2011.

BARBOSA, K. B. R.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; OLIVEIRA DE PAULA, S.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.4, n. 23, p. 629-643, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, Salvador, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006

BELTRÃO, N. E. M.; MELO, F.B.; CARDOSO, G. D.; SEVERINO, L. S. Mamona: Árvore do Conhecimento e Sistemas de Produção para o Semi-árido Brasileiro. Campina Grande, PB: MAPA, 2003. 19 p.

BOWLER, C.; VAN MONTAGUE, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Heidelberg, v.43, p. 83-116, 1992.

BRANDON, D. L.; MCKEON, T. A.; PATFIELD, S. A.; KONG, Q.; HE, X. Analysis of Castor by ELISAs that distinguish ricin and *Ricinus communis* agglutinin (RCA). **American Oil Chemists' Society**, São Paulo, p.1-5, 2015.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009.

CANGEMI, J. M.; SANTOS, A. M.; CLARO NETO, S. A revolução verde da mamona, **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 32, p. 3-8, n. 1, 2010.

CASTRO, L. A. **Superóxido dismutase do fungo entomopatogênico e acaricida *Metarhizium anisopliae***. 2002, 70f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

CHAKRAVARTY, D.; BANERJEE, M.; BIHANI, S. C.; BALLAH, A. A Salt-Inducible Mn-catalase (KatB) protects cyanobacterium from oxidative stress. **Plant Physiology Preview**, Mumbai, p.1-37, 2015.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S.; ZANGONEL, G. F.; RAMOS, L. P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 531-537, 2000.

COSTA, M.; HUANG, B. Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for Bentgrass species in repose to drought stress. **American Society for Horticultural Science**, New Brunswick, v. 132, n. 3, p. 319-32, 2007.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA-algodão). Mamona. Disponível em: <http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/index.html>. Acesso em 27 de setembro de 2015.

FERREIRA, A. G. & BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao avançado**. São Paulo: Artimed Editora, 2004. Cap. 18: Teste de qualidade, p. 283-297.

FIGUEIREDO, S. M. **Qualidade fisiológica de sementes de mamona em função da embalagem, condições e períodos de armazenagem**. 2006, 61 f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006.

FLORES, A. V.; BORGES, E. E. L.; GUIMARÃES, V. M.; GONÇALVES, J. F. C.; ATAÍDE, G. M.; BARROS, D. P. Atividade enzimática durante a germinação de sementes de *Melanoxylon brauna* Schott sob diferentes temperaturas. **Cerne**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 401-408, 2014.

FONSECA, N. B. S.; SOTO-BLANCO, B. Toxidade da ricina presente nas sementes de mamona. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1415 – 1424, 2014.

FREIRE, R. M. M. Ricinoquímica. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Ed.). O agronegócio da mamona no Brasil. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, cap. 13, p. 296-335, 2001.

FREITAS, R. A.; DIAS, C. F. S.; DIAS, L. A. S.; OLIVEIRA, M. G. A. Testes fisiológicos e bioquímicas na estimativa do potencial de armazenamento de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n.1, p. 84-91, 2004.

GARLET, J.; SOUZA, G. F.; DELAZERI, P. Teste de tetrazólio em sementes de *Cassia leptophylla*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 11, n. 21, p.1800-1808, 2015.

GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Pré-condicionamento das sementes de mamoneira para o teste de tetrazólio. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, v. 33, n. 2, p. 303-311, 2011.

GASPAR-OLIVEIRA, C.; MARTINS, C.; NAKAGAWA, J. **Método de preparo das sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.) para o teste de tetrazólio.** Revista Brasileira de Sementes, Botucatu, v. 31, n. 1, p.160-167, 2009.

GILL, S. S. & TUTEJA, N. Reactive species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Deli, v.48, p. 909-930, 2010.

GRAMACHO, D. R. **Caracterização e aproveitamento do resíduo sólido proveniente do processo industrial do óleo de mamona.** 2012, 98f. Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymol**, Sidney, v. 186, p. 1-5, 1990.

HASANUZZAMAN, M. HOSSAIN, M. A. SILVA, J. A. T. S. FUJITA, M. Plant Response and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. In: VENKATESWARLU, B; SHANKER, A. K.; SHAKER, C.; MAHESWARI, M. **Crop stress and its management: perspectives and strategies.** New York: Springer; 2012. p. 261-301.

HASSAN, H. M. Microbial superoxide dismutase. **Advances in Genetics**, Rio de Janeiro, v. 26, p.65-97, 1989.

HAYKAWA, T.; KANEMATSU, S.; ASADA, K. Occurrence of Cu, Zn – Superoxide dismutase in the intrathylakoid space of spinach-chloroplasts. **Planta and Cell Physiology**, Kyoto, v. 25, n. 6, p. 883-889, 1994.

HEBERLE, E. **Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de milho armazenadas.** 2012, 56f. Tese – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

HOFFMAN, L. V.; DANTAS, A. C. A.; MEDEIROS, E. P.; SOARES, L. S. Ricina: Um Impasse para Utilização da Torta de Mamona e suas Aplicações. **EMBRAPA**, Campina Grande, p. 1-26, 2007. (Embrapa Algodão. Documentos, 174).

HORVÁTH, E.; JANDA, T.; SZALAI, G.; PÁLDI, E. *In vitro* salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. **Plant Science**, Oxford, v. 163, p. 1129-1135, 2002.

JAMES, E. R. Superoxide dismutase. **Parasitology Today**, Melbourne, v. 10, n. 12, p. 481-484, 1994.

KARYOTOU, K.; DONALDSON, R. P. Ascorbate peroxidase, a scavenger of hydrogen peroxide in glyoxysomal membranes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Rio de Janeiro, v. 434, p. 248-257, 2005.

LAGO, A. A.; ZINK, E.; RAZERA, L.F.; BANZATTO, N.V.; SAVY FILHO, A. Dormência em sementes de três cultivares de mamona . **Bragantia**, São Paulo, v.38, p-XLI-XLIV, 1979.

LUBELLI, C.; CHATGILIALOGLU, A.; BOLOGNESI, A.; STROCCHI, P.; COLOMBATTI, M.; STIRPE, F. Detection of ricin and other ribosomeinactivating proteins by an immuno-polymerase chain reaction assay. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 355, n. 1, p. 102-109, 2006.

LUZ, R. P. **Caracterização morfológica, molecular e agrônômica de cultivares de nordestina**. 2012, 94 f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal De Lavras, Lavras, 2012.

MAIA, M. O.; QUEIROGA, R. C. R. E.; MEDEIROS, A. N.; COSTA, R. G.; BOMFIM, M. A. D.; FERNANDES, M. F. Consumo, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos de cabras mestiças Moxotó suplementadas com óleos de licuri ou mamona. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 1, p. 149-155, 2010.

MALLICK, N., MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of algae cells. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 157, n. 2, p.183 – 193, 2000.

MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. **Função de Estudos Agrários Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 1, p.495, 2005.

MENDES, R. C.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA, M. D.; DIAS, L. A. S. Testes de vigor para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Ciências Agrotecnicas**, Lavras, v. 34, n.1, p. 114-120, 2010.

MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; SERRA, T. M.; BARBOSA, D. C.; WOLF, C. R. Biodiesel Production from Vegetable Oil Mixtures: Cottonseed, Soybean, and Castor Oils. **Energy & Fuels**, Newport Beach, v. 21, p. 3746–3747, 2007.

MITTLER, R. Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, Cambridge, v.7, p. 405-410, 2002.

MOLDES, C. A. **Respostas de enzimas antioxidantes à aplicação de herbicida glifosato em variedades de soja transgênica e não transgênica**. 2006, 92f. Tese – Programa de Pós-graduação em Ecologia Aplicada, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MONTEIRO, A. G. P. **Detoxificação de coprodutos obtidos da extração dos óleos de Pinhão (*Jatropha curca* L.) e de Mamona (*Ricinus communis* L.) para a produção de alimentos animais**. 2014, 128 f. Tese, Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

NIYOMPLOY, P.; SRISOMASP, C.; CHOKCHAICHAMNANKIT, D.; VINAYAVEKHIN, N.; KARNCHANATAT, A., SANGVANICH, P. Superoxide dismutase isozyme detection using two-dimensional gel electrophoresis

zymograms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Toronto, v. 90, p. 72-77, 2014.

OLIVEIRA, M. **Efeitos da umidade, do tempo e de sistemas de armazenamento sobre parâmetros de qualidade e propriedades tecnológicas dos grãos e do óleo de soja**. 2011. 131 f. Tese - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidad Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

PEREIRA, E. P. L. **Marcadores bioquímicos da atividade antioxidante em sementes de *Amburana cearenses* (Fr. Allemão) A. C. Smith submetidas a estresse hídrico**. 2010, 90f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

RESENDE, E. C. O. **Enzimas antioxidantes em frutos com diferentes padrões de amadurecimento**. 2010, 67f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Produção Agrícola, Instituto Agrônomo, 2010.

RESENDE, M. L. V., SALGADO, S. M. L. & CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 123-130, 2003.

RIBEIRO, P. R. FERNANDEZ, L. G.; CASTRO, R. D.; LIGTERINK, W.; HILHORST, H. W. M. Physiological and biochemical responses of *Ricinus communis* seedlings to different temperatures: a metabolomics approach. **BMC Plant Biology**, Londres, v. 14, n. 223, p. 1-14, 2014.

RIBEIRO, P. R.; ZANOTTI, R. F.; DEFLERS, C.; FERNANDEZ, L. G.; CASTRO, R. D.; LIGTERINK, L.; HILHORST, H. W. M. Effect of temperature on biomass allocation in seedlings of two contrasting genotypes of the oilseed crop *Ricinus communis*. **Journal of Plant Physiology**, Rio de Janeiro, v. 185, p. 31-39, 2015.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELÚZO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience**, Uberlândia, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.

ROCHA, L. D. **Ácido Húmico extraído do lodo de esgoto sanitário e seus efeitos em plantas**. 2014, 70f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014.

ROLÃO, M. B. **Resposta antioxidativa de cafeeiros (*Coffea arabica*) exposto ao metal pesado cádmio**. 2010, 67f. DISSERTAÇÃO – Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SANTOS, F. **Levantamento da qualidade de sementes de amendoim armazenadas no estado de São Paulo**. 2013, 98f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical e subtropical, Campinas, 2013.

SANTOS, H., O. **Conservação de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.)**. 2010, 85f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SANTOSO, B. B.; PARWATA, I. A.; JAYA, I. K. D. Seed Viability and Oil Content of Castor Bean (*Ricinus communis* L.) as Affected by Packaging Materials during Storage. **International Journal of Applied Science and Technology**, Nonthaburi, v.5, n. 2, p. 56-61, 2015.

SAYLE, R. A.; MILNER-WHITE, E. J. Rasmol: biomolecular graphics for all, **Trends in Biochemical Sciences**, California, v. 20, n. 9, p. 374, 1995.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SCANDALIOS, J. G. Regulation and properties of plants catalase. In: FOYER, C. H.; MULIUNEAUX, P. M. (Ed.) **Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants**. Boca Ratón: CRC Press, 1994. P. 275-315.

SEVERINO, L. S. O que sabemos sobre a torta de mamona. **EMBRAPA**, Campina Grande, p. 1-32, 2005. (Embrapa Algodão. Documentos, 136).

SHABAN, M. Review on physiological aspects of seed deterioration. **International Journal of Agriculture and Crop Science**, Boroujerd, v. 6, n.11, p. 27-631, 2013.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, Londres, p. 1-26, 2012.

SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIEIRA, S. A.; PONTE, L. F. A.; SILVEIRA, J. A. S. Coordinate changes in photosynthesis, sugar accumulation and antioxidative enzymes improve the performance of *Jatropha curcas* plants under drought stress. **Biomass and Bioenergy**, São Paulo, v. 45, p. 270-279, 2012.

SILVA, J. A. Avaliação do Programa Nacional de produção e uso do biodiesel no Brasil – PNPB. **Política agrícola**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 18-31, 2013.

SILVAL, P. R. F.; FREITAS, T. F. S. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 843-851, 2008.

SINGH, A. S.; KUMARI, S.; MODI, A. R.; GAJERA, B. B.; NARAYANAN, S.; KUMAR, N. Role of conventional and biochnological approaches in geneticimprovement of castor (*Ricinus communis* L.). **Industrial Crops and Products**, Willoughby, v. 74, p. 55-62, 2015.

SOARES, A. M. S. **Análise da resposta antioxidante em plantas de *Ricinus communis* submetidas ao estresse por metil jasmonato**. 2006, 53f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia,

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2006.

SOUZA, N. C.; MOTA, S. B.; BEZERRA, F. M. L.; AQUINO, B. F.; SANTOS, A. B. Produtividade da mamona irrigada com esgotodoméstico tratado. **Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina grande, v.14, p.478-484, 2010.

TAINER, J. A.; GETZOFF, E. D.; RICHARDSON, J. S.; RICHARDSON, D. C. Structure and mechanism of cooper, zinc superoxide dismutase. **Nature**, Tóquio, v. 308, p. 284-287, 1983.

TRZECIAK, M. B. **Formação de semente de soja: aspectos físicos, fisiológicos e bioquímicos**. 2012, 131f. Tese – Apresentada a Pós-Graduação em Fitotecnia, Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba, 2012.

VASCONCELLOS, A. **Qualidade fisiológica de sementes de mamona e gengilim provenientes do consórcio**. 2012, 18f. Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Agroecologia e Agropecuária, Universidade Estadual da Paraíba, Lagoa Seca, 2012.

VIDIGAL, D. S.; SANTOS DIAS, D. C.; PINHO, E. V. R. V.; DIAS, L. A. S. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annum* L.). **Revista Brasileira de sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 129-136, 2009.

VIEIRA, R. D.; PENARIOL, A. L.; PERECIN, D. PANOBIANCO, M. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rondônia, v. 37, n. 9, p. 1333-1338, 2002.

WUERGES, J; LEE, J. W.; YIM, H. S; KANG, S. O.; CARUGO, K. D. Crystal structure of nickel-containing superoxide dismutase reveals another type of active site. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States Of America**, Washington, v. 101, n. 23, p. 8569-8574, 2004.

ZUCHI, J.; BEVILAQUA, G. A. P.; ZANUNCIO, J. C.; PESKE, S. T.; SILVA, S. D. A.; SEDIYAMA, C. S. Características agronômicas de cultivares de mamona em função do local de cultivo e da época de semeadura no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p.501-506, 2010.

CAPÍTULO 1

Efeito do armazenamento nas características fisiológicas das sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *Ricinus communis* L.

RESUMO

A mamona, *Ricinus communis* L., da família Euphorbiaceae, muito difundida em regiões temperadas, tropicais, sub-tropicais e quentes, é comercialmente cultivada em larga escala pois apresenta diversas aplicabilidades, principalmente para a indústria. Durante o armazenamento, a qualidade das sementes depende principalmente da umidade e temperatura. Condições ambientais influenciam diretamente no processo de armazenamento, podendo ocorrer danos oxidativo ao longo do tempo. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo investigar o efeito de diferentes condições de armazenamento nas características fisiológicas de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições de temperatura e umidade. Foram utilizadas sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu que foram armazenadas durante 12 meses (março de 2014 a março de 2015) em diferentes condições: (1) umidade relativa e temperatura controlada - URTC, (2) umidade relativa controlada - URC, (3) temperatura controlada - TC e (4) umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório - URTAL. Foram avaliados parâmetros fisiológicos de germinação (Germinação máxima final – GFM, Tempo para alcançar 50% de germinação – T50, Uniformidade da germinação – U8416, Área abaixo da curva – AAC, porcentagem de plântulas normais, biometria e massa seca das plântulas normais), umidade e avaliação de viabilidade das sementes através do teste de tetrazólio. Os cultivares Nordestina e Paraguaçu apresentam comportamentos fisiológicos distintos. O cultivar Nordestina apresentou os melhores resultados fisiológicos para GFM, T50, U8416, AAC, viabilidade de semente e quantidade de plântulas normais. A produção de plântulas normais está diretamente relacionada com a porcentagem de germinação, para ambos os cultivares. Quando não se controla nem a temperatura e nem a umidade relativa (URTAL), principalmente para as sementes do cultivar Paraguaçu, de qualidade inferior ao cultivar Nordestina, há alteração nos parâmetros fisiológicos e diminuição da germinabilidade e vigor das sementes. A umidade relativa é o principal fator que interfere na qualidade das sementes ao longo do tempo. Para ambos os cultivares as melhores condições de armazenamento foram as que tiveram a umidade relativa controlada (URTC e URC). O armazenamento de sementes de *R. communis* pode ser realizado mantendo apenas o controle de umidade relativa, principalmente em ambientes onde é difícil a manutenção da temperatura, a exemplo do armazenamento realizado pelo pequeno agricultor do semiárido Brasileiro.

Palavras chaves: Germinabilidade. Mamona. Umidade Relativa. Viabilidade

1. INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) pertencente à família Euphorbiaceae, é atualmente cultivada em diversos países do mundo. Apresenta destaque em três países: Índia, a China e o Brasil, são considerados os maiores produtores mundiais (BRITO et al., 2015; SINGH et al., 2015). Essa espécie vegetal é uma oleaginosa que possui uma relevante importância econômica e social, principalmente devido às características e possibilidades de uso do óleo extraído de suas sementes que é rico em ácido ricinoléico - ácido 12-hidroxi-cis-9-octadecenóico (SOUZA et al., 2010; RIBEIRO et al., 2015).

A mamona apresenta baixo custo de produção e por ser de fácil manejo, seu cultivo constitui uma das opções agrícolas, sendo uma boa alternativa no plantio para o pequeno agricultor, pois serve como uma possibilidade de trabalho e renda, tornando-se uma cultura viável para a região semiárida do Brasil, onde há poucas alternativas agrícolas (RIBEIRO et al., 2014). A mamona é uma cultura importante para a economia do semiárido do brasileiro, devido a sua capacidade de gerar renda para os agricultores familiares do nordeste (QUEIROGA et al., 2011).

A produção agrícola do mundo depende fundamentalmente das sementes, logo, a manutenção de sua viabilidade durante o armazenamento é de particular importância. Nesse sentido é importante salientar que a utilização de sementes com boa qualidade física, fisiológica e sanitária, são fatores de fundamental importância para o sucesso da produção (NOBRE et al., 2014), bem como, a ampliação do conhecimento sobre o armazenamento e preservação de sementes (ABREU et al., 2013).

Durante o armazenamento existem fatores que devem ser levados em consideração, tais como: a qualidade inicial do lote de sementes, o ambiente para a conservação (temperatura, umidade, disponibilidade de oxigênio e o tipo de embalagem), bem como características inerentes às espécies. O tipo de embalagem durante o armazenamento assume um papel relevante sobre a qualidade da semente, uma vez que a embalagem ajuda a atenuar a velocidade de deterioração, ao manter o teor de umidade inicial das sementes

armazenadas, mesmo com a diminuição, ou não, da taxa de respiração das sementes (ABREU et al., 2013).

O teor de umidade das sementes depende da umidade relativa do ar no ambiente de armazenamento que por sua vez, é influenciado pela temperatura. O tempo necessário para que a umidade das sementes entre em equilíbrio com a umidade relativa do ambiente (ponto de equilíbrio higroscópico) depende da espécie e principalmente da temperatura (KANO et al., 1978; SANTOS, 2010; MBOFUNG et al., 2013).

As condições de armazenamento são determinantes para garantia da qualidade fisiológica das sementes e, embora a sua qualidade não possa ser melhorada, boas condições durante este período contribuirão para mantê-las viáveis por um tempo mais longo, retardando o processo de deterioração (CAIXETA, 2009; ALMEIDA, 2010). Quando imprópriamente armazenadas, as sementes oleaginosas se deterioram devido ao aumento da acidez. Além disso, o armazenamento inadequado provoca problemas como: morfo, perda de cor, diminuição do vigor e das reservas nutritivas da semente, o que faz com que os produtores de sementes se preocupem com a utilização de técnicas que propiciem a minimização dos fatores de deterioração (FIGUEREDO, 2006).

Devido à existência de tantos fatores que podem afetar direta ou indiretamente a semente, são necessárias condições de armazenamento adequadas para minimizar os danos sofridos as sementes, sendo indispensáveis sempre novos estudos que ajudem a contribuir com métodos já existentes ou o surgimento de formas mais inovadoras. Deste modo, os estudos básicos sobre as transformações fisiológicas pelas quais passam as sementes durante o armazenamento, incluindo o conhecimento das bases bioquímicas que regem a perda da viabilidade são essenciais para o entendimento dos mecanismos envolvidos na manutenção das características fisiológicas ou deterioração durante o armazenamento. Assim, o presente estudo visou investigar o efeito de diferentes condições de temperatura e umidade relativa nas características fisiológicas dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis* durante 12 meses de armazenamento.

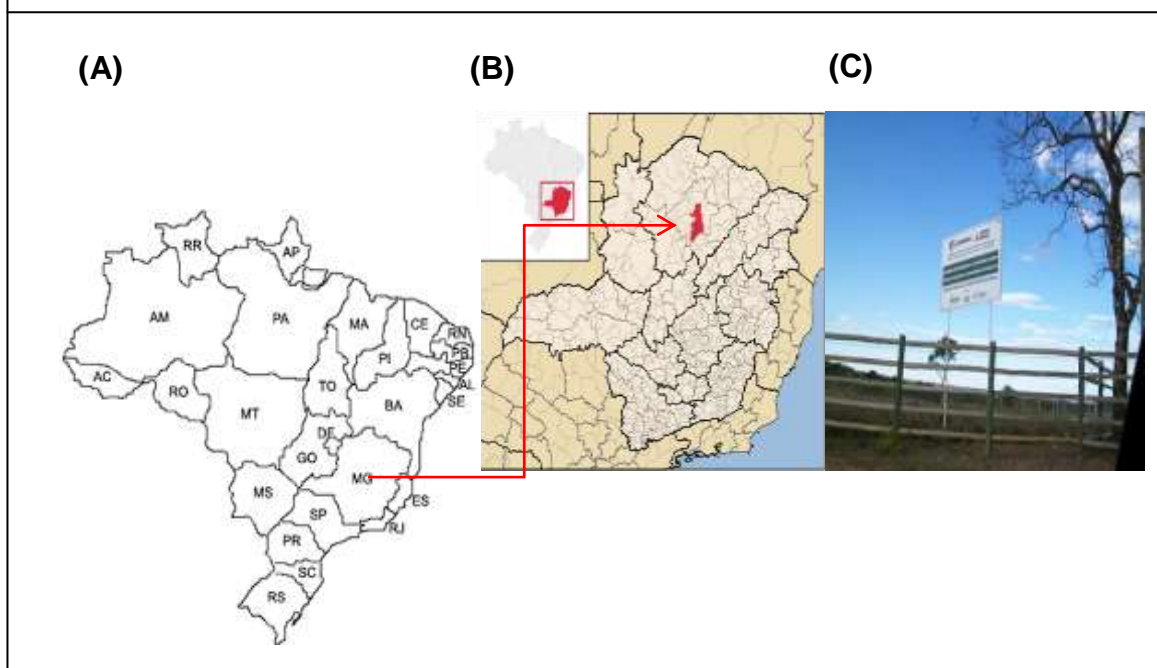
2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1. Material biológico e condução do armazenamento

2.1.1. Cultivar Nordestina e Paraguaçu

Os Cultivares BRS 149 Nordestina (Nordestina) e BRS 188 Paraguaçu (Paraguaçu) foram plantados no mês de fevereiro do ano de 2013 e colhidos em julho-agosto do mesmo ano. O plantio foi realizado no Campo Experimental de Montes Claro (CEMC) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). O CEMC está localizado em Montes Claros em Minas Gerais, com as seguintes características fisiográficas: altitude de 602 m, paralelo de 16° 66', latitude sul de meridiano de 43° 73', longitude oeste de Greenwich. A temperatura média foi de 23,55°C, e a pluviosidade média de 950 mm.

Figura 12. Localização do Campo Experimental de Montes Claros (CEMC) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG. (A) Estado de Minas Gerais, (B) Cidade de Montes Claros, (C) CMEC.



FONTE: EPAMIG.

2.2. Armazenamento

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos – LBBB, Departamento de Biofunção do Instituto de Ciências da Bahia – ICS da Universidade Federal da Bahia – UFBA. Foram utilizadas sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *R. communis*, fornecidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG em março de 2014. Ao chegarem ao LBBB/ICS/UFBA as sementes inicialmente passaram pelo processo de beneficiamento manual, visando retirar, possíveis indivíduos que estivessem com algum dano, que gerasse conflito no momento de utilização. Realizou-se a caracterização inicial dos lotes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu, de acordo com o descrito nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Para a caracterização fisiológica inicial das sementes realizou-se a morfometria das sementes, determinação da massa de mil sementes, avaliação da germinabilidade: germinação final máxima (GFM), do tempo máximo para alcançar 50% de germinação (T50), índice de uniformidade de germinação (U8416), da área abaixo da curva de germinação (AAC). Dados gerados pelo programa GERMINATOR (JOOSSEN et al., 2010). Realizou-se também a biometria das plântulas normais (BPN), teor de umidade das sementes (U) e peso da massa seca das plântulas normais (PMSPN). Amostras das sementes dos dois cultivares foram separadas e armazenadas em freezer -80 °C (tempo zero) para uso posterior e realização das análises bioquímicas.

Após a caracterização inicial, todas as sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu foram colocadas em sacos de aniagem, totalizando 8 sacos. Cada saco de aniagem, contendo aproximadamente 5 Kg de sementes, foi colocado nas condições de armazenamento descritas na Tabela 2: (1) condição considerada com manutenção da umidade relativa e temperatura controladas (URTC), onde a bombona contendo os sacos de sementes e sílica gel foi colocada na câmara de germinação - BOD (Eletrolab – EL402/150), mantendo-se a umidade relativa de $13,60 \pm 4,43\%$ e temperatura de $16,29 \pm 2,36$ °C; (2) na condição de umidade relativa controlada (URC) colocou-se a bombona com sementes e sílica gel no ambiente de laboratório (umidade de $9,03 \pm 2,26\%$),

onde a temperatura é $23,09 \pm 0,85^{\circ}\text{C}$; (3) a condição com temperatura controlada (TC) foi mantida ($17,32 \pm 3,09^{\circ}\text{C}$) as sementes foram colocadas na BOD (Eletrolab – EL402/150), com umidade relativa alta e sem controle ($69,09 \pm 9,31\%$); (4) a condição umidade relativa do ambiente de laboratório (URTAL) foi obtida ($53,23 \pm 8,30\%$), onde a temperatura é de $24,74 \pm 1,50^{\circ}\text{C}$. Durante os 12 meses de armazenamento (março de 2014 a março de 2015), a temperatura e a umidade de cada ambiente foram medidas diariamente utilizando-se o datalogger (Impac – IP747RH).

Tabela 2. Condições de armazenamento de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *Ricinus communis* L. no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos – LBBB, durante o período de 12 meses (março de 2014 a março de 2015).

Condições De Armazenamento	Umidade relativa e temperatura controlada	Umidade relativa controlada	Temperatura controlada	Umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório
Siglas	(URTC)	(URC)	(TC)	(URTAL)
Sacos de aniagem	X	X	X	X
Bombona + sílica gel	X	X	-	-
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	$16,29 \pm 2,36$	$23,09 \pm 0,85$	$17,32 \pm 3,09$	$24,74 \pm 1,50$
Umidade relativa (%)	$13,60 \pm 4,43$	$9,03 \pm 2,26$	$69,09 \pm 9,31$	$53,26 \pm 8,30$

2.3. Morfometria das sementes

Para as análises morfométricas foram selecionadas aleatoriamente 100 sementes de cada um dos cultivares de *R. communis* (quatro replicatas de 25 sementes), onde foi medido a altura (medida do ápice à base), a largura e a espessura (região mediana) de cada uma com o auxílio de paquímetro digital (Lee Tools- Electric Digital Caliper 6”). As dimensões da altura, largura e espessura foram determinadas em mm. A morfometria das sementes foi realizada de acordo com as recomendações da Regra para análise de sementes (BRASIL, 2009).

2.4. Massa de mil sementes

A massa de mil sementes dos dois cultivares de *R. communis* (Nordestina e Paraguaçu) foi realizada de acordo com as recomendações da Regra para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Utilizando um béquer, previamente tarado, fizeram-se pesagens na balança analítica (Shimadzu AUXX 220 unibloc) de 10 repetições de 100 sementes, para determinar a massa média. E o resultado foi expresso em gramas. A partir da massa média calculou-se a massa de mil sementes, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Massa de mil sementes (g)} = X \times 10$$

Onde X é a média das 10 repetições das 100 sementes.

Multiplica-se por 10 a média do peso das demais repetições de 100 sementes, sendo este o resultado do teste.

2.5. Teste de germinação

Os ensaios fisiológicos foram realizados ao longo dos 12 meses de armazenamento (março de 2014 a março de 2015). No entanto, foram demonstrados resultados trimestrais devido a grande quantidade de dados obtidos ao longo do armazenamento das sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis*.

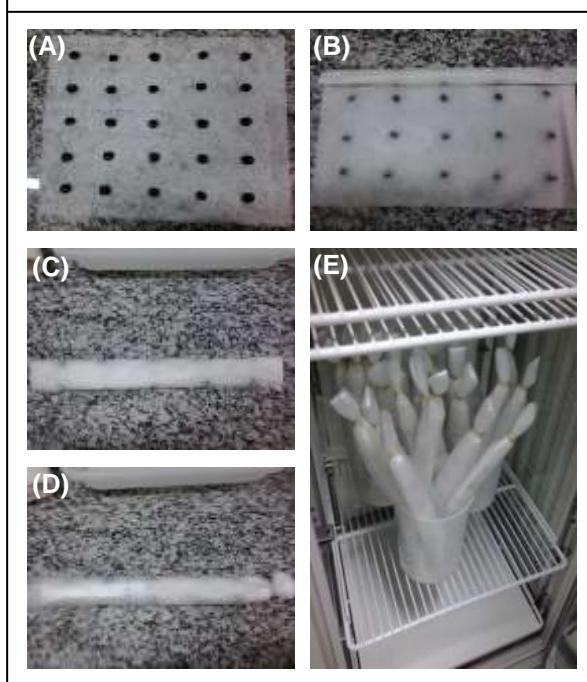
Mensalmente, foram coletadas amostras das sementes armazenadas de cada um dos cultivares e estas amostras foram submetidas ao teste de germinação em rolo, seguindo as recomendações da Regra para análise de sementes (BRASIL, 2009).

Para realização dos experimentos, foram utilizadas quatro replicatas de 25 sementes de *R. communis*, totalizando 100 sementes, que foram separadas aleatoriamente, por contagem manual. Após a contagem e separação das sementes, foi realizada a desinfestação das mesmas, utilizando solução de hipoclorito 0,5% e Tween 20 (1 gota por 100 mL). Para isso, as sementes foram submersas na solução de hipoclorito por 20 minutos sob agitação

constante. Foram realizadas quatro lavagens com água destilada para a retirada do hipoclorito e as sementes foram colocadas para secar em cima do papel toalha.

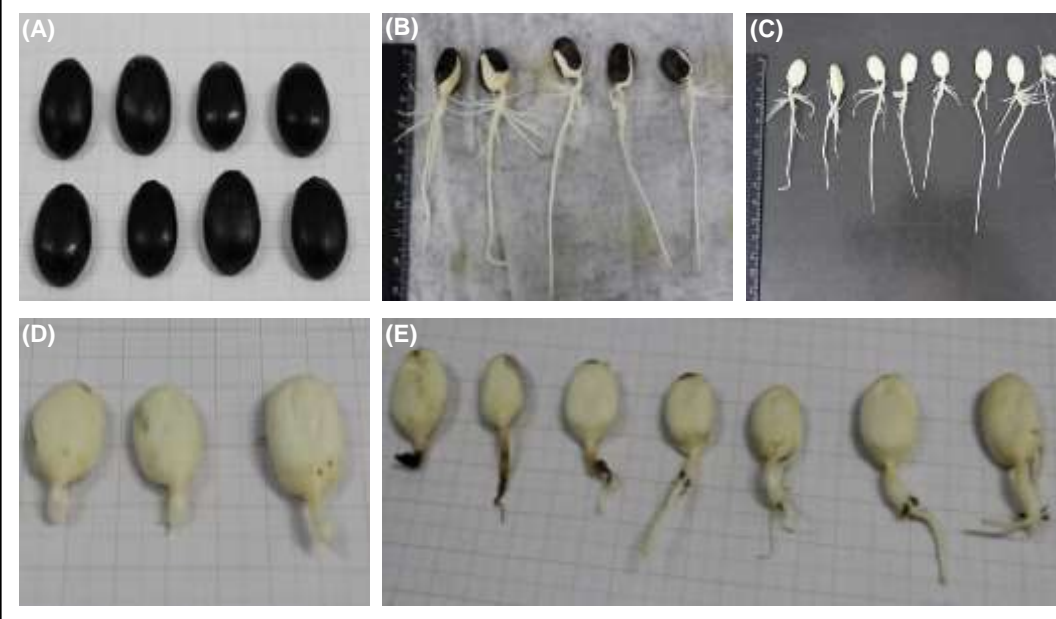
As sementes antes de serem colocadas para germinar, sofreram remoção da carúncula com o objetivo de garantir uma maior uniformidade de embebição na germinação. Os ensaios foram realizados em rolos de papéis (germitest), como substrato, umedecidos com água destilada, na quantidade equivalente a 2,5 vezes do peso do substrato seco. Os rolos eram formados por 3 folhas de papel germitest, sendo que as 25 sementes foram arrumadas sobre 2 folhas de papel e cobertas por uma folha de papel sobre as mesmas, e foram colocadas em sacos plásticos transparentes e em seguida transferidos para a câmara de germinação tipo BOD (Panasonic – humidity), sem fotoperíodo, a uma temperatura de 30°C (Figura 13).

Figura 13. Montagem do experimento de germinação de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *Ricinus communis* L.. (A-D) corresponde à montagem do rolo de germinação com papel germitest; (E) rolos de papel para a germinação dentro do germinador (Panasonic - humidity).



A avaliação do teste de germinação foi diária e realizada por seis dias, sendo analisados os seguintes parâmetros: protrusão da radícula, plântulas normais, sementes não germinadas e sementes mortas (Figura 14). As plântulas normais foram retiradas com quatro dias (primeira contagem) e após seis dias (contagem final). Os dados de germinação obtidos foram analisados no software Germinator (Joosen, 2010) gerando os seguintes parâmetros: GFM (germinação final máxima); T50 (Tempo para alcançar 50 % de germinação); U8416 (uniformidade de germinação medindo-se o intervalo de tempo em horas entre 84% e 16% de germinação de sementes); AAC (área abaixo da curva de germinação).

Figura 14. Padrões de germinação de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *Ricinus communis* L.. (A) sementes não germinadas (Paraguaçu); (B) plântulas normais (Paraguaçu), (C) plântulas normais (Nordestina); (D) plântulas anormais deformadas (Paraguaçu) e (E) plântulas anormais deterioradas (Paraguaçu).



As biometrias das plântulas normais foram realizadas no quarto dia e no sexto dia de germinação utilizando paquímetro digital (LEE Tools – electric digital caliper 6”), sendo os resultados expressos em mm. Para determinação da massa seca das plântulas normais, estas foram acondicionadas em sacos de papel e levados para a estufa (Eletrolab – EL402/150) a 80°C por três dias.

Após os três dias as plântulas foram levadas ao dessecador (NS24/29) onde este é despressurizado, ficando as plântulas no mesmo durante 20 minutos (para esfriar), em seguida realizou-se a pesagem em balança analítica (Shinadzu, AUW220D), para determinar a massa seca das plântulas normais.

2.6. Teste de umidade

A avaliação da umidade por gravimetria (Figura 15) foi realizada seguindo as recomendações da Regra para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Foram utilizados recipientes de alumínio com tampas previamente pesados (*t*) em balança (Shinadzu, AUW220D). Posteriormente foram separadas em quatro repetições, com aproximadamente 10 g de sementes cada, que foram colocadas em quatro recipientes de alumínio e quebradas antes da pesagem (sementes e recipientes juntos (*P*)), e colocados na estufa (Eletrolab, EL 202) a 105°C por 24 horas. Após as 24 horas, os recipientes de alumínio com as sementes foram colocados em dessecador (NS24/29), sendo despressurizado, onde permaneceu por 20 minutos para esfriar os recipientes. Após este período realizou-se a pesagem final e a anotação dos valores obtidos (semente seca juntamente com os recipientes - *p*). Por fim a porcentagem de umidade foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Umidade} = \frac{100(P-p)}{P-t}$$

Onde:

P = Peso Inicial (Peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente úmida (g));

p = Peso Final (Peso do recipiente e sua tampa, mais o peso da semente seca (g));

t = Tara (peso inicial do recipiente com sua tampa (g)).

Figura 15. Determinação da umidade (%) das sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *Ricinus communis* L., mostra a quebra das sementes.



2.7. Teste de tetrazólio

Para avaliar a viabilidade das sementes foi seguido o protocolo descrito por Gaspar-Oliveira et al., (2009). Para a realização do teste de tetrazólio, as sementes foram embebidas previamente em água por 24 horas (em copo descartável com 75 mL de água destilada e mantidas a temperatura ambiente, 25°C). Após este período, foram retirados o tegumento das sementes e estas sofreram um corte sagital, cortando ao meio o embrião e o endosperma. Em seguida as duas metades obtidas foram avaliadas quando à sua integridade e qualidade do corte, sendo utilizada apenas a metade da amostra para o prosseguimento do teste. As sementes cortadas foram colocadas em copos plásticos, submersas em solução de tetrazólio 0,2% e incubadas a 35°C no escuro (ELETROlab – EL202/3) por duas horas. A reação foi finalizada com o descarte da solução de tetrazólio e a substituição por água destilada. As sementes foram lavadas três vezes com água destilada e colocadas para secar em papel toalha, sendo em seguida avaliadas em sementes viáveis e sementes não viáveis de acordo com a coloração (Figura 16). Sementes com 50% do endosperma e 100% do embrião corado de vermelho foram consideradas viáveis e sementes com menor proporção de coloração foram consideradas

como inviáveis. Este teste foi realizado com 100 sementes de cada condição, sendo dividido em quatro repetições de vinte e cinco sementes (A, B, C e D).

Figura 16. Teste de tetrazólio em sementes de *Ricinus communis* L., padrões de sementes inviáveis (com menos de 50% do endosperma corado e menos de 100% do embrião corado) e viáveis (com mais de 50% do endosperma corado e 100% do embrião corado). (A) sementes inviáveis do cultivar Paraguaçu, (B) semente viável do cultivar Nordestina.



2.8. Análise dos dados e tratamento estatístico

Para avaliação dos dados foi utilizado o delineamento experimental em parcela subdividida no tempo e os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Tukey com probabilidade de 5%. Utilizou-se para este processamento de dados do programa SISVAR versão 5.0 (FERREIRA, 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Morfometria das sementes

Estudos relacionados aos aspectos morfométricos e a avaliação da germinação de sementes são parâmetros importantes para a identificação e diferenciação de espécies, lotes, variedades, cultivares, genótipos de plantas, entretanto, devem ser associados a outros parâmetros. A morfometria das sementes fornece informações importantes para avaliar a variabilidade genética dentro de populações de uma mesma espécie (CARVALHO et al., 2003; FONTENELE et al., 2007; AQUINO et al., 2009; SCHULZ et al., 2014).

A caracterização dos cultivares é importante para que se possa, a partir dos estudos realizados, determinar o comportamento dos cultivares frente às diferentes condições ambientais a que são submetidos os materiais estudados (JESUS FILHO, 2014).

Os resultados descritos na Tabela 3 correspondem à morfometria e à determinação da massa de mil sementes, realizadas antes do início do armazenamento em diferentes condições de temperatura e umidade relativa, utilizando dez sub-amostras de 100 sementes provenientes dos lotes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu. A partir da análise dos dados morfométricos, verificou-se que não há diferença significativa entre estes parâmetros quando comparado os dois cultivares.

Tabela 3. Morfometria (altura, comprimento e largura (mm) e volume (mm³) e massa de mil sementes (g) dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *Ricinus communis* L. produzidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, 2013.

Cultivar	Morfometria (mm)			Volume (mm ³)	Massa de mil sementes (g)
	Altura	Largura	Espessura		
Nordestina	16,92 ± 0,57 A	13,62 ± 0,17 A	7,49 ± 0,11 A	1726,73 ± 0,95 A	657,3
Paraguaçu	17,08 ± 0,09 A	13,40 ± 0,14 A	7,50 ± 0,01 A	1714,94 ± 0,26 A	690,3
CV. (%)	2,30	1,40	1,00	3,99	

Média seguida da mesma letra maiúscula na coluna não difere entre si pelo teste de Tukey, para o valor de 5% de significância.

No presente estudo verificou-se que não há diferenças significativas quanto estes parâmetros, entretanto, por se tratar de dois cultivares com características genéticas distintas, ao longo do armazenamento houve diferenças no comportamento de cada cultivar quanto aos parâmetros fisiológicos e bioquímicos estudados. Estes resultados diferem do descrito por Jesus Filho (2014) e está de acordo com os resultados obtidos por Drumond (2010) que ao avaliarem sementes de Nordeste encontraram largura (12,10 mm), altura (15,80 mm), espessura (6,96 mm) e de Paraguaçu largura (12,92 mm), altura (17,35 mm), espessura (7,15 mm). A morfometria das sementes de *R. communis* varia entre cultivares e entre racemos, dependendo do seu

tamanho e densidade pode influenciar na germinação e vigor da mesma (CAVALCANTE et al., 2012).

Em muitas espécies o tamanho da semente tem sido indicativo de vigor, em geral, as sementes de maior tamanho foram mais bem nutridas durante o seu desenvolvimento, possuindo embrião bem formado e com maior quantidade de reserva, conseqüentemente, as mais vigorosas (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; ALVES et al., 2005; SANTOS, 2007; AIQUINO et al., 2009; CANGUSSÚ et al., 2013; SCHULZ et al., 2014). No entanto, estudos relacionados com sementes de várias espécies demonstram que a massa e o tamanho das sementes não influenciam os resultados dos testes realizados em laboratório e do desempenho de plantas no campo. Nesse sentido, os trabalhos existentes na literatura relacionados com o tamanho e massa de sementes e a sua relação com germinação e vigor, são bastante controversos (CANGUSSÚ et al., 2013).

Além disso, o conhecimento acerca da morfologia de sementes é útil na identificação e certificação da qualidade das sementes. Este conhecimento tem também aplicação no manejo de fauna mediante estudos sobre dieta de herbívoros e nos estudos sobre a flora, auxilia na identificação de espécies no banco de sementes, contribuindo para a compreensão da regeneração e sucessão vegetal nos ecossistemas (OLIVEIRA, 2010; FONSECA et al., 2013).

Segundo as Regras de análises de sementes (BRASIL 2009), o peso ou a massa de mil sementes é utilizado para calcular a densidade de semeadura, o número de sementes por embalagem e o peso da amostra de trabalho para análise de pureza, quando não especificado nas RAS. É uma informação que dá ideia do tamanho das sementes, assim como de seu estado de maturidade e de sanidade. No trabalho de Zuchi (2010) o peso de mil sementes do cultivar Paraguaçu foi de 711 g e no trabalho de Jesus Filho (2014) o peso de mil sementes para o cultivar Nordestina (614,2 g) e para o Paraguaçu (738,1 g). Ao comparar estes dados com os resultados obtidos no presente estudo, é possível afirmar que um mesmo cultivar de mamona pode apresentar variações na massa de mil sementes em função do local e condições de cultivo, e que um menor valor na massa de mil sementes não indica se o cultivar será menos

produtivo que o cultivar com massa de mil sementes maior (JESUS FILHO, 2014).

Os dados apresentados na Tabela 4 são importantes para avaliação inicial do lote de sementes, como também para acompanhamento e avaliação das sementes durante o armazenamento, estes dados foram gerados no programa GERMINATOR (JOOSEN et al, 2010), a partir dos resultados de germinação obtidos. A germinação final máxima (GFM) serve para avaliar a qualidade das sementes quanto à germinação; através do T50 (tempo para alcançar 50% da germinação) se analisa a viabilidade e vigor das sementes; o índice de uniformidade (U8416) corresponde ao tempo que as sementes de um determinado lote germinam dentro do espaço de tempo específico, permitindo avaliar o quanto uniforme é a germinação; a área abaixo da curva de germinação (AAC) é um parâmetro que permite avaliar o vigor das sementes a partir do GMF e T50. Os dados de tamanho (biometria) das plântulas normais (BPN) e peso da massa seca das plântulas normais (PMSPN) são outros parâmetros que permitem avaliar vigor das sementes. E a umidade das sementes (U) é de fundamental importância para a avaliação da qualidade da semente, principalmente durante o armazenamento.

De acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL 2009) é interessante determinar a germinação final máxima de um lote de sementes, pois é uma maneira de comparar a qualidade de diferentes lotes e também estimar o valor para semeadura em campo. Há diferenças significativas entre a germinação final máxima (GFM) das sementes dos dois cultivares em estudo. Diferem também quanto ao tempo para alcançar 50% de germinação (T50), ao U8416, AAC e BPN. No entanto, não há diferença significativa para o teor de umidade das sementes e para o peso da massa seca das plântulas normais. Verificou-se que as sementes do cultivar Nordeste são mais vigorosas e com uma melhor porcentagem de germinação quando comparadas com o lote de sementes de Paraguaçu utilizadas no neste estudo.

Tabela 4. Caracterização inicial de sementes de os cultivares Nordestina e Paraguaçu de *Ricinus communis* L. produzidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, 2013. Germinação final máxima – GFM (%), tempo para alcançar 50% da germinação - T50 (horas), índice de uniformidade da germinação - U8416 (horas), área abaixo da curva de germinação – AAC (adimensional), biometria das plântulas normais – BPN (mm), umidade - U (%) e peso da massa seca das plântulas normais – PMSPN(g).

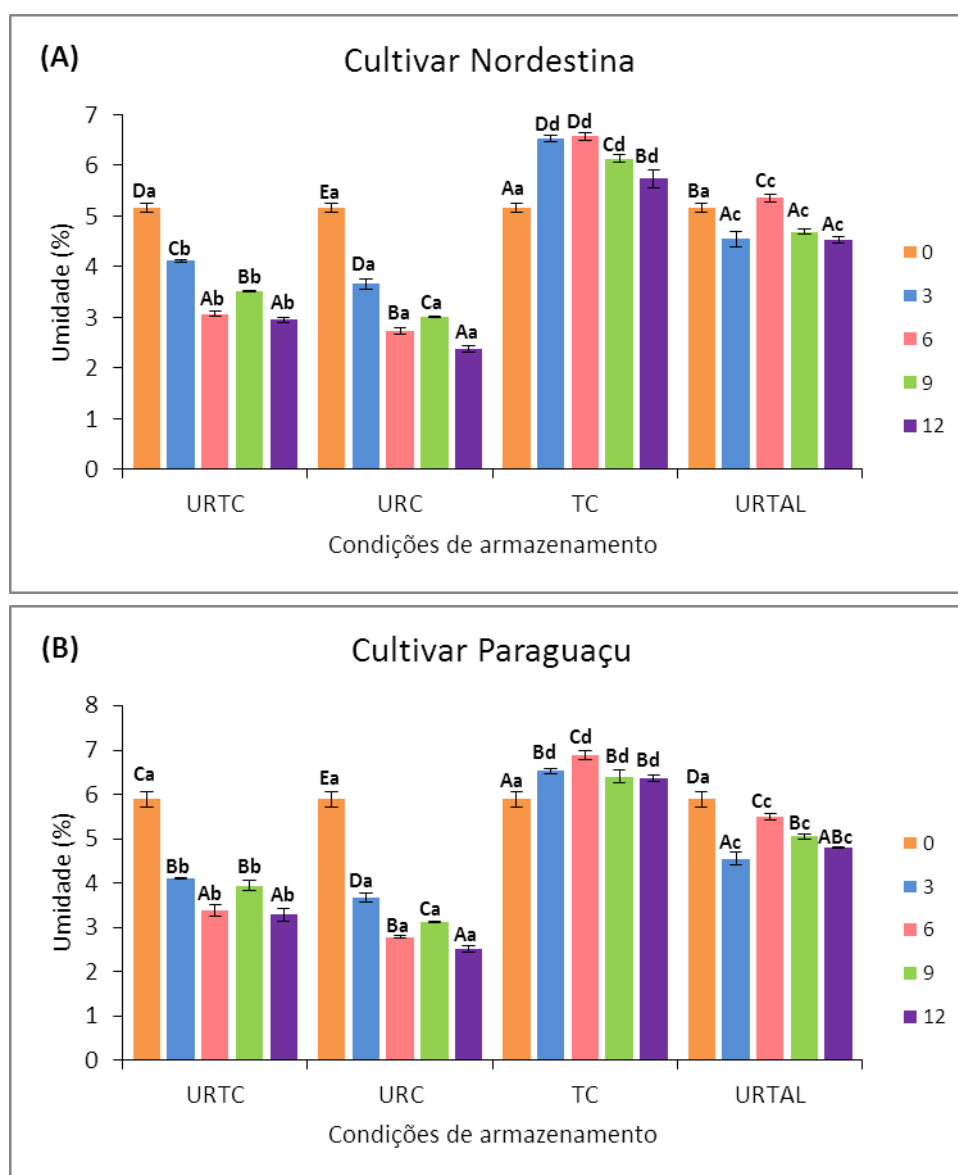
Caracterização inicial							
Cultivar	U (%)	GFM (%)	T50 (horas)	U8416 (horas)	AAC	BPN (mm)	PMSPN (g)
Nordestina	5,16± 0,09A	100 ± 0 A	30,90 ± 0,89 A	3,90 ± 2,81 A	69,00 ± 1,04 A	68,05 ± 5,14 A	0,83 ± 0,34 A
Paraguaçu	5,89± 0,14 A	62 ± 0,02 B	47,70 ± 3,15 B	17,80 ± 4,95 B	30,40 ± 2,35 B	49,12 ± 8,33 B	0,52 ± 0,14 A

Média seguida da mesma letra maiúscula na coluna não difere entre si pelo teste de Tukey, para o valor de 5% de significância.

3.2 Umidade

A umidade das sementes de mamona dos cultivares Nordestina e Paraguaçu determinada ao longo dos meses de armazenamento está representada na Figura 17. As sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu apresentaram umidade que variaram entre 3,0 a 6,9% durante os doze meses de armazenamento. Como esperado, as sementes apresentaram os menores valores de teor água quando armazenadas nas condições de umidade controlada, ou seja, uso de bombona com sílica gel, na temperatura ambiente (URC) e com o controle de umidade e temperatura (URTC). Enquanto que as sementes de ambos cultivares mantidas sem controle de umidade absorveram água do ambiente. Ao se comparar a germinação (Figura 18) e a umidade, as sementes que apresentaram menor porcentagem de germinação foram aquelas que ficaram armazenadas sem controle de umidade. Isso condiz com a literatura, pois, no armazenamento, altos teores de umidade deterioram as sementes, provocando a perda do vigor e poder germinativo (ALMEIDA et al., 1997; FIGUEIREDO, 2006; BIZERRA et al., 2015).

Figura 17. Umidade (%) de sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

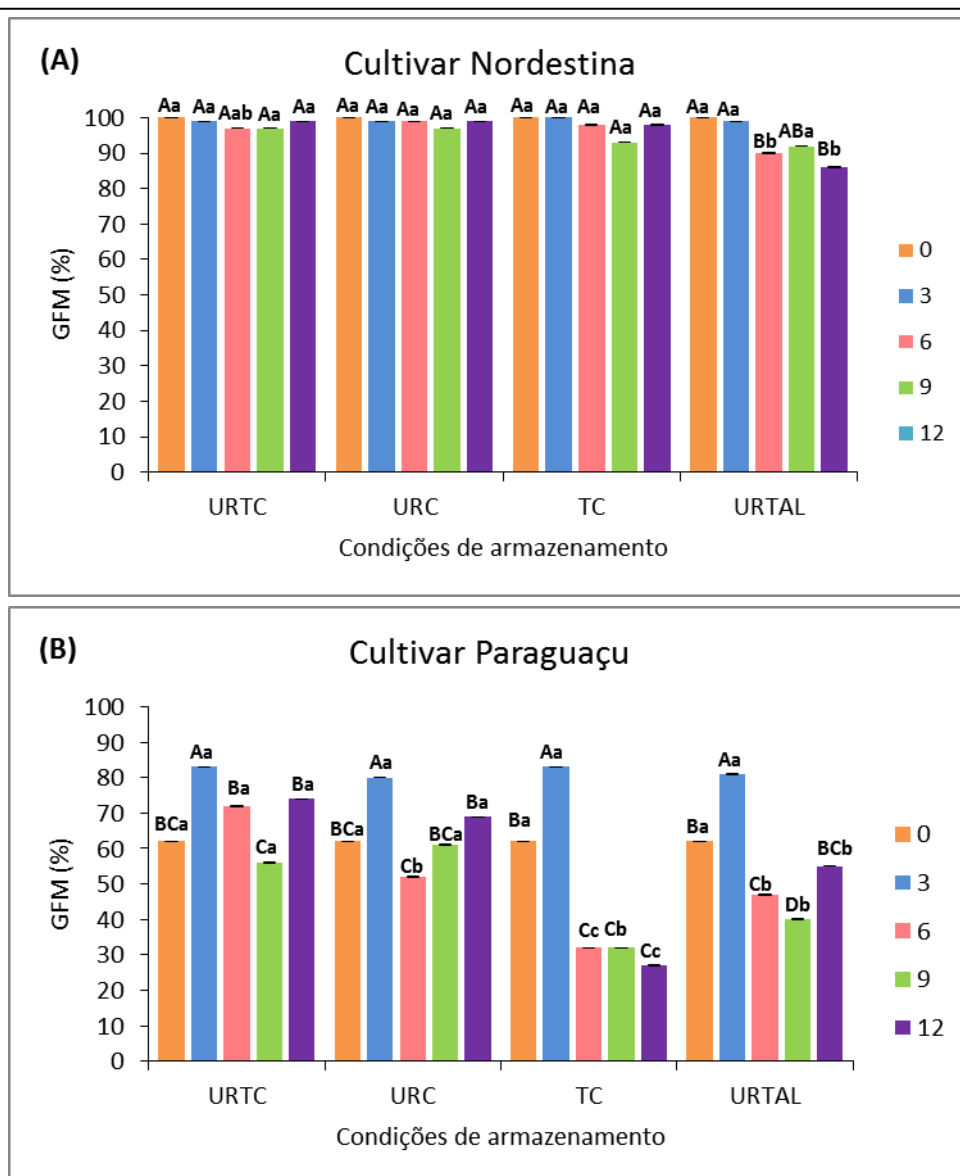
Jesus Filho (2014), em seu estudo de caracterização de genótipos de *R. communis*, avaliou a umidade das sementes do cultivar Nordeste (5,94%) e do cultivar Paraguaçu (5,93%), semelhantes aos determinados no presente estudo. Almeida et al. (2002), afirmou que o percentual de umidade nas sementes de mamona, deve estar entre 4 e 6% da massa total das sementes. O teor de umidade nas sementes de Nordeste e Paraguaçu variou entre 3 e 6,9 %, este percentual refletiu que a umidade das sementes mantidas em todos os tratamentos, estavam dentro dos padrões de umidade descritos pela Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009) que é de no máximo 10% de umidade para sementes oleaginosas e muito próximo do descrito por Almeida et al. (2002). No entanto, mesmo com valores relativamente baixos, pequenas variações na umidade refletem em diferenças significativas em vários parâmetros da germinabilidade das sementes, visto que a atividade de alguns fungos, de enzimas e até mesmo de alguns insetos dependem de pequenas variações na umidade das sementes e temperatura do ambiente para serem ativados ou mesmo acelerados. Isto foi confirmado no presente estudo.

3.3. Germinação

A análise dos resultados obtidos, durante 12 meses de armazenamento de sementes destes dois cultivares de *R. communis*, demonstra que há diferenças entre os cultivares Nordeste e Paraguaçu quanto a germinação, viabilidade e vigor. A germinação final máxima das sementes diferiu quando comparada entre os dois cultivares, condições e períodos de armazenamento (Figura 18).

O cultivar Nordeste, em três das condições nas quais as sementes foram submetidas ao armazenamento, passaram doze meses, continuou com uma boa germinação, variando entre 90% a 100%, exceto na condição URTAL (Figura 18 A). Neste caso, os resultados foram de acordo com o esperado, já que se tratou da condição onde o controle ambiental foi menor, ficando submetida às maiores variações de temperatura e umidade. O cultivar Nordeste armazenado na condição URTAL apresentou diferença significativa na GFM ao longo do armazenamento, especificamente entre o início do armazenamento (tempo zero) e nos meses seis e doze.

Figura 18. Germinação final máxima (%) de sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Quando comparou a GFM obtido em cada mês avaliado para todas as condições armazenamento (Figura 18 A), o valor de GMF das sementes de Nordestina, nos meses seis e doze apresentou diferença significativa. Ressalta-se que na condição sem controle de temperatura e umidade relativa as sementes sofreram mais variação do ambiente durante o armazenamento.

As sementes de Paraguaçu apresentaram variações na germinação durante todos os doze meses de armazenamento. Ao iniciar o experimento, apresentavam GFM de 62%, e não alcançaram 100% de germinação em nenhuma das condições de armazenamento, nos períodos testados. Entretanto, as sementes apresentaram germinação em torno de 80% em três meses de armazenamento para as quatro condições testadas. As sementes mantidas nas condições URTAL e TC, atingiram 80% de germinação no terceiro mês de armazenamento, entretanto, houve uma queda de germinação maior até diminuir para 40 e 32% de germinação (nono mês), respectivamente. Enquanto que, as sementes mantidas nas condições de armazenamento em bombona com sílica gel (URTC e URC) apresentaram variações de germinação entre 80 a 52% durante o período de armazenamento.

A irregularidade na emergência das plântulas de mamona em campo e também em laboratório tem sido atribuída à dificuldade de absorção de água pelas sementes, devido à espessura e rigidez do tegumento ou a uma possível dormência pós-colheita (LAGO et al., 1979; MENDES et al., 2009; NOBRE et al., 2014). Por isso, a colheita dos racemos, frutos e sementes da mamoneira é feito em várias etapas, periodicamente, com o intuito de minimizar os efeitos da falta de uniformidade na maturação e maximizar a qualidade das sementes (GONÇALVES, et al., 1981; MAZZANI, 1983; FANAN et al., 2009). Esta variação de germinação pode ocorrer devido à condição de armazenamento, como também, devido a estas sementes terem sido colhidas em diferentes racemos ou posições no racemo, que são afetadas pelas condições ambientais vigentes antes e durante a sua formação (FANAN et al., 2009).

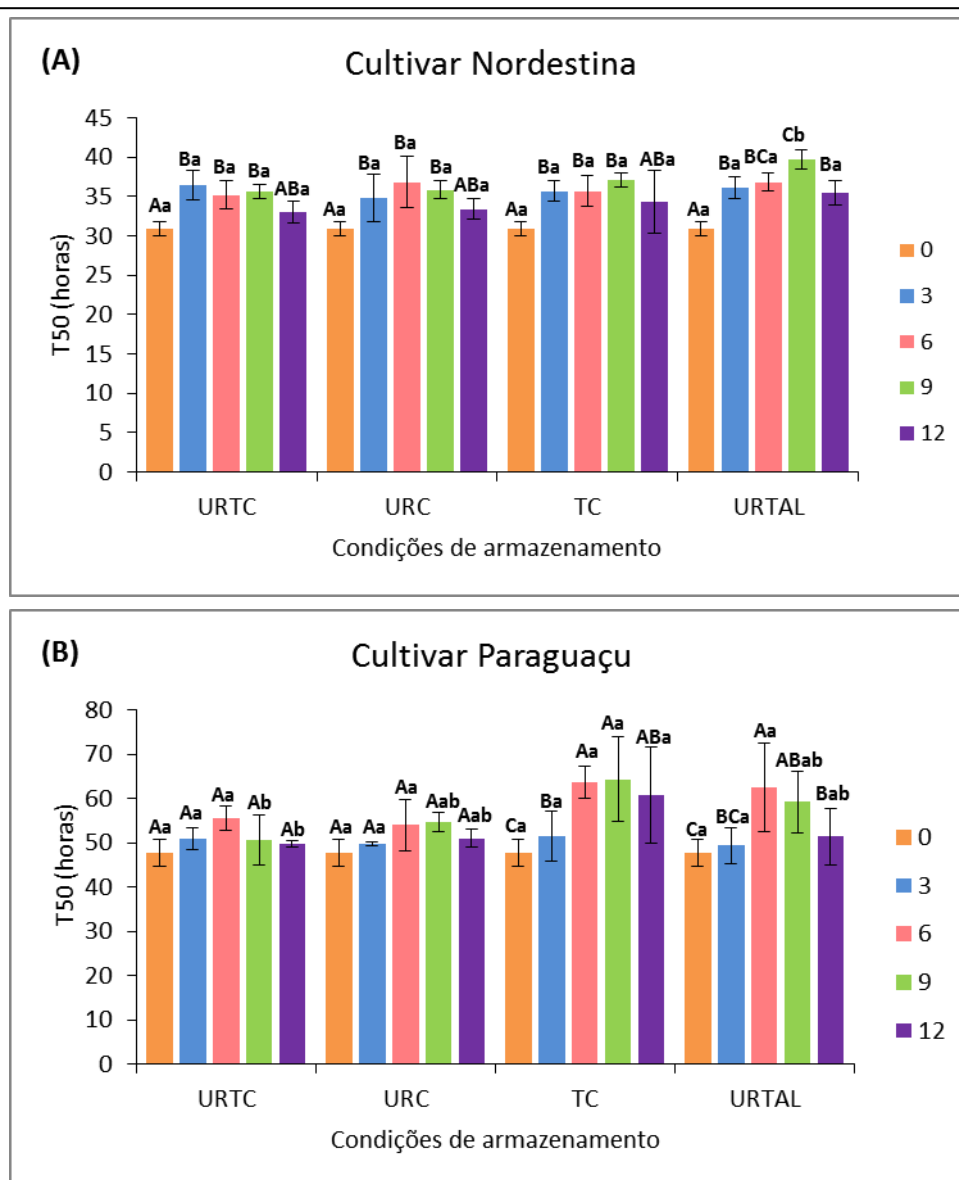
Além das características específicas de cada cultivar, a mistura de sementes colhidas em diferentes condições e de plantas e racemos distintos poderia explicar a variação de germinação e diferenças de vigor entre os cultivares

Nordestina e Paraguaçu, já que antes de realizar o experimento todas as sementes sofreram remoção da carúncula com o objetivo de garantir uma maior uniformidade de embebição durante a germinação. Essas características de cada lote e/ou cultivar podem influenciar na qualidade inicial das sementes e no potencial de armazenamento (LUCENA et al., 2006), o que foi verificado com o cultivar Paraguaçu.

O tempo máximo para alcançar 50% de germinação T50 é um parâmetro para avaliar vigor. As sementes de Nordesteina necessitaram entre 30 e 40 horas de tempo máximo para alcançar 50% de germinação, ocorrendo em todas as amostragens realizadas durante os doze meses de armazenamento. Já o tempo para as sementes de Paraguaçu alcançarem o T50 foi superior, ocorrendo somente a partir de 50 horas de embebição (Figura 19). Verificou-se, assim, que a protrusão de 50% das sementes do cultivar Nordesteina ocorreu em menor tempo, além disso, com o aumento do período de armazenamento as sementes do cultivar Paraguaçu aumentaram o T50 (50 a 64 horas) para que metade das sementes utilizadas germinasse. O aumento no T50 para o cultivar Paraguaçu pode ser considerado como um indicativo de perda de vigor.

Um dos aspectos mais pesquisados nos últimos anos tem sido a qualidade fisiológica das sementes, em decorrência de estarem sujeitas a uma série de mudanças degenerativas de origem bioquímica, fisiológica e física, após a sua maturação, as quais estão associadas com a redução do vigor (FIGUEIREDO, 2006). Os parâmetros de germinabilidade, ao longo de doze meses de armazenamento, diferiram significativamente entre dos dois cultivares, estando de acordo com o descrito por Eicholz et al. (2012), pois verificou-se que os cultivares de sementes de mamona (IAC 80, IAC 226, IAC Guarani, IAC 2023, BRS energia, AL Guarany 2002, Lyra), possuíam qualidade fisiológica e comportamentos diferentes. Os resultados da condição URTAL, tiveram uma redução na GFM e um aumento no T50, pois se tratou de uma condição sem controles das condições ambientais, ficando as sementes expostas a maiores variações de temperatura e umidade (OLIVEIRA, 2011).

Figura 19. Tempo para alcançar 50% de germinação (T50) de sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



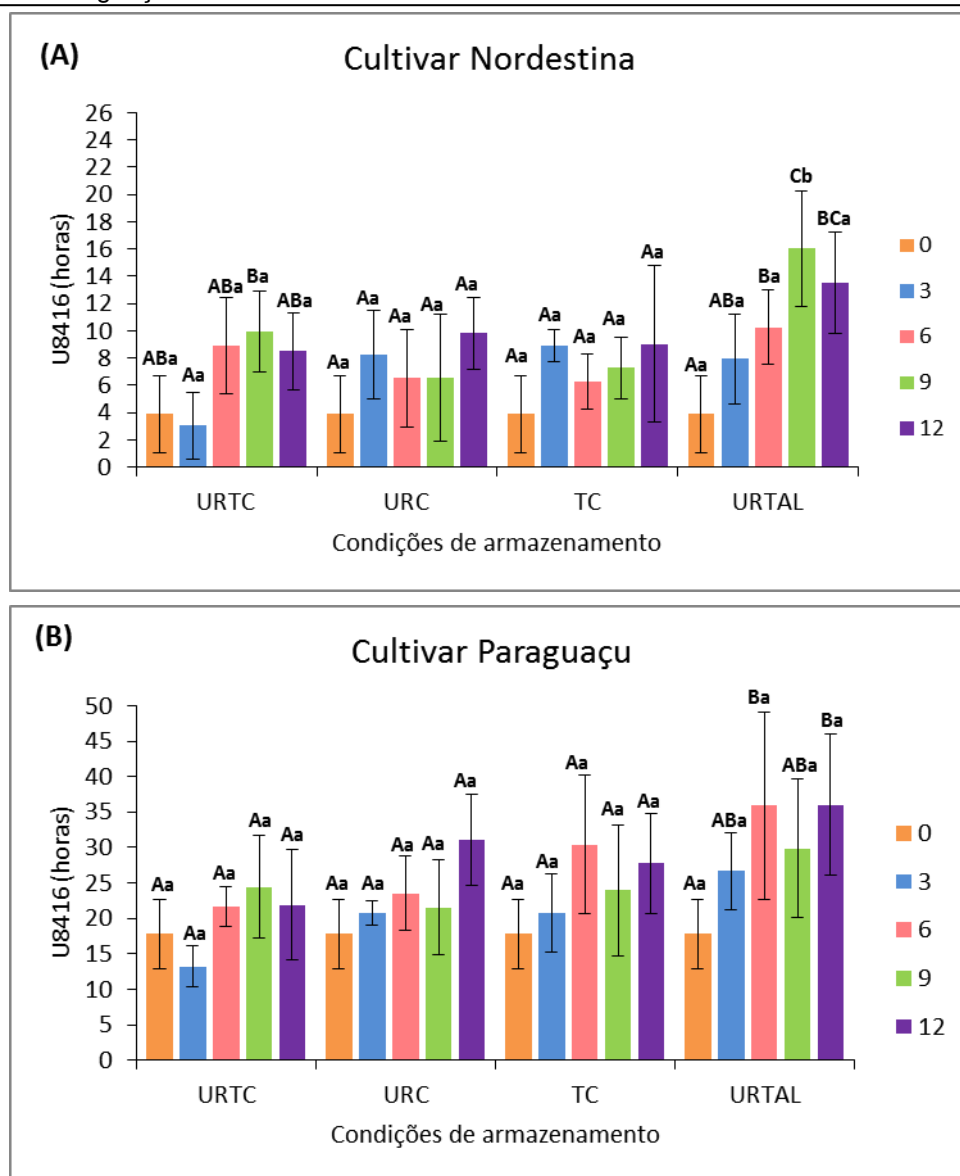
Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tempo para alcançar 50% de germinação é mais rápido quando as sementes estão armazenadas em condições com baixa temperatura e umidade, pois quanto menor a temperatura e a umidade relativa, mais baixo vão estar o metabolismo das sementes, e conseqüentemente a taxa de respiração das sementes vai estar reduzida (DAIUTO et al., 2010). Devido às características das sementes, sua umidade é influenciada pela umidade externa e condições de armazenamento não herméticas permitem o contato da semente com o ambiente, alterando frequentemente a umidade dos produtos armazenados, sendo que cada espécie e cada genótipo têm seu equilíbrio higroscópico. Desse modo, o teor de água das sementes é diretamente proporcional da umidade relativa do ambiente com o qual mantém estreito contato, incluindo o ar intersticial (OLIVEIRA, 2011; GREGGIO & BONINI, 2014).

A perda do vigor das sementes pode ser demonstrada pela redução da germinação e pelo aumento do tempo para alcançar 50 % da germinação. Este fator pode estar associado à dormência ou deterioração das sementes, que pode ser acelerado pelo aumento de fatores externos (umidade e temperatura) (SMANIOTTO et al., 2014). Os resultados de T50 obtidos com estas sementes, durante o armazenamento corroboram com o estudo de Vasconcelos (2015) que obteve um T50 de 34 a 80 horas para sementes do cultivar MPA11 de *Ricinus communis*. Estes resultados diferem dos obtidos por Teles (2013), que observou que sementes de mamona do cultivar MPA 11 da EBDA colhidas com mais de 63 dias após a inflorescência e armazenadas, não apresentaram melhorias na velocidade da germinação nem na uniformidade. Neste estudo verificou-se que a temperatura e a umidade relativa afeta de forma direta, como descrito por SMANIOTTO et al. (2014) no vigor das sementes. As sementes mantidas na condição URTAL apresentaram um aumento do T50 e uma redução na GFM para os cultivares Nordestina e Paraguaçu ao longo dos 12 meses de armazenamento.

Em relação ao índice de uniformidade (U8416) é possível notar divergências entre o tempo de germinação determinado para as sementes de ambos os cultivares durante o período de armazenamento. As sementes de Nordestina apresentaram maior uniformidade durante a germinação. No entanto, durante o armazenamento a uniformidade diminuiu a partir do sexto mês para as sementes que ficaram na condição URTAL (Figura 20).

Figura 20. Índice de uniformidade (U8416) da germinação de sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Já as sementes de Paraguaçu apresentaram menor uniformidade, no entanto, durante os doze meses ocorreram variações significativas apenas para as sementes armazenadas na condição URTAL enquanto que nas sementes de Nordeste a variação foi nas condições URTC e URTAL.

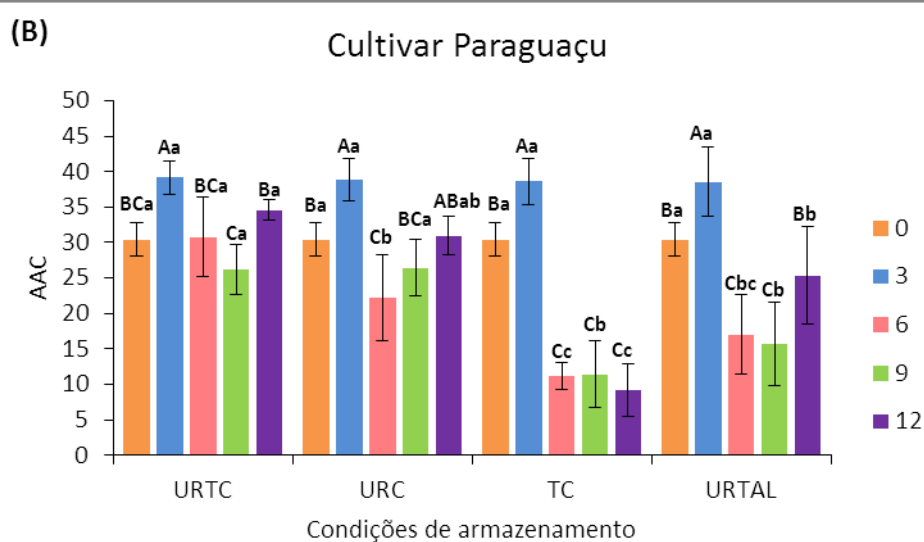
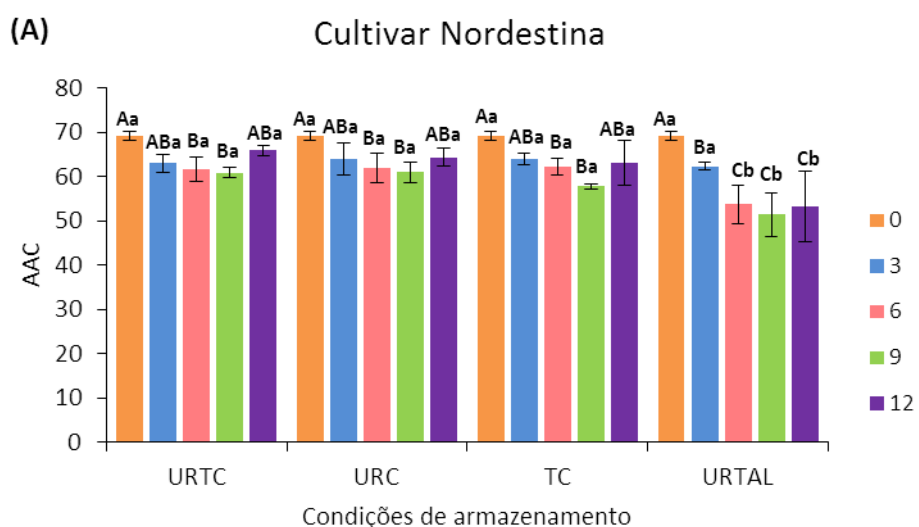
O tempo que as sementes levaram para que houvesse a germinação refletiu a variação da qualidade da germinação das mesmas entre os dois cultivares e de acordo com a condição e o tempo de armazenamento. Vasconcelos (2015) avaliou o índice de uniformidade da germinação de sementes secas de MPA 11, obtendo um resultado de U8416 (21,16 horas). A uniformidade na germinação é um parâmetro almejado em cultivos agrícolas, o que pode ser alcançado por meio de tratamentos pré-germinativos, visando uniformizar o estande, o crescimento e o desenvolvimento da lavoura, e posteriormente facilitar e otimizar a colheita e a comercialização (VARIER et al., 2010; CHEN & ARORA, 2013).

Outro parâmetro que é possível associar a viabilidade das sementes para germinar, é a área abaixo da curva (AAC), pois através desse parâmetro se avalia a germinação final máxima pelo tempo para alcançar 50 % de germinação, por um período de cem horas. As sementes que obtiveram melhor uniformidade, e levaram menos tempo para alcançar 50% da germinação, apresentaram a AAC maior, visto que alcançaram maior percentual de sementes germinadas.

Como a AAC reflete a capacidade de germinação das sementes, este pode ser um parâmetro para a análise da viabilidade das sementes armazenadas em diferentes condições e comparação entre o comportamento dos cultivares Nordeste e Paraguaçu. Os resultados da AAC representados na Figura 21 indicam que o cultivar Nordeste apresentou maior área abaixo da curva e maior uniformidade entre as condições estudadas em comparação com o Paraguaçu.

Portanto, as sementes do cultivar Nordeste apresentaram melhores resultados durante a germinação, com exceção quando mantidas na condição URTAL, onde houve uma variação significativa ao longo dos meses de armazenamento.

Figura 21. Área abaixo da curva (AAC) da germinação de sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

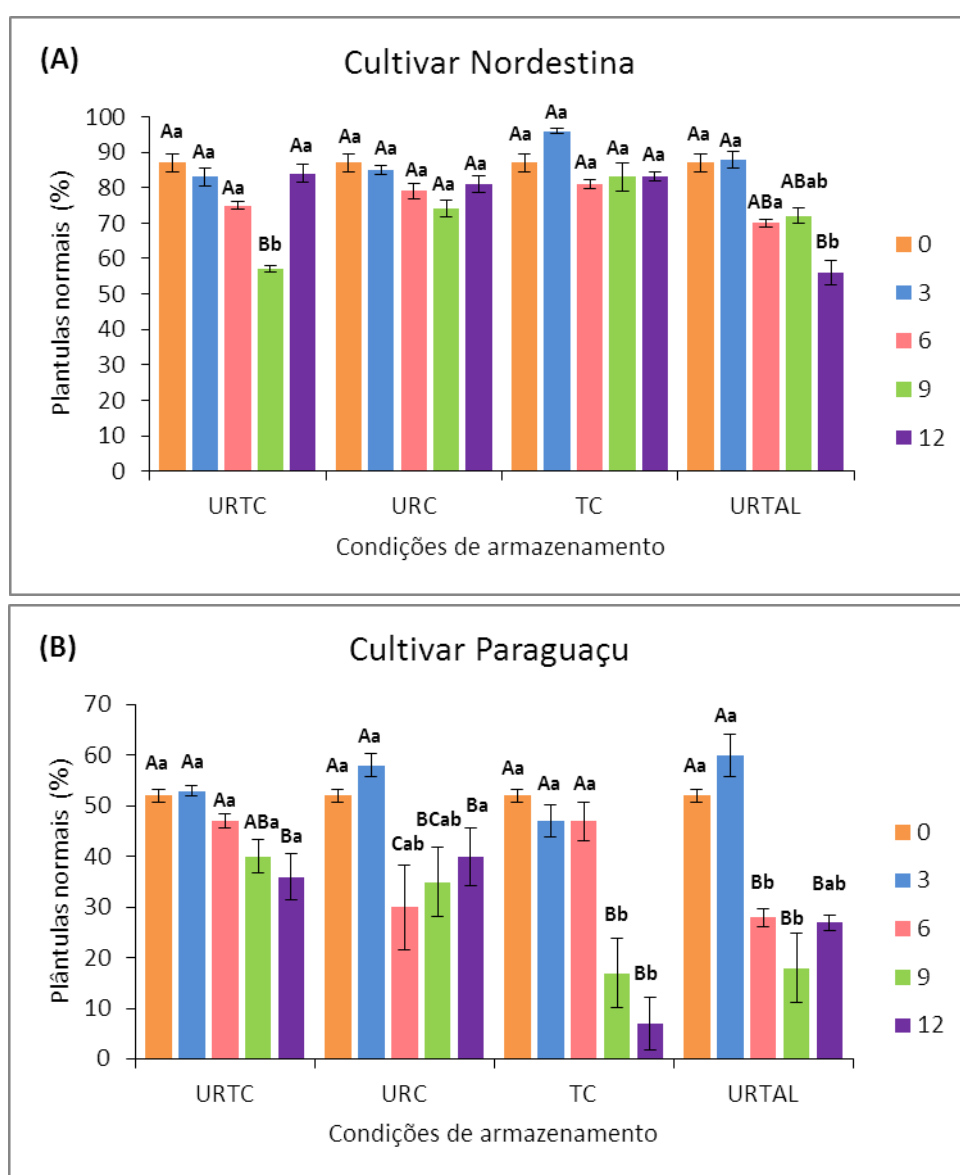
Já a AAC para as sementes do cultivar Paraguaçu apresentou variação significativa ao longo dos 12 meses de armazenamento em todas as condições. Vasconcelos (2015) avaliou a AAC das sementes secas do cultivar MP11 de *R. communis* e obteve um resultado de 59,53 horas, o que condiz com a germinação final máxima de 96% que ele obteve no seu experimento.

A área abaixo da curva é um dos parâmetros no qual é possível se relacionar o mesmo com o potencial germinativo das sementes. As sementes que apresentam melhor uniformidade, e levam menos tempo para alcançar 50% da germinação total, apresentaram a AAC maior, visto que alcançaram maior percentual de sementes germinadas. Como a AAC reflete a capacidade de germinação das sementes, este pode ser um parâmetro utilizado para a análise da viabilidade de sementes armazenadas em diferentes condições e pode ser utilizado para comparação entre o comportamento de diferentes cultivares e lotes, como foi feito neste estudo.

O cultivar Nordestina apresentou uma porcentagem maior de plântulas normais quando comparado com o cultivar Paraguaçu (Figura 22), isso condiz com os resultados da germinação final máxima na Figura 18. Foi possível verificar que ocorreu uma redução significativa para a condição URTC no mês nove. E para a condição URTAL ocorreu alterações significativas a partir do sexto mês de armazenamento. E para o cultivar Paraguaçu, ocorreu variações significativas na porcentagem de plântulas normais para todas as condições URTC, URC, TC, e URTAL o que condiz com a variação na germinação das sementes do cultivar Paraguaçu.

O resultado da germinação e do desenvolvimento de plântulas normais é um indicativo da manutenção do vigor das sementes armazenadas nas diferentes condições, ou seja, sementes das amostras que germinam mais rapidamente e que apresentam maior porcentagem de plântulas normais são consideradas mais vigorosas e terão maiores possibilidades de emergir e produzir plantas normais em condições adversas de campo (OLIVEIRA et al., 2009). E a redução da porcentagem de plântulas normais indica a deterioração das sementes durante o armazenamento (MELLO, 2013).

Figura 22. Plântulas normais (%) dos dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os efeitos na qualidade fisiológica das sementes são geralmente traduzidos pelo decréscimo de germinação e decorrência da redução de plântulas normais, as porcentagens das plântulas normais variam em função do vigor das sementes (TOLEDO, 2011). Verifica-se que as sementes de ambos os cultivares perdem o vigor ao longo do armazenamento. Este resultado corrobora com o de Nakagawa et al., (2009), ao avaliar as plântulas normais provenientes do armazenamento de sementes guandu (*Cajanus cajan* L.), durante o período de seis anos, verificou que os números de plântulas normais foi crescente, devido à perda de vigor das sementes armazenadas, resultando em menor número de plântulas normais no decorrer dos anos.

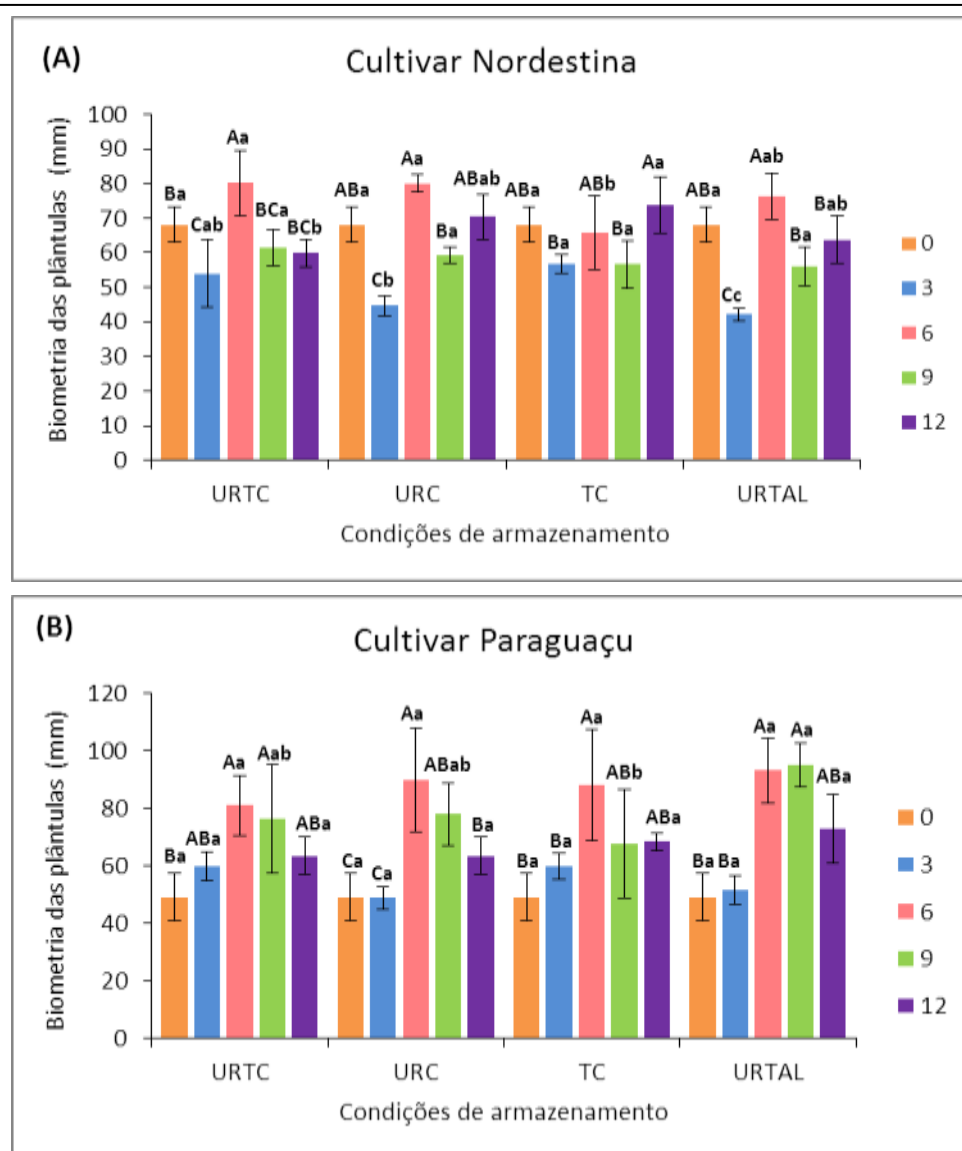
O comprimento de plântulas é um método para avaliar o vigor e classificar lotes de sementes de acordo com a sua qualidade fisiológica. Esse método possui como principais vantagens: o baixo custo, não necessita de equipamentos especiais, não demanda treinamento adicional específico sobre a técnica empregada e é relativamente rápido (VANZOLINI et al., 2009).

Após a germinação das sementes de mamona dos cultivares Nordeste e Paraguaçu foram obtidos os dados referentes ao tamanho das plântulas normais (Figura 23) obtidas após a primeira e segunda contagem destas.

As biometrias das plântulas normais do cultivar Nordeste variaram entre 42 a 80 mm e as plântulas do cultivar Paraguaçu variaram de 48 a 95 mm. Em ambos os cultivares ocorreu diferença significativa para as sementes mantidas nas quatro condições de armazenamento, com exceção para sementes do cultivar Paraguaçu na condição URTC, que apresentaram diferença significativa apenas no mês três e doze quando comparado com as demais condições de armazenamento.

Na interpretação dos dados referente ao vigor do lote, não se deve considerar apenas os resultados do comprimento da plântula (média) ou parte dela, mas também os valores da germinação (%), pois alguns lotes podem apresentar germinação menor produzindo plântulas com maior tamanho médio e vice-versa. Isto deve ser considerado para evitar interpretação errônea quanto ao vigor dos lotes (VANZOLINI et al., 2009).

Figura 23. Biometria das plântulas normais (mm) das sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

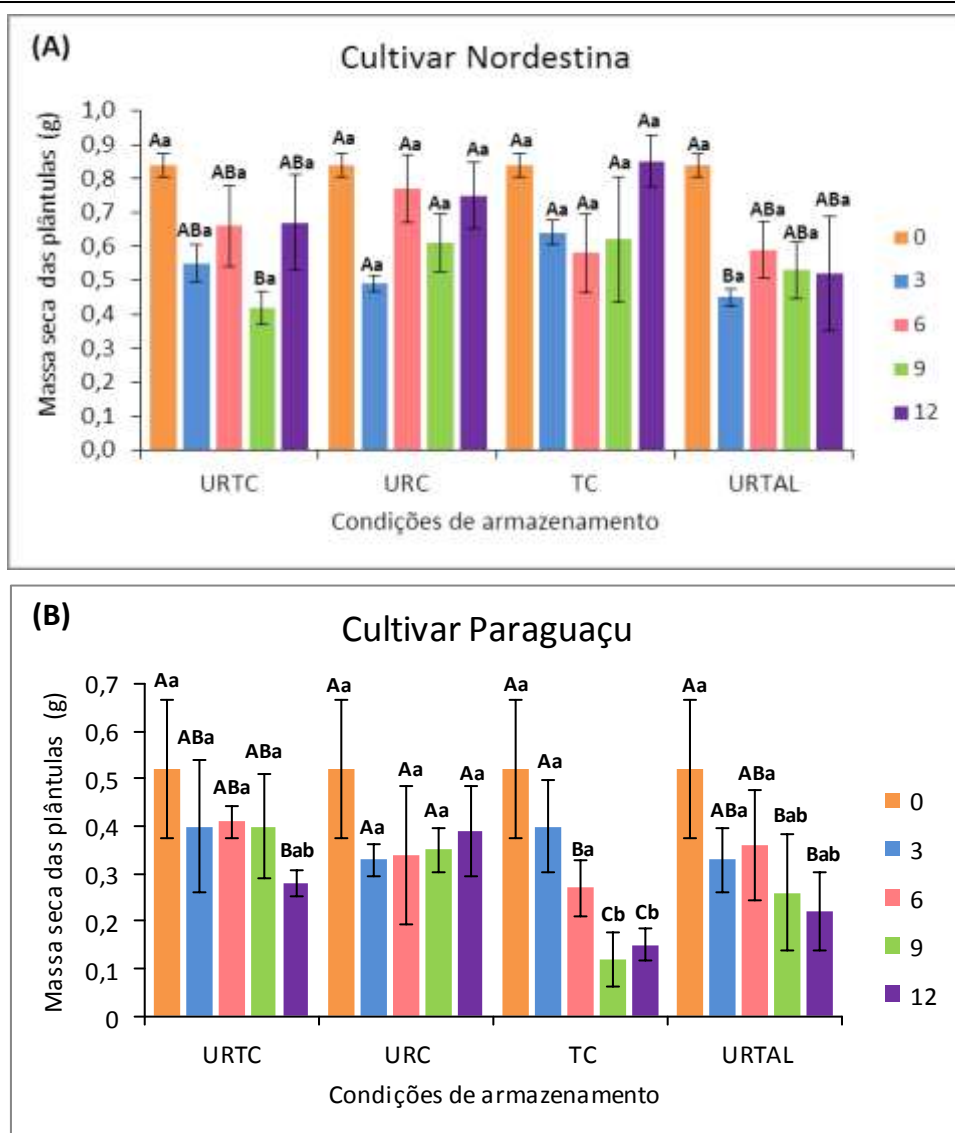
Vanzolini (2009), ao avaliar o comprimento de plântulas para avaliação qualidade fisiológico obteve plântulas de 69 mm, 56 mm e 128 mm e concluiu que o comprimento de plântulas, ou parte delas, dada pelo número de sementes colocadas em teste é mais sensível para classificar lotes com diferenças sutis de qualidade, em comparação com a forma tradicional de expressar o comprimento com base no número de plântulas normais obtidas no final do teste.

O peso da massa seca das plântulas normais (PMSPN) também foi utilizado para auxiliar na análise de vigor das sementes. O peso de massa das plântulas normais foi medido após a secagem em estufa e quando o peso passou a ser constante, pela perda de água. Os resultados obtidos referentes à massa seca das plântulas de mamona dos cultivares Paraguaçu e Nordestina estão representados na Figura 24.

As sementes mantidas na condição URC para ambos os cultivares não apresentaram diferenças significativas ao longo do armazenamento. Ocorreram alterações significativas para as sementes do cultivar Nordestina, armazenadas nas condições URTC e URTAL, e para as sementes de Paraguaçu mantidas condições URTC, TC e URTAL. Os pesos da massa seca das plântulas de Nordestina variaram de 0,42 g a 0,83 g e do cultivar Paraguaçu variou entre 0,12g a 0,52 g. Portanto, a massa seca de plântulas mostrou-se eficiente na discriminação da qualidade dos cultivares, mostrando que as sementes de Paraguaçu possuem baixa qualidade quando se leva em consideração o valor obtido e os dados de germinação e a biometria das plântulas que diminuíram no decimo segundo mês de armazenamento.

VANZOLIN et al. (2007) em estudo com sementes de *R. communis* conseguiram avaliar a melhor qualidade do lote de sementes baseado no seus resultados de massa seca e número de plântulas normais. De forma semelhante, Guedes et al. (2013) também constatou que os testes realizados em campo (emergência, índice de velocidade de emergência e massa seca da parte aérea das plântulas em campo) foram eficientes para determinação do vigor de lotes de sementes.

Figura 24. Massa seca das plântulas normais (g) das sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Gueges et al. (2013) verificaram que apenas o conteúdo de massa seca das plântulas provenientes da emergência em campo expressou diferenças significativas para todos os lotes, tendo que se ressaltar a superioridade da qualidade fisiológica das sementes provenientes de lote L1 - Patos, o qual atingiu o maior conteúdo de massa seca (0,369 g). No presente estudo se verificou que ao comparar o mês inicial aos demais meses de armazenamento, até o décimo segundo mês, ocorreu uma redução da massa seca das plântulas normais de ambos os cultivares. Assim, sendo, ao longo do armazenamento as sementes de ambos os cultivares perderam o vigor, principalmente as sementes do cultivar Paraguaçu que já apresentavam uma baixa qualidade, ao iniciar o armazenamento, quando comparado ao lote de sementes do cultivar Nordeste.

De acordo com as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009) o teste de tetrazólio é um teste bioquímico rápido, que pode ser usado para avaliar a viabilidade das sementes, o princípio do teste se baseia na utilização de uma solução incolor 2, 3, 5 trifênil cloreto que é utilizado como indicador para revelar o processo de redução que acontece dentro das células vivas. Neste processo, os íons de H^+ liberados durante a respiração dos tecidos vivos são transferidos por um grupo de enzimas desidrogenases, particularmente, a desidrogenase do ácido málico, e interagem com o tetrazólio, o qual é reduzido a um composto vermelho, estável e não difusível chamado de trifênil formazan. Como esta reação se processa no interior das células vivas e o composto se difunde, há nítida separação dos tecidos vivos e coloridos que respiram, daqueles mortos e que não colorem (DELOUCHE et al., 1976; GASPAR-OLIVEIRA et al., 2009).

3.4. Viabilidade das sementes

A caracterização da viabilidade das sementes do cultivar Nordeste está representada na Figura 25, o sucesso do teste e a avaliação da viabilidade das sementes é determinado pela coloração da semente quando mantida em tetrazólio por 2 horas. As sementes mantidas em todas as condições de temperatura e umidade relativa foram totalmente viáveis nos 12 meses de

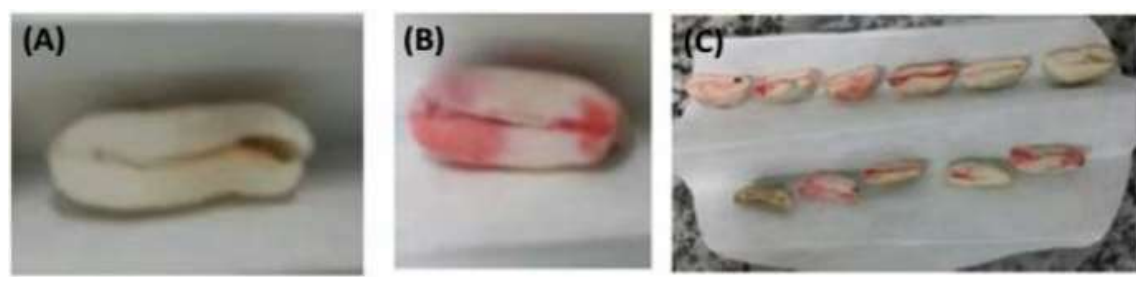
armazenamento, sendo corroborado pelo teste de germinação que variou entre 90 a 100%.

Figura 25. Teste de tetrazólio em sementes viáveis do cultivar Nordestina de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controlada – URTC, umidade relativa controlada – URC, temperatura controlada – TC, umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL). LBBB/ICS/UFBA durante março de 2014 a março de 2015. (A), (B) e (C) sementes coradas de vermelho indicativo de viabilidade.



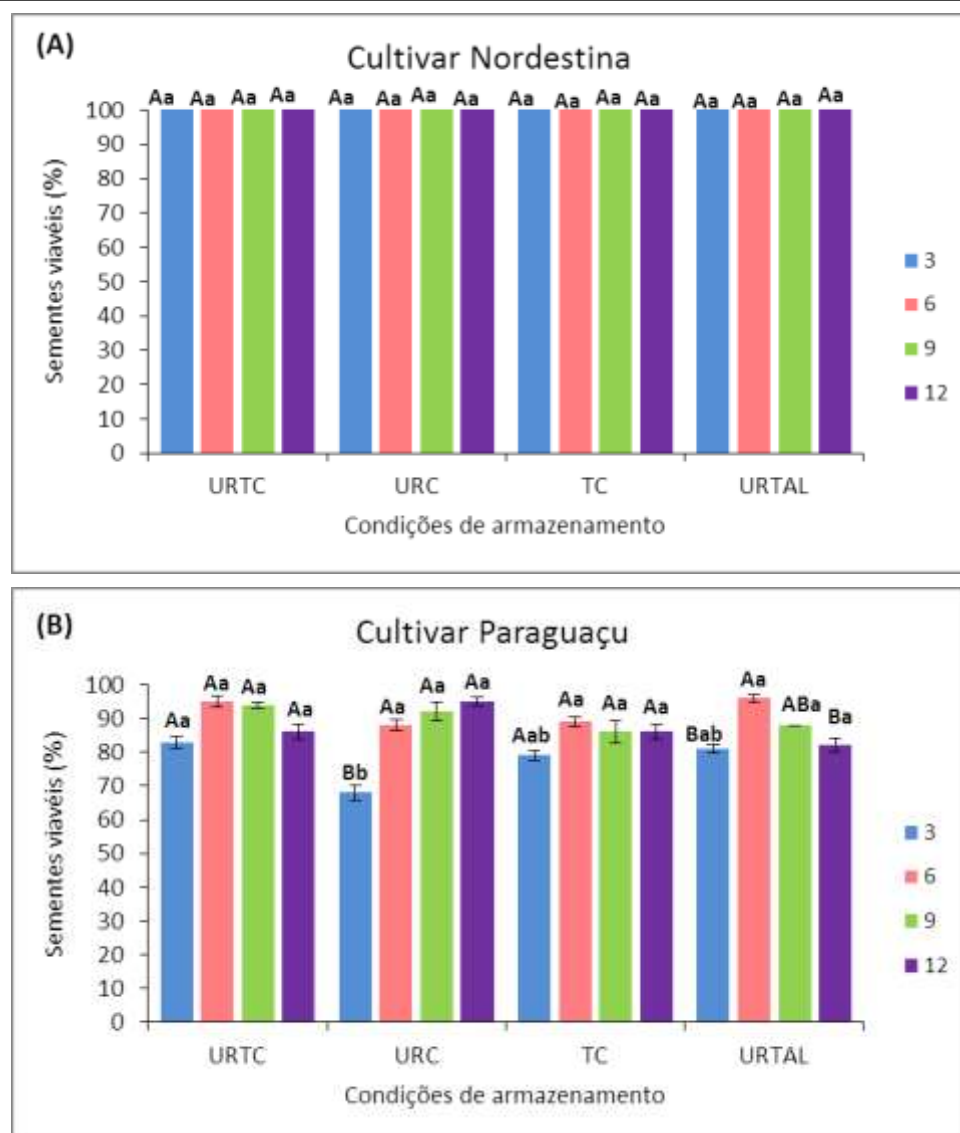
Em tecidos mortos (não viáveis) não há reação, logo ocorre à conservação da cor natural na semente inteira ou em parte da mesma, como representado na Figura 26 (DELOUCHE et al., 1976; FRANÇA NETO et al., 1999; GASPAR-OLIVEIRA et al., 2009).

Figura 26. Teste de tetrazólio em sementes inviáveis do cultivar Paraguaçu de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controlada – URTC, umidade relativa controlada – URC, temperatura controlada – TC, umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL). LBBB/ICS/UFBA durante março de 2014 a março de 2015. (A) sementes sem coloração, (B) Endosperma e embrião de sementes com menos de 50% de área corada e (C) sementes inviáveis.



A determinação do número de sementes viáveis (Figura 27), usando como critério as cores das sementes representadas nas Figuras 24 e 25, foi realizada a cada trimestre, no período de março de 2014 a março de 2015.

Figura 27. Sementes viáveis (%) dos dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Durante os meses de armazenamento as sementes de Nordestina apresentaram-se viáveis, sem nenhuma variação na coloração entre as sementes analisadas, mantendo-se avermelhadas durante o teste de tetrazólio (Figura 27). No entanto, as sementes de Paraguaçu ao longo dos meses de armazenamento apresentaram algumas sementes inviáveis. Ressalta-se que mesmo apresentando uma alta porcentagem de sementes viáveis, pelo teste de tetrazólio, este não garante que a germinação do lote de sementes terá produção de plântulas normais, o que ocorreu com o cultivar Paraguaçu.

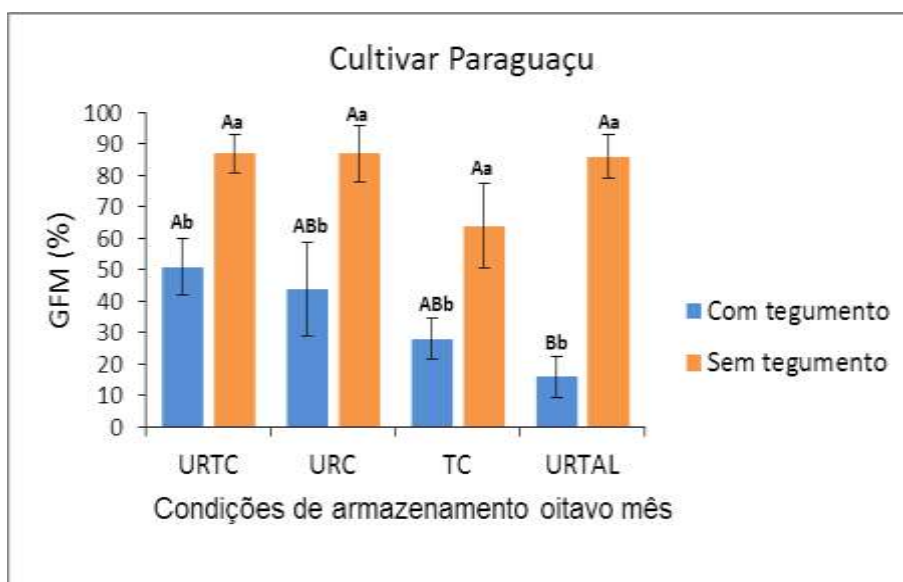
O cultivar Nordestina apresentou 100% de viabilidade ao longo dos doze meses de armazenamento, verificou-se que o cultivar Paraguaçu apresentou entre 70 a 95% de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio, mesmo possuindo variações durante os meses de armazenamento e diferindo dos resultados de GFM (Figura 18) para o mesmo lote e mês de armazenamento.

Clemente (2009) ao avaliar a viabilidade de sementes armazenadas de café, observou que apesar da diferença de qualidade entre os lotes, se comportaram de forma semelhante em relação à metodologia do tetrazólio, apresentando valores médios semelhantes ao valor da germinação das sementes. Trabalhos realizados comprovam a perda de viabilidade de sementes de café ao longo do armazenamento e principalmente quando as sementes estão armazenadas em ambiente aberto (VIEIRA et al., 2007). Tais resultados ressaltam a influência da condição de armazenamento na preservação da viabilidade de sementes de mamona como relatado por Lago et al. (1979) em estudos de conservação de mamona (Guarani, IAC 38 e Campinas) em armazém convencional pelo período de vinte e um meses, e por Santos (2010) durante o armazenamento de sementes de mamona Guarani, IAC-80 e IAC-226, armazenadas em dois ambientes (câmara fria e armazém convencional) em três embalagens (papel Kraft multifoliado e plástico com e sem acondicionamento a vácuo a 1 atm),

Ao se avaliar os dados de tetrazólio das sementes do cultivar Paraguaçu (Figura 26) e os resultados da germinação final máxima (Figura 18), verificou-se que a porcentagem de sementes viáveis determinadas pelo teste de tetrazólio não era condizente com a porcentagem de sementes que germinava, então foi realizado um experimento pontual para avaliar a germinação das

sementes do cultivar Paraguaçu, para averiguar se estas estavam passando por uma dormência tegumentar. Realizou-se então um teste de germinação com sementes do cultivar Paraguaçu mantidas nas quatro condições de armazenamento durante oito meses visando avaliar a germinação de sementes com e sem tegumento. Verificou-se que na ausência de tegumento a germinação das sementes foi maior do que na presença de tegumento. Houve diferença significativa quando se comparou a porcentagem de germinação das sementes com e sem tegumento, mantidas na mesma condição de armazenamento. Assim, é possível afirmar que há dormência tegumentar nas sementes de Paraguaçu (Figura 28), No entanto, para o presente estudo não foi realizado nenhum outro experimento para avaliar os fatores que levaram a esta dormência e nem os mecanismo deste processo.

Figura 28. Germinação final máxima (%) de sementes (com e sem tegumento) de *Ricinus communis* L do cultivar Paraguaçu, armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 no LBBB/ICS/UFBA.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento (URTC, URC, TC e URTAL); letras minúsculas iguais entre as germinações com e sem tegumento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Alguns fatores extrínsecos (ambientais) e intrínsecos (sementes) devem ser considerados. A dormência geralmente está associada a fatores intrínsecos, ligados à própria semente, como dureza e impermeabilidade do tegumento à água e gases, embrião imaturo, presença de inibidores e aos fatores extrínsecos, tais como temperatura, luz, umidade e substrato (DOUSSEAU et al., 2007). O experimento foi realizado a fim de verificar se as sementes do cultivar Paraguaçu estavam apresentando por dormência ou não .

Segundo as Regras de análise de sementes (BRASIL, 2009), são várias as razões para a ocorrência de dormência, a exemplo de: dormência fisiológica, dormência física ou por substâncias inibidoras. Um número considerável de sementes duras ou dormentes pode permanecer sem germinar no final do teste. Na suspeita de dormência, pode-se realizar novos testes de germinação visando obter resultados que elucidem melhor o processo realizando-se usando-se um novo tratamento, uma combinação de tratamentos ou a remoção do tegumento.

A dormência tegumentar e a desuniformidade de maturação, são problemas que interferem diretamente na qualidade das sementes de mamona. As sementes de mamona apresentam irregularidade na emergência das plântulas em campo e também em laboratório. Tal evento tem sido atribuído à dificuldade de absorção de água pelas sementes, devido à espessura e rigidez do tegumento ou a uma possível dormência pós-colheita, representada pela dureza tegumentar (SANTOS, 2010). Mendes et al., (2009) em seus estudos avaliando a qualidade fisiológica de sementes dos cultivares Guarani e IAC-38 de *R. communis*, constataram variação de 9 a 66% de sementes dormentes. No presente estudo verificou-se que as sementes do cultivar Paraguaçu apresentam dormência e quebra de dormência ao longo dos doze meses quando mantidas nas diferentes condições de armazenamento.

4. CONCLUSÃO

A melhor condição para armazenamento de sementes para ambos cultivares é quando são mantidas em bombona com sílica gel e a umidade relativa controlada (URC e URTC). Nestas condições, as sementes apresentam os melhores resultados de germinação e de todos os parâmetros relacionados à germinabilidade e vigor. Sendo assim, associado à capacidade das sementes armazenadas nessas condições em atingir alto percentual de GFM como também T50, U8416 e AAC, que ratificam, que as sementes que levam menos tempo para germinar e ocorre de forma mais uniforme, necessitando de menor tempo para alcançar 50% da germinação, possui uma maior AAC e consequentemente maior GFM.

O resultado obtido como teste do tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes, pode não acompanhar os resultados de germinação, principalmente quando há dormência na semente estudada.

A produção de plântulas normais está diretamente relacionada com a porcentagem de germinação, para ambos os cultivares. A porcentagem de plântulas anormais aumenta em condições de armazenamento onde não há controle de umidade e temperatura, confirmando que o ambiente interfere de forma direta na qualidade da semente.

A condição de armazenamento interfere nas características fisiológicas das sementes, quando mantidas em condições que alteram os parâmetros de germinabilidade, entretanto, devem-se considerar também fatores biológicos, intrínsecos de cada cultivar, como também a qualidade inicial do lote de sementes utilizado, e as condições do ambiente utilizado para a conservação (temperatura, umidade, disponibilidade de oxigênio e o tipo de embalagem).

As sementes do cultivar Nordesteína apresentam maior qualidade e vigor quando comparadas com as sementes do cultivar Paraguaçu considerando que os parâmetros GFM, T50, U8416, AAC, porcentagem de sementes viáveis e número de plântulas normais são melhores para as sementes armazenadas nas diferentes condições de temperatura e umidade relativa avaliadas.

A umidade relativa é o principal fator que interfere na qualidade das sementes ao longo do tempo, pois dentre as condições de armazenamento avaliadas, as que promovem maiores alterações nos parâmetros de germinabilidade são as condições sem controles de umidade, onde há apenas o controle da temperatura (TC). Quando não se controla nem a temperatura e nem a umidade relativa (URTAL), principalmente para as sementes do cultivar Paraguaçu de qualidade inferior ao cultivar Nordestina, há alteração nos parâmetros fisiológicos e diminuição da germinabilidade e vigor das sementes.

O armazenamento de sementes oleaginosas pode ser realizado mantendo apenas o controle de umidade relativa, principalmente em ambientes onde é difícil a manutenção da temperatura, a exemplo do armazenamento realizado pelo pequeno agricultor do semiárido Brasileiro.

A manutenção de sementes de *Ricinus communis* L. em ambientes com temperatura e umidade relativa controlada pode ser indicada e reproduzida em localidades onde normalmente não há controle destes parâmetros, mas que é necessário o armazenamento em larga escala e por um período de até doze meses.

5. REFERÊNCIAS

- ABREU, L. A. S.; CARVALHO, M. L. M.; GOMES PINTO, C. A.; KATAOKA, V. Y.; SILVA, T. T. A. Deterioration of sunflower seeds during storage. **Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 240-247, 2013.
- ALMEIDA, F. A. C.; JERÔNIMO, E. S.; ALVES, N. M. C.; GOMES, J. P. SILVA, A. S. Estudo de técnica para o armazenamento de cinco oleaginosas em condições ambientais e criogênicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campinas Grande, v. 12, n. 2, p.189-202, 2010.
- ALMEIDA, F. A.C.; CAVALCANTI MATA, M.E.R.M.; Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, p.201, 1997.
- ALQUINO, N. F.; AJALA, M. C.; DRANSKI, J. A.; IGNÁCIO, V. L.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U. C. Morfometria de sementes de *Jatropha curcas* L. em função da procedência. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Florianópolis, v. 8, n. 2, p. 142-145, 2009.
- ALVES, E. U.; BRUNO., R. L. A.; OLIVEIRA, A. P.; ALVES, A. U.; ALVES, A. U.; PAULA, R. C. Influência do tamanho e da procedência de sementes *Mimosa caesalpiniiifolia* B. sobre a germinação e vigor. **Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p.877-885, 2005.
- AMARAL, L. I. V.; PAULILO, M. T. F. Efeito da luz, temperatura, regulador de crescimento e nitrato de potássio na germinação de *Miconia cinnamomifolia* (DC) Naudim. **Insula**, Florianópolis, n. 21, p. 59-86, 1992.
- AQUINO, N. F.; AJALA, M. C.; DRANSKI, J. A.; IGNÁCIO, V. L.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U. C. Morfometria de sementes de *Jatropha curcas* L. em função da procedência. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Florianópolis, v. 8, n. 2, p. 142-145, 2009.
- BAHIA, H. F.; SILVA, S. A.; FERNANDEZ, L. G.; LEDO, C. A. S.; MOREIREIRA, R. F. C. Divergência genética entre cinco cultivares de mamoneira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 3, p. 357-362, 2008.
- BIZERRA, P. H.; BIAGGIONI, M. A. M.; SILVA, M. A. P. S.; SPOROTTO, F. C. S.; BRANDÃO, F. J. B. Efeito do armazenamento na qualidade dos grãos e do óleo de crambe para produção de biodiesel. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 30, n.3, p.310-318, 2015.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009.
- BRITO, K. Q. D.; GUEDES DE SOUZA, F.; DANTAS JUNIOR, G. J.; ARRUDA de BRITO, K. S. Efeito da salinidade na germinação e desenvolvimento inicial da mamona 'BRS energia'. **Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 10, n. 4, p. 17-20, 2015.

CAIXETA, F. **Alterações fisiológicas e Bioquímicas durante o desenvolvimento, a germinação e o armazenamento em sementes de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e Habanero Yellow (*Capsicum chinenses*).** 2009, 98f. Dissertação – Programa de pós-graduação em agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

CANGUSSÚ, V. S.; DAVID, A. M. S. S.; AMARO, H. T. R. A.; ASSIS, M. O. Efeito do tamanho de sementes no desempenho fisiológico de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 19, n1/2, p. 73-81, 2013.

CARVALHO, J. E. U.; NAZARÉ, R. F. R.; OLIVEIRA, W. M. Características físicas e físico-químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* M.) com rendimento industrial superior. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas, v. 25, p. 326-328, 2003.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, ed. 4, p. 588, 2000.

CAVALCANTE, J. A.; LOPES, K. P.; SOUZA, A. S.; PEREIRA, N. A. E.; PEREIRA NETO, J. R.; BARBOSA, R. C. A. Morfometria e qualidade fisiológica de sementes de mamona oriundas de diferentes cultivares e ordem de racemos. In: V Congresso Brasileiro de Mamona / II Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas & I Fórum Capixaba de Pinhão Manso, Guarapari (ES) – 2012. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/65658/1/FIS-037-P.216.pdf>. Acesso em 12 de março de 2016.

CHEN, K.; ARORA, R. *Priming* memory invokes seed stress-tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, Rio de Janeiro, v. 94, p. 33-45, 2013.

CLEMENTE, A. C. S. **Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade de sementes de café no armazenamento**. 2009, 49 f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L.; TREMOCOLDI, M. A.; RUSSO, V. C. Taxa respiratória de abacate 'hass' submetido a diferentes tratamentos físicos. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, Hermosillo, v. 10, n. 2, p. 101-109, 2010.

DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. O teste de tetrazólio para viabilidade da semente. **AGIPLAN**, Brasília, p. 103, 1976.

DOUSSEAU, S.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; ARANTES, L. O.; NERY, F. C. Superação de dormência em sementes de *Zeyheria montana* M. **Ciências Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1744-1748, 2007.

DRUMOND, M. A.; TAVARES, J. A.; OLIVEIRA, A. R. de.; MILANI, M.; ANJOS, J. B. dos.; MORGADO, L. B. e SILVA, A. F. Desempenho agrônomo de genótipos de mamoneira na Chapa do Araripe, Pernambucano. CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4 & SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE

OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 1, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: Anais... Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 1693-1699.

EICHOLZ, E. D.; ZANATTA, Z. G. C. N.; AIRES, R. F. A.; UENO, B.; LUCCA FILHO, O. A.; SILVA, S. D. A. Germinação de sementes de mamona em diferentes substratos e com tratamento fungicida. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 18, n. 1, p. 37-43, 2012.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA-algodão). Mamona. Disponível em: <http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/index.html>. Acesso em 27 de setembro de 2015.

FANAN, S.; MEDINA, P. F.; CAMARGO, M. B. P.; RAMOS, N. P. Influência da colheita e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, p. 150- 159, 2009.

FERREIRA, A. G. & BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao avançado**. São Paulo: Artimed Editora, 2004. Cap. 18: Teste de qualidade, p. 283-297.

FIGUEIREDO, S. M. Dissertação: **Qualidade fisiológica de sementes de mamona em função da embalagem, condições e períodos de armazenagem**, 2006, 61 f. Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006.

FONSECA, M. D. S.; FREITAS, T. A. S.; MENDONÇA, A. V. R.; SOUZA, L. S., ABDALLA, S. D. Morfometria de sementes e plântulas e verificação da dormência da espécie *Plathymenia foliolosa* Benth. **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 4, n.4, p 368-376, 2013.

FONTENELE, A. C. F.; ARAGÃO, W. M.; RANGEL, J. H. de A; Biometria de frutos e sementes de *Desmanthus virgatus* (L) Willd Nativas de Sergipe. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n.1, p. 252-254, 2007.

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. O teste de tetrazólio em sementes de soja. **EMBRAPA-CNPSo**, Londrina, p. 72,1998. (EMBRAPA-CNPSo, Documentos, 116).

GASPAR-OLIVEIRA, C.; MARTINS, C.; NAKAGAWA, J. **Método de preparo das sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.) para o teste de tetrazólio**. Revista Brasileira de Sementes, Botucatu, v. 31, n. 1, p.160-167, 2009.

GONÇALVES, N.P.; BENDEZÙ, J.M.; LIMA, C.A.S. Colheita e armazenamento da mamona. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.82, n.7, p.44-45, 1981.

GREGGIO, E. A.; BONINI, E. A. Qualidade do grão de soja relacionada com o teor de acidez do óleo. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.7, n.3, p. 645-658, 2014.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; COSTA, E. M. T.; SANTOS-MOURA, S. S.; SILVA, R. S.; CRUZ, F. R. S. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de

Amburana cearensis (Allemão) A.C. Smith. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 859-866, 2013.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P. SANTOS, S. R. N.; LIMA, C. R. Testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae - Papilionoideae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 5, p. 1360-1365, 2009.

JESUS FILHO, H. P. **Caracterização de genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) para potencial utilização do farelo na alimentação animal**. 2014, 95 f. Dissertação, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

JOOSEN, R. V. L.; KODDE, J.; WILLEMS, L. A. J.; LIGTERINK, W.; PLAS, L. H. W. V. P.; HILHORST, H. W. M. Germinator: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of arabidopsis seed germination. **The Plant Journal**, Malden, v.62, p. 148-159, 2010.

LAGO, A. A.; ZINK, E.; RAZERA, L.F.; BANZATTO, N.V.; SAVY FILHO, A. Dormência em sementes de três cultivares de mamona . **Bragantia**, São Paulo, v.38, p-XLI-XLIV, 1979.

LAGO, A. A.; ZINK, E.; SAVY FILHO, A.; TEIXEIRA, J. P. F.; BANZATTO, N. V. Deterioração de sementes de mamona armazenadas com e sem casca. **Bragantia**, Campinas, v. 44, n. 1, p. 17-25, 1985.

LUCENA, A. M. A.; SEVERINO, L. S.; FREIRE, M. A. O.; COSTA, F. X.; BELTRÃO, N. E. M. Umidade e peso seco da semente e do fruto de mamona BRS Paraguaçu colhidos em três estádios de maturação. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA**, 2., 2006. Campina Grande...Anais, Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006.

MACHADO, C. G. **Métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de ervilha forrageira (*Pisum sativum* subsp. *arvense*)**. 2010, 90 f. Tese – Programa de Pós-Graduação em Ciências agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

MAZZANI, B. Euforbiáceas oleaginosas. Tártago. In:MAZZANI, B. (Ed.). Cultivo e monitoramento de plantas oleaginosas. **Nacional Investigações Agropecuárias**, Bogotá, p. 277-360, 1983.

MBOFUNG, G. C. Y; GOGGI, A. S.; LEANDRO, S. G.; MULLEN, R, E. Effects of Storage Temperature and Relative Humidity on Viability and Vigor of Treated Soybean Seeds. **Crop Science**, Madson, v. 53, 2013.

MELLO, J. I. O. **Alterações bioquímicas durante o armazenamento e a germinação de sementes de *Caesalpinia echinata* e *Erythrina speciosa*, leguminosas nativas da Floresta Atlântica**. 2013, 133 f. Tese – Programa de Pós-Graduação Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2013.

MENDES, R. C.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA, M. D.; BERGER, P. G. Tratamentos pré-germinativos em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p.187-194, 2009.

MENDES, R. C.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA, M. D.; DIAS, L. A. S. Testes de vigor para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Ciências Agrotecnicas**, Lavras, v. 34, n.1, p. 114-120, 2010.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; TOLEDO, M. Z. Germinação de sementes armazenadas de Guandu. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 49-48, 2009.

NOBRE, D. A. C.; SILVA NETA, I, C.; DAVID, A. M. S. S.; GONÇALVES, N. P. AMARO, H. T. R. Desempenho físico e fisiológico de sementes de mamona produzidas no norte de Minas Gerais. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 7, n. 24, p. 218-225, 2014.

OLIVEIRA, A. C. S.; MARTINS. G. N.; SILVA, R. F.; VIEIRA, H. D. Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. **InterSciencePlace**, Rio de Janeiro, n. 4, p. 1-21, 2009.

OLIVEIRA, A.B.; QUEIROZ, J.A.; MENEZES, C.H.S.G.; CARTAXO, W.V. & SUASSUNA, N.D. Efeito do tempo de embebição em água e remoção da carúncula na germinação de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA – Energia e Sustentabilidade, 1., 2004, Campina Grande. Anais... Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004. p.123-128.

OLIVEIRA, M. **Efeitos da umidade, do tempo e de sistemas de armazenamento sobre parâmetros de qualidade e propriedades tecnológicas dos grãos e do óleo de soja**. 2011. 131 f. Tese - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

OLIVEIRA, R. H.; SOUZA, M. J. L.; MORAIS, O. M.; GUIMARÃES, B. V. C.; PERERIRA JÚNIOR, H. A. Potencial fisiológico de sementes de mamona tratadas com micronutrientes. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 701 -707, 2010.

QUEIROGA, V. P.; SANTOS, R. F.; QUEIROGA, D. A. N. Levantamento da produção de mamona (*Ricinus communis* L.) em uma amostra de produtores em cinco municípios do Estado da Bahia. **Agroambiente**, Boa vista, v. 5, n. 2, p.148-157, 2011.

RIBEIRO, P. R.; ZANOTTI, R. F.; DEFLERS, C.; FERNANDEZ, L. G.; CASTRO, R. D.; LIGTERINK; L.; HILHORST, H. W. M. Effect of temperature on biomass allocation in seedlings of two contrasting genotypes of the oilseed crop *Ricinus communis*. **Journal of Plant Physiology**, Rio de janeiro, v. 185, p. 31-39, 2015.

SANTOS, F. **Biometria, germinação e qualidade fisiológica de sementes de *tabebuia chryso-tricha* (Mart. ex. A.D.C.) standl. Provenientes de diferentes matrizes.** 2007, 48 f. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, campus de Jaboticabal, São Paulo, 2007.

SANTOS, H., O. **Conservação de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.).** 2010, 85f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SCHULZ, D. G.; ORO, P.; VOLKWEIS, C.; MALAVASI, M. M.; MALAVA, U. C. Maturidade Fisiológica e Morfometria de sementes de *Inga laurina* (Sw.) Willd. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 45-51, 2014.

SINGH, A. S.; KUMARI, S.; MODI, A. R.; GAJERA, B. B.; NARAYANAN, S.; KUMAR, N. Role of conventional and biochnological approaches in geneticimprovement of castor (*Ricinus communis* L.). **Industrial Crops and Products**, Willoughby, v. 74, p. 55-62, 2015.

SMANIOTTO, T. A. S.; RESENDE, O.; MARÇAL, K. A. F.; OLIVEIRA, D. E. C.; SIMON, G. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.18, n.4, p.446–453, 2014.

SOUZA, F. V. **Expressão de genes em resposta a estresse por restrição hídrica em sementes de *Ricinus communis* L. (Euphorbeaceae).** 2012, 76f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em Biotecnologia. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

SOUZA, N. C.; MOTA, S. B.; BEZERRA, F. M. L; AQUINO, B. F.; SANTOS, A. B. Produtividade da mamona irrigada com esgotodoméstico tratado. **Engenharia Agricolae Ambiental**, Campina grande, v.14, p.478-484, 2010.

TELES, Clarissa Abreu Santos. **Aspectos fisiológicos e eventos do ciclo celular em sementes de *Ricinus communis* L. sob restrição hídrica.** 2013. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

TOLEDO, M. Z. **Desenvolvimento de plântulas de soja em função da dessecação das plantas e do tratamento das sementes.** 2011, 133f. Tese – Programa de Pós-Graduação em Agrônomia, Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, 2011.

VANZOLINI, S.; ARAKI, C. A. S.; SILVA, A. C. T. M.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 90-96, 2007.

VARIER, A.; VARI, A. K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed *priming*. **Current Science**, Bengaluru, v.99, n.4, p.450-456, 2010.

VASCONCELOS, P. C. T. **Desenvolvimento e germinação de sementes de mamona cv. MPA 11: morfofisiologia e ciclo celular.** 2015, 84f. Dissertação

apresentada ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

VIEIRA, A. R.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PEREIRA, C. E.; CARVALHO, F. E. Armazenamento de sementes de cafeeiro: ambiente e método de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 76-82, 2007.

ZUCHI, J.; BEVILAQUA, G. A. P.; PESKE, S. T.; SILVA, S. D. A.; SEDIYAMA, C. S. S. Características agronômicas de cultivares de mamona em função do local de cultivo e da época de semeadura no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 5501-506, 2010.

ZUCHI, J.; BEVILAQUA, G. A.; SILVA, S. D. A.; PESKE, S. T. Produtividade e qualidade de sementes de mamona em sistema de transição agroecológica. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Florianópolis, v. 5, n. 2, p. 72-80, 2010.

CAPÍTULO 2

Superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase em sementes de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições de temperatura e umidade relativa.

RESUMO

Ricinus communis L. é uma oleaginosa com grande variabilidade genética. Durante o armazenamento de sementes oleaginosas a depender da condição o ambiente pode afetar de forma direta as sementes, podendo ocorrer deterioração e perda da qualidade das sementes. As enzimas antioxidantes são marcadores bioquímicos sensíveis à presença de espécies reativas de oxigênio (ERO), e através da avaliação da atividade enzimática é possível verificar se a semente esta passando por processo de estresse oxidativo durante o armazenamento. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo investigar o efeito diferentes condições de temperatura e umidade relativa na atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) em sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. durante o armazenamento. As sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu foram armazenadas em quatro diferentes condições: (1) umidade relativa e temperatura controlada – URTC; (2) umidade relativa controlada – URC; (3) temperatura controlada – TC e (4) umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL) durante o período de doze meses, realizando-se amostragens a cada três meses. A atividade das enzimas SOD foi determinada considerando a taxa de fotorredução do azul de nitrotetrazólio, a CAT foi mensurada a partir do decréscimo da absorção do H₂O₂ a 240nm e a APX foi avaliada monitorando-se a oxidação do ascorbato a 290nm. Foi possível verificar variações significativas na atividade das enzimas em sementes mantidas nas quatro condições de armazenamento ao longo dos doze meses e entre as condições testadas para ambos os cultivares. As sementes dos dois cultivares apresentaram diferença significativa quanto atividade da SOD ao comparar as quatro condições em que foram mantidas, com exceção das sementes do cultivar Nordeste mantidas na condição TC. Verificou-se que há redução da atividade da SOD nas sementes do cultivar Paraguaçu em todas as condições testadas ao longo dos 12 meses de armazenamento. Houve diferença significativa na atividade da CAT das sementes mantidas na condição URC do cultivar Nordeste e nas condições TC e URTAL das sementes de Paraguaçu. A atividade da APX diferiu significativamente entre as sementes de Nordeste armazenadas em todas as condições de armazenamento, enquanto que ocorreu o mesmo nas condições TC e URTAL para sementes do cultivar Paraguaçu. Ao comparar a atividade das enzimas antioxidantes analisadas com os resultados fisiológicos obtidos, ao longo dos doze meses de armazenamento, verificou-se redução da qualidade e do vigor das sementes, principalmente do cultivar Paraguaçu. Dentre as enzimas antioxidantes avaliadas, a SOD pode ser utilizada como potencial marcador bioquímico para avaliação de sementes de *R. communis* durante o armazenamento e envelhecimento de sementes.

Palavras chaves: Mamona, Enzimas antioxidantes. Estresse oxidativo.

1. INTRODUÇÃO

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma Euphorbiaceae de origem Africana, cultivada em regiões tropicais e subtropicais do mundo (ALLAN et al., 2008; BEZERRA NETO et al., 2010) e adaptada perfeitamente ao semiárido do Nordeste brasileiro. Planta com hábito arbustivo, com variação de coloração no caule, folhas e racemos, podendo ou não possuir cera no caule e pecíolo. Os frutos geralmente possuem espinhos e estes podem ser deiscentes, semi-deiscentes e indeiscentes. E as sementes apresentam grande variação no tamanho, formato, coloração e teor de óleo (NAZARENO et al., 2011; OLIVEIRA 2011). Oleaginosa com relevante importância econômica e social, pois seu óleo possui uma variedade de aplicações industriais (BEZERRA NETO et al., 2010; BISCARO et al., 2012), gerando emprego e renda, com massiva participação do agricultor familiar (CENTENO et al., 2010; CAMPOS & SANTOS, 2015).

O óleo de rícino possui uma versatilidade de aplicações, é empregado na indústria de plástico, siderurgia, saboaria, perfumaria, curtume, tintas e vernizes, usado para fabricação de cosmético, próteses para ossos humanos, além de ser um excelente óleo lubrificante para motores (NÓBREGA et al., 2010; OLIVEIRA, 2011; SANTOS et al., 2014). O ácido ricinoléico também é antimicrobiano, tem propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas, anti-inflamatória e analgésicas. Devido as suas propriedades antifúngicas em particular, têm sido tradicionalmente utilizado para inibir o crescimento de fungos e infecções fúngicas (ROBERTUS, 1991; ABDULRASHEED et al., 2015).

As sementes de *R. communis* com alto potencial fisiológico são requeridas, pois o potencial fisiológico está relacionado com a capacidade de a semente desempenhar funções vitais, caracterizando-se pela longevidade, germinação e vigor. A qualidade das sementes depende da maturidade fisiológica, a redução na qualidade, geralmente, é traduzida pelo decréscimo na percentagem de germinação, aumento de produção de plântulas anormais e redução no vigor das plântulas (TOLEDO et al., 2009; SANTOS, 2010; CARDOSO et al., 2012).

A manutenção da qualidade fisiológica no decorrer do tempo depende diretamente da longevidade inerente à espécie, da qualidade inicial das sementes, bem como das condições onde as sementes foram armazenadas (FONSEICA & FREIRE, 2003; FREITAS et al., 2004). Além desses fatores, as adversidades ocorridas durante o desenvolvimento das sementes no plantio, deficiência hídrica, época de colheita, danos mecânicos e tratamento fitossanitário, têm sido citadas como agentes aceleradores de deterioração e redução da qualidade da semente (ANDRADE & BORBA, 1993; ABREU et al., 2013; HUSSAIN et al., 2015). A deterioração é um processo inevitável, que pode ser mais rápido ou mais lento a depender do ambiente e das características da semente, ocorrendo durante o processo mudanças fisiológicas e bioquímicas graduais, que ocasionam a perda gradativa do vigor (VIEIRA, 2002; SANTOS, 2010; CARDOSO et al., 2012).

As sementes durante armazenamento de longo prazo passam por um processo de envelhecimento, levando as sementes à deterioração gradual e constante em maior ou menor velocidade (CABRAL et al., 2003; JOSÉ et al., 2010; JUVINO et al., 2014). A qualidade de sementes pode ser afetada por fatores durante o armazenamento, tais como: o ambiente de conservação (como variações na temperatura e umidade, disponibilidade de oxigênio), tipo de embalagem e características da espécie. O tipo de embalagem e a condição de armazenamento assumem importância relevante na qualidade das sementes, uma vez que, ajuda a atenuar a velocidade de deterioração, mantendo o teor de umidade inicial das sementes armazenadas e a redução da taxa de respiração das sementes (ABREU et al., 2013; MOROZESK et al., 2014; JUVINO et al., 2014).

As perdas na qualidade de sementes estão relacionadas à degradação de macromoléculas, tais como proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e conseqüentemente a diminuição da atividade bioquímica (COOLBEAR, 1995; LIMA et al., 2014; SILVA et al., 2014). Deste modo, os estudos básicos sobre as transformações fisiológicas pelas quais passam as sementes, incluído o conhecimento das bases bioquímicas que regem a perda da viabilidade fisiológica da semente são essenciais para o mecanismo que envolve a deterioração (PAULA et al., 1998; SMANIOTTO et al., 2014).

As enzimas desempenham um papel importante no processo de deterioração de sementes, alterações na sua atividade pode ser uma indicação de perda de qualidade. Uma das consequências do processo deteriorativo é a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), ativação de mecanismos de proteção que envolve enzimas e outras biomoléculas, responsáveis pela remoção de radicais livres (SHABAN, 2013; MARQUES et al., 2014; PETROV et al., 2015). Quando o oxigênio molecular (O_2) sofre redução, a redução sucessiva em um elétron faz vários subprodutos que são as espécies reativas de oxigênio, incluindo o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^{\bullet}) (GILL & TUTEJA, 2010; BARBOSA et al., 2014; BHATT et al., 2015).

ERO são produzidas em condições normais de crescimento como subprodutos normais do metabolismo aeróbico e fotossintético, em concentrações compatíveis com a homeostase redox celular, sendo componentes de diversas vias de sinalização. No entanto, o excesso das ERO causa danos oxidativos em proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, caracterizando o estresse oxidativo, que aumenta, por exemplo, durante condições de estresse ambiental. As ERO são altamente reativas, assim, as células necessitam de mecanismos de proteção que possam minimizar a perturbação destes compostos, pois são capazes de causar danos ao DNA, peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e morte celular (GILL & TUTEJA, 2010, GUPTA & HUANG, 2014; BHATT et al., 2015).

Para evitar os danos oxidativos, a concentração das ERO é mantida em níveis não tóxicos por meio de mecanismo antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. (SHABAN, 2013; BHATT et al., 2015). O sistema antioxidante tem função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e/ou espécies reativas não radicais, sendo constituído por biomoléculas classificadas em enzimáticas e não enzimáticas. Dentre os biocompostos não enzimáticos destaca-se o ácido ascórbico, α -tocoferol, carotenoides, compostos fenólicos, dentre outros que são responsáveis pela desintoxicação dos ambientes celulares (GILL & TUTEJA, 2010; BARBOSA et al., 2010; COTINGUIBA et al., 2013; BHATT et al., 2015). As enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutathiona redutase (GR), glutathiona S-transferase (GST),

guaiacol peroxidase (GPX), Deidroascorbato-redutase (DHA) e a monodehidroascorbato redutase (MDHAR) são fundamentais no combate ao estresse oxidativo. E em conjunto, estas enzimas representam componentes importantes do sistema de proteção (GILL & TUTEJA, 2010; BHATT et al., 2015).

A superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), é a primeira enzima a ser ativada para promover a dismutação do superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e pode ser classificada de acordo com o metal que apresenta em sua estrutura (Cu/ Zn, Mn, Fe e Ni) (RESENDE et al., 2003). As SOD são um grupo de enzimas encontrado na matriz mitocondrial e no citoplasma, compõe a primeira linha de defesa contra ERO e estão entre as mais importantes do sistema de defesa antioxidante. O peróxido de hidrogênio, formado como subproduto da atividade da SOD, apesar de menos reativo, pode se difundir facilmente através das membranas celulares e em altas concentrações torna-se tóxico, pois pode reagir formando radicais hidroxila que causam peroxidação de lipídios (BARREIROS & DAVID, 2006; CORTE et al., 2010; TSANG et al., 2014).

A catalase (CAT, EC 1.11.1.6) está envolvida na remoção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) das células, e sua maior atividade pode esta associada á diminuição de mecanismos de prevenção de danos oxidativos (BAILLY, 2004; TAVEIRA et al., 2012; BORGES et al., 2015). É uma enzima encontrada nos gliossomos e peroxissomos, possui três isoformas e é responsável por decompor o peróxido de hidrogênio em água e gás oxigênio (RESENDE et al., 2003; BAILLY, 2004; MAIA et al., 2012; VENKATESWARLU et al., 2013).

O ciclo do ascorbato glutathiona, é um sistema de remoção de ERO, quatro enzimas fazem parte desse ciclo: ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11), dehidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1), monodehidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4) e a glutathiona redutase (GR, EC 1.6.4.2). O peróxido de hidrogênio produzido é removido pela APX através do ascorbato como redutor, formando o radical monodeidro ascorbato (MDA). E esse por sua vez irá dismutar para dehidroascorbato (DHA) e ascorbato (RESENDE et al., 2003; VENKATESWARLU et al., 2013).

As glutionas S-transferase (GST, EC 2.5.1.18) são um grupo de enzimas que apresentam como cofator a glutiona reduzida (GSH) e catalisam reações usando diferentes substratos xenobióticos com característica de aceptores eletrofílicos, utilizando a GSH para produzir conjugados menos tóxicos e mais solúveis em água. Considerada enzima detoxificante, desempenha papel fisiológico na iniciação da detoxificação de potenciais agentes alquilantes, incluindo vários pesticidas e compostos farmacologicamente ativos (VENKATESWARLU et al., 2013).

Os estudos das alterações da expressão de enzimas antioxidantes podem fornecer de forma direta, evidências sobre o estresse oxidativo, e indiretamente, podem fornecer dados importantes para o esclarecimento de rotas de sinalização e envelhecimentos de sementes. A compreensão da ação específica de cada enzima envolvida na resposta antioxidante, durante o armazenamento, pode ser utilizada para a busca de marcadores bioquímicos da qualidade de sementes. Portanto, os resultados enzimáticos aliados aos fisiológicos, poderão permitir uma visão geral do comportamento da semente durante o armazenamento. Fornecendo dados que serão de grande utilidade para o melhor acondicionamento de sementes, para a indústria e para o pequeno agricultor (BAILLY, 2004; SANO et al., 2015; FU et al., 2015).

Nesse contexto o objetivo desse trabalho foi Investigar o efeito de diferentes condições de armazenamento nas características bioquímicas de sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *Ricinus communis* L., avaliando a atividade das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, que respondem inicialmente a presença de espécies reativas de oxigênio.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Material biológico

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB) no Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, no período de março de 2014 a março de 2015. Foram usadas sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *R. communis* fornecidos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), safra de 2013.

2.1.1. Cultivar Nordestina e Paraguaçu

Os Cultivares Nordestina e Paraguaçu foram plantados no mês de fevereiro do ano de 2013 e colhidos em julho-agosto do mesmo ano. O plantio foi realizado no campo Experimental de Montes Claro (CEMC) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), com as seguintes características fisiográficas: altitude de 602 m, paralelo de 16° 66', latitude sul de meridiano de 43° 73', longitude oeste de Greenwich. A temperatura média foi de 23,55°C, e a pluviosidade média de 950 mm.

2.2. Armazenamento

As sementes dos cultivares Nordestinas e Paraguaçu de *R. communis* ao chegarem ao laboratório passaram inicialmente pelo processo de beneficiamento manual, visando retirar, possíveis indivíduos que estivessem com algum dano, que gerasse conflito no momento de utilização. Após a realização da caracterização inicial de cada lote (Capítulo I, Item 2.2), as sementes foram separadas em 4 sacos de aniagem com aproximadamente 5 Kg de cada cultivar, armazenados em 4 diferentes condições de temperatura e umidade. Para tanto, utilizou-se bombonas com e sem sílica gel mantidas em: (1) condição considerada com manutenção da Umidade Relativa (UR) e Temperatura (T) controladas (URTC), onde a bombona contendo os sacos de sementes e sílica gel foi colocada na câmara de germinação - BOD (Eletrolab – EL402/150), mantendo-se a umidade relativa de $13,60 \pm 4,43\%$ e temperatura de $16,29 \pm 2,36$ °C; (2) na condição de Umidade Relativa Controlada (URC)

colocou-se a bombona com sementes e sílica gel no ambiente de laboratório (umidade de $9,03 \pm 2,26\%$), onde a temperatura é $23,09 \pm 0,85^\circ\text{C}$; (3) a condição com Temperatura Controlada (TC) foi mantida ($17,32 \pm 3,09^\circ\text{C}$) as sementes foram colocadas na BOD (Eletrolab – EL402/150), com umidade relativa alta e sem controle ($69,09 \pm 9,31\%$); (4) a condição umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório (URTAL) foi obtida ($53,23 \pm 8,30\%$) mantendo-se as sementes no ambiente de laboratório, onde a temperatura é de $24,74 \pm 1,50^\circ\text{C}$. Durante os 12 meses de armazenamento (março de 2014 a março de 2015), a temperatura e a umidade de cada ambiente foram medidas diariamente utilizando-se o datalogger (Impac – IP747RH). A Tabela 5 apresenta as condições de armazenamento descritas.

Tabela 5. Condições de armazenamento de sementes dos cultivares Nordestina e Paraguaçu de *Ricinus communis* L. no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos – LBBB, durante o período de 12 meses (março de 2014 a março de 2015).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO	Umidade relativa e temperatura controlada	Umidade relativa controlada	Temperatura controlada	Umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório
Siglas	(URTC)	(URC)	(TC)	(URTAL)
Sacos de aniagem	X	X	X	X
Bombona + sílica gel	X	X	-	-
Temperatura ($^\circ\text{C}$)	$16,29 \pm 2,36$	$23,09 \pm 0,85$	$17,32 \pm 3,09$	$24,74 \pm 1,50$
Umidade relativa (%)	$13,60 \pm 4,43$	$9,03 \pm 2,26$	$69,09 \pm 9,31$	$53,26 \pm 8,30$

2.3. Extração e quantificação de proteínas totais

Para a execução das análises enzimáticas foram utilizadas amostras coletadas a cada três meses, durante um ano de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 12 meses). Foram utilizadas 60 sementes, inteiras e sem o tegumento, coletadas de cada uma das condições de armazenamento testada e de cada cultivar (Tabela 1), mantidas em sacos de papel alumínio devidamente identificados e guardados

no freezer (Sanyo) – 80°C até o momento de uso. O desenho experimental foi inteiramente casualizado utilizando-se 4 repetições de 15 sementes cada.

As sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu, coletadas a cada 3 meses, foram maceradas em nitrogênio líquido, após a retirada do tegumento, até a obtenção de pó fino, que foi colocado em tubo falcon e armazenado em freezer (Sanyo) – 80°C. Pesou-se 0,5 g do macerado de cada amostra, que foi transferido para tubo falcon individuais e ressuspenso em 10 mL de tampão fosfato, 100 mM pH 7,4 (SAMBROOK et al., 1989). Os tubos falcons com as amostras foram colocados em recipientes com gelo na mesa agitadora (Labnet International, Inc. – ORBIT™ 300) durante 1 hora e sob agitação constante. Em seguida centrifugou-se a 210 g, a 4°C durante 30 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante (extrato proteico), sem lipídeos, foi alíquotado (1 mL em tubo eppendorf), identificados e armazenado em caixas no freezer (Sanyo) – 80°C.

A quantificação das proteínas totais foi realizada segundo o método proposto por Bradford (1976), usando o padrão de albumina sérica bovina - BSA (Molecular Probes) para a construção da curva analítica. Utilizou-se como reagente de cor, solução Bradford Protein Assay (Bio-Rad). As leituras das absorbâncias foram realizadas no comprimento de onda de 595 nm, utilizando espectrofotômetro (GE Healthcare - Ultrospec™ 7000). Para determinação da concentração de proteínas totais utilizou-se a solução estoque BSA (1440 µg/mL), o estoque padrão de albumina sérica foi diluído para uma concentração de 12,5 µg.mL⁻¹. A partir dessa diluição foi construída uma curva analítica, na qual o intervalo variou de 0,5 a 10 µg.mL⁻¹. Para a análise das amostras foi utilizada uma alíquota de 1 µL do extrato bruto diluído em 799 µL de água ultrapura totalizando 800 µL, ao qual foi acrescentado 200 µL do reagente de Bradford Protein Assay (Bio-Rad). A análise foi realizada em triplicata, a absorbância das soluções determinada em espectrofotômetro (GE Healthcare - Ultrospec™ 7000), no comprimento de onda de 595 nm. A concentração das proteínas nas amostras foi calculada usando-se a equação obtida no cálculo de regressão linear da curva analítica com BSA padrão.

2.4. Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada espectrofotometricamente utilizando metodologia adaptada tendo como base o descrito em Omar et al. (2012), Beauchamp & Fridovich (1971), Onahue et al. (1997), Silva et al. (2012), Carneiro (2011) e Gianopolitis & Ries (1977). Baseado na detecção espectrofotométrica do formazan a 560 nm (produto de redução do azul de nitro-tetrazólio – NBT), mediado pelos radicais superóxidos, que são formados quando a riboflavina é submetida à luz, esta sofre fotólise, providencia um elétron para o oxigênio do ambiente (O_2), resultando no íon superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Este íon atua reduzindo o NBT a formazan (produto de coloração roxa). Na presença de SOD, a reação é inibida e foi utilizada esta inibição para determinar atividade enzimática da SOD (ALFENAS, 2006).

Inicialmente determinou-se o tempo de reação para fotorredução do NBT e posteriormente foi realizada a inibição da formação do formazan a partir do NBT utilizando o extrato proteico em estudo, para determinar o volume de extrato a ser utilizado, segundo a metodologia de GIANOPOLITIS & RIES (1977). Foram utilizados diferentes volumes de amostra para determinar qual o volume necessário para inibir em 50% a reação de redução do NBT, quando mantidos durante 3 minutos a exposição à luz (480 w).

A análise foi realizada a 25 °C e o meio de reação foi composto por tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1 μ M, NBT 75 μ M e riboflavina 2 μ M. Para a determinação da atividade da SOD utilizou-se 30 μ L de amostra (extrato proteico) e acrescentou-se o meio de reação, totalizando 1 mL. Para o preparo do controle utilizou-se apenas o meio de reação. Os tubos teste e o controle foram mantidos por 3 minutos sob iluminação (480 w) em câmara de germinação BOD Panasonic – humidity. O branco foi feito da mesma forma, no entanto ficou sob o abrigo da luz. As leituras das absorbâncias foram realizadas a 560 nm em (GE Healthcare - Ultrospec™ 7000). Todas as análises foram realizadas em triplicata A atividade enzimática foi considerada como a quantidade de enzima (SOD) necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT e foi calculada pela reação de atividade específica descrita abaixo:

SOD (Unidade /mL) = [(V/v) - 1] x F / [PT] onde:

V corresponde à taxa de reação na ausência da SOD (Absorbância do tubo controle);

v corresponde à taxa de reação na presença da enzima (absorbância do tubo amostra);

F é o fator de diluição (33,33);

PT corresponde à concentração de proteínas totais do extrato bruto.

Uma unidade (U) da SOD corresponde ($\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$) e o resultado é expresso em Unidade SOD. μg^{-1} de Proteína.

2.5. Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A atividade da CAT foi determinada pelo método descrito por BERGMEYER (1970), no qual a decomposição enzimática do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é medida pelo decaimento da absorbância a 240 nm.

A mistura de reação foi composta de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,4) contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1 mM, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 3% e extrato proteico bruto contendo a enzima 70 μL . A reação foi iniciada com a adição do H_2O_2 , e foi avaliada como o decréscimo da absorbância a 240nm medida em espectrofotômetro (GE Healthcare - Ultrospec™ 7000), pelo período de 3 minutos em intervalo de 10 segundos. E o branco foi preparado utilizando a mistura da reação com ausência de peróxido de hidrogênio a 3% e da amostra. Uma unidade de catalase corresponde a $1\mu\text{M}$ de H_2O_2 consumido $\text{min}^{-1}\cdot\mu\text{g}^{-1}$ proteína.

Foi utilizado o seguinte calculo:

Como 1U CAT = 1,0 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}$, então:

$$[\text{H}_2\text{O}_2] \text{ mM} = \frac{\Delta \text{A}_{240} \times 0,001 \text{ L} \times 1000}{0,0436 \text{ (Vcubeta)} \text{ (umol)} \times \text{T (min)}} = \text{U CAT}$$

Onde, o ΔA_{240} é a diferença entre o valor de absorbância no tempo zero e o valor em que o decaimento deixou de ser linear.

T é o tempo de reação em minutos (3 min);

0,0436 é o Coeficiente de Extinção Molar do H₂O₂;

0,001 é o volume (L) da cubeta;

U CAT é a unidade de catalase.

Para se obter o valor de unidades de catalase por microgramas de proteínas, utilizou-se a fórmula a seguir:

$$\mathbf{U\ CAT/\mu g\ de\ proteínas = U\ CAT / ([PT] \times 70)}$$

PT corresponde à concentração de proteínas totais do extrato bruto;

70 corresponde ao volume (μL) de extrato bruto usado.

2.6. Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11)

A atividade da ascorbato peroxidase, foi realizada pelo monitoramento da oxidação do ascorbato (ASA) que ocorre com diminuição da absorbância a 290 nm, segundo Nakano & Asada (1981), com modificações. O meio de reação foi composto de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0); ácido ascórbico 0,5 mM; ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1 mM; H₂O₂ 1mM e 50 μL de extrato proteico, para um volume total de reação de 1 mL. A reação foi realizada a 25°C com leitura da absorbância a 290 nm em espectrofotômetro (GE Healthcare - Ultrospec™ 7000), durante 7 minutos com intervalos de leitura de 10 segundos. A reação foi iniciada com adição de 50 μL de extrato enzimático (amostra), tendo como branco o meio de reação livre de H₂O₂ e de amostra. A taxa de oxidação do ascorbato foi determinada pelo decréscimo na absorbância a 290 nm (2,8 mM.cm⁻¹). A atividade da APX foi expressa como mmol ASA consumido min⁻¹ μg⁻¹ proteínas, ou seja, APX (mmol ASA min⁻¹ μg⁻¹ Prot).

Foi usada a fórmula a seguir:

$$\mathbf{(A \times F) / (2,8 \times T) = mmol\ ASA\ min^{-1}}$$

$$\mathbf{Resultado\ (mmol\ ASA\ min^{-1}) / [PT] = mmol\ ASA\ min^{-1}\ \mu g^{-1}\ Prot.}$$

A corresponde à absorbância da amostra;

F é o fator de diluição (20);

2,8 é o Coeficiente de Extinção Molar do ascorbato (ASA);

T é o tempo de reação em minutos (7 min);

PT corresponde à concentração de proteínas totais do extrato bruto;

2.7. Análises dos dados

Para avaliação dos dados foi utilizado o delineamento experimental em parcela subdividida no tempo e os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Tukey com probabilidade de 5%. Utilizou-se para este processamento de dados do programa SISVAR versão 5.0 (FERREIRA, 2000).

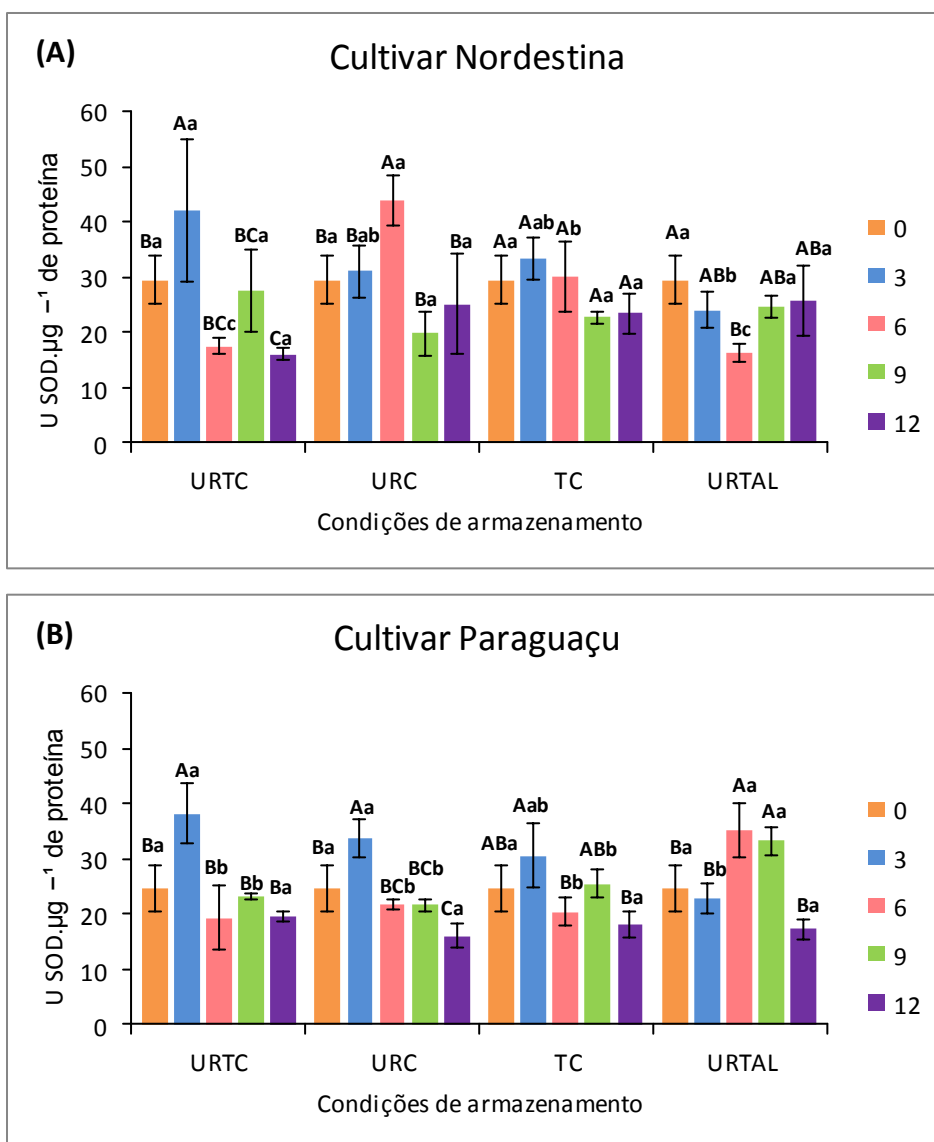
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

No presente estudo ao se avaliar como as sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu ao longo dos 12 meses, submetidas a diferentes condições de temperatura e umidade relativa de armazenamento, verificou-se diferenças quanto o cultivar avaliado, ao tempo e a condição de armazenamento testado (Figura 29).

Houve diferença significativa entre os valores de atividade da SOD para os cultivares Nordeste e Paraguaçu nas diferentes condições de armazenamento. A partir do tempo inicial foram verificadas diferenças significativas nos valores de atividade enzimática nas sementes de Nordeste para o mês três, sendo considerados como meses de adaptação da semente ao ambiente de armazenamento. As sementes do cultivar Paraguaçu tiveram um comportamento muito semelhante quanto à atividade da SOD para todas as condições de armazenamento quando se analisa os meses nove e doze, excetuando a condição sem controle de temperatura e umidade relativa (URTAL), onde o no nono mês ocorreu um aumento significativo no valor da atividade da SOD.

Figura 29. Atividade da superóxido dismutase (SOD) em sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para as sementes do cultivar Nordeste a condição URTC seguiu o mesmo padrão de atividade da SOD das sementes do cultivar Paraguaçu nos meses nove e doze. A atividade da SOD nas sementes de Nordeste mantidas na condição URC também reduziu no mês nove, seguido por um aumento no décimo segundo mês, enquanto que as que nas sementes que foram mantidas nas condições de TC e URTAL a atividade da SOD no mês nove e doze tiveram o mesmo padrão se mantiveram constante sem diferença significativa entre os dados. E ao se comparar o valor da SOD no tempo inicial do armazenamento (mês zero) e o mês doze de todas as condições, verifica-se que há uma redução na atividade da SOD para as sementes mantidas em todas as condições e para ambos os cultivares (Nordeste e Paraguaçu), entretanto, sem haver diferenças significativas entre os valores, excetuando para sementes do cultivar nordeste mantidas em umidade relativa e temperatura controlada e para o cultivar Paraguaçu em umidade relativa controlada, que diferiram significativamente.

O aumento significativo nos valores da SOD, verificados nas sementes de ambos os cultivares nos meses três e/ou seis de armazenamento pode ter ocorrido em virtude da adaptação das sementes ao ambiente de armazenamento, corroborando com os resultados de germinação final máxima (GFM) e tempo médio de germinação (TMG), verificados nos meses três e seis nas sementes do cultivar Nordeste que tiveram uma GFM alta (90%-100%). Já as sementes do cultivar Paraguaçu tiveram sua melhor GFM com três meses de armazenamento (em torno de 80%). O TMG das sementes de Nordeste para estes meses foi em torno de 34-37 horas, e para o cultivar Paraguaçu (51-63 horas) tendo um menor tempo de germinação ao terceiro mês (Capítulo 1).

Em condições normais, a formação e a remoção de espécies reativas de oxigênio (ERO), ocorrem de forma balanceada. Entretanto em condições de estresse pode haver aumento na formação das ERO, sua eliminação deve ocorrer de forma constante para evitar o estresse oxidativo. Desta forma, a ação sincronizada das enzimas responsáveis pela remoção das ERO confere maior tolerância às plantas mantidas em condições de estresse. No entanto, quando a quantidade de ERO formadas é intensificada, pode ocorrer

supressão dos sistemas de defesas (TIMÓTEO, 2010; GILL E TUJETA, 2010; DEUNER et al., 2011).

Com o aumento do estresse, a formação de ERO é intensificada e a expressão da superóxido dismutase (SOD) é alterada, primeira enzima a atuar no sistema antioxidante, realizando a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2). As SOD são capazes de detectar diferenças sutis no metabolismo tanto no citoplasma celular como na matriz mitocondrial, por isso a formação de radicais livres, ativa a superóxido dismutase, como mecanismo protetor e removedor do superóxido (CORTE et al., 2010; NAKADA et al., 2010; DEUNER et al., 2011).

No entanto, quando se avalia o tempo zero e o último mês de armazenamento (mês 12) Há uma redução na atividade da SOD para todas as condições. Esta redução pode ser em função do envelhecimento das sementes que ocorre ao longo do armazenamento. Este resultado corrobora com resultados encontrados por Goel et al. (2003), com sementes de algodão, em que houve redução na atividade da SOD quando há deterioração das sementes durante o envelhecimento acelerado. E Bailly et al. (1996) descobriu que a perda de viabilidade das sementes de girassol está associada com a diminuição da atividade da enzima superóxido dismutase, devido ao fato de que o envelhecimento de semente estimula a peroxidação dos lipídios e a redução da atividade de enzimas antioxidantes, tais como a superóxido dismutase e peroxidase também comprovado por Abreu et al., 2013.

O envelhecimento das sementes e as condições de armazenamento podem ter induzido o aumento da produção de ERO e supressão da atividade enzimática. Este fato explica a maior atividade da SOD no início do armazenamento, e a sua redução nos períodos subsequentes está relacionado ao nível de envelhecimento e perda de vigor das sementes, evidenciado pelo teste de germinabilidade. Além disso, a redução da atividade da SOD ao longo do armazenamento demonstra que houve redução da capacidade de prevenção de danos oxidativos corroborando com o descrito por Santos et al., 2005 e Heberle, 2012.

Segundo McDonald (1999), algumas das alterações ocorridas estão relacionadas com o envelhecimento e deterioração das sementes, a produção de ERO, promovem modificações na estrutura das enzimas e na degradação do sistema de síntese de novas enzimas (FU et al., 2015). Os danos oxidativos comumente acumulados em sementes secas, também envolvem a peroxidação lipídica, mudanças na composição de ácidos graxos, perdas de fosfolipídios, alteração da membrana, são citadas como uma das principais causas de deterioração de sementes (BRACINNI et al., 2001; HEBERLE, 2012). Os resultados obtidos neste estudo indicam que com o armazenamento pode haver envelhecimento das sementes com alteração de enzimas antioxidantes como SOD. Blackman & Leopold (1993) desenvolveram um modelo de envelhecimento de sementes de cebola e descreveram que o envelhecimento coincide com a desnaturação de proteínas e degradação, inativação de enzimas, quebra de fosfolipídios e lipídios de depósito, peroxidação lipídica e alteração da permeabilidade da membrana.

Ressalta-se que será importante avaliar se está ocorrendo peroxidação lipídica e associar os resultados obtidos até o momento, considerando que de acordo com Bailly et al. (1996), uma diminuição de enzimas antioxidantes está associada a um aumento da peroxidação lipídica e envelhecimento acelerado.

Durante o armazenamento, os radicais livres podem ser formados na presença de até mesmo de vestígios de oxigênio. Inicialmente, os ácidos graxos insaturados se decompõem para formar hidroperóxidos de ácidos graxos, seguida pela quebra hemolítica em radicais alcóxido (Hopin et al., 1996). Na ausência de enzimas ativas há diminuição da eliminação de radicais livres, que se acumulam nas sementes com o envelhecimento, resultando em perda total da viabilidade das sementes, como demonstrado por Rao et al., (2006).

A superóxido dismutase é uma enzima efetiva na neutralização do superóxido, a peróxido de hidrogênio, formado como subproduto da atividade da SOD, apesar de menos reativo, em alta quantidade pode reagir formando radicais hidroxila que causam peroxidação de lipídios (MATTOS et al, 2003; CORTE, 2010). Assim a atividade da SOD isoladamente é pouco funcional na proteção

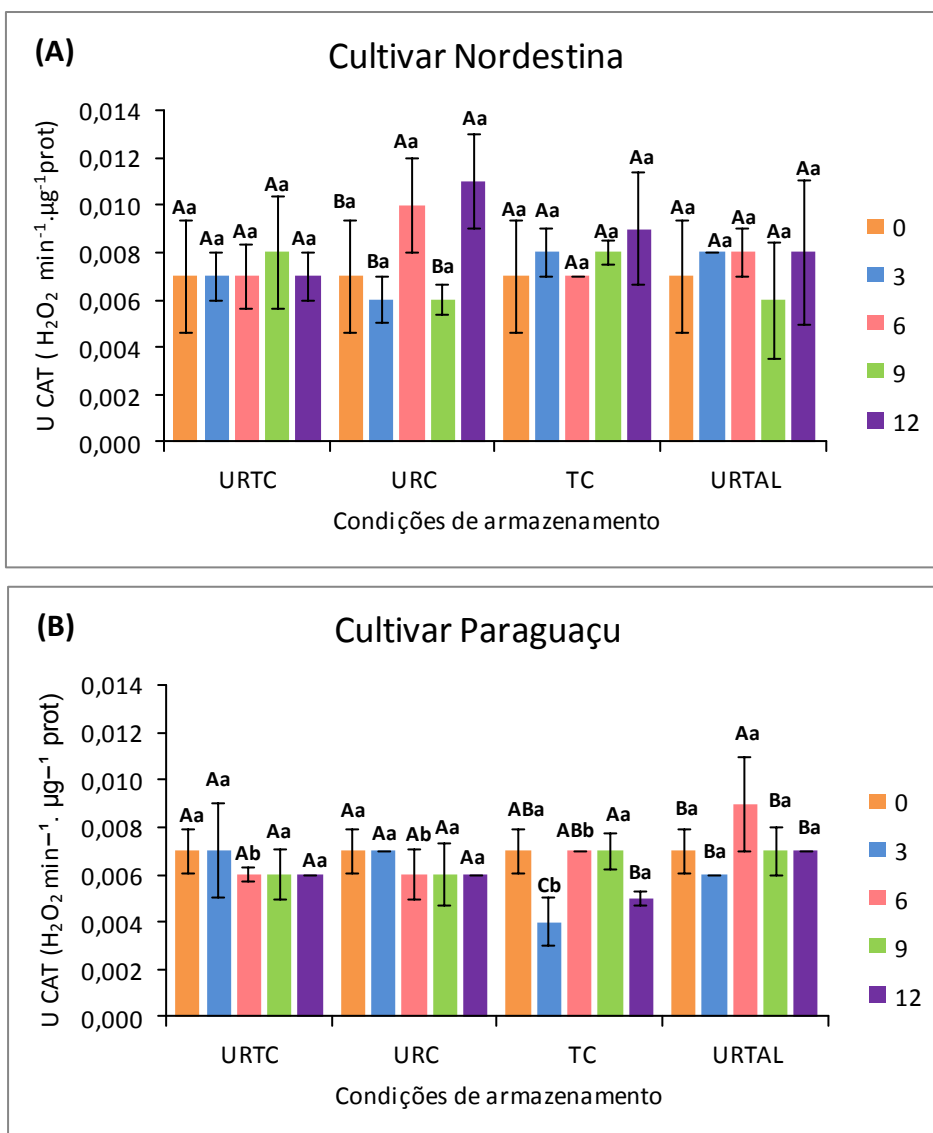
de sementes, sendo necessária a formação de sistemas removedores de radicais livres como a catalase e peroxidase (TIMÓTEO, 2010).

3.2. Atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A catalase apresentou atividade muito semelhante nas sementes mantidas na mesma condição, ao longo dos doze meses de armazenamento (Figura 30), excetuando para as sementes de Nordeste na mês seis e na condição URC que teve diferença significativa em relação aos outros meses de armazenamento. Entretanto, a atividade da CAT das sementes Paraguaçu mantidas na condição TC e URTAL apresentou diferenças significativas entre os meses de armazenamento, principalmente nos meses três e seis em relação. As alterações de atividade verificadas nas sementes no mês três e seis podem ser justificadas pelo período de adaptação das sementes ao armazenamento realizado. Quando se compara o tempo inicial com o mês doze e a atividade da CAT nas sementes do cultivar Nordeste, houve um aumento significativo da atividade para as sementes mantidas nas condições URC, entretanto, nas sementes armazenadas nas condições TC e URTAL o aumento não foi significativo, durante os 12 meses de armazenamento. A atividade da CAT nas sementes do cultivar Paraguaçu mantiveram valores iguais ou muito próximos ao do controle (tempo zero), com exceção das sementes mantidas na condição TC e URTAL, pois apresentaram diferença significativa quanto à atividade desta enzima. Houve redução da atividade da CAT nas sementes de Paraguaçu mantidas em todas as condições de armazenamento, ao longo dos doze meses, porém esta variação não foi significativa (Figura 30 B).

Borges et al. (2015) verificaram em estudo de armazenamento de sementes de *Melanoxylon brauma* que a atividade da catalase nas sementes tiveram aumento da atividade nos dois primeiros meses, seguidos de decréscimos na atividade ao longo do armazenamento, verificando maior atividade da enzima quando ocorreu processo deteriorativo.

Figura 30. Atividade da catalase (CAT) em sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

Oliveira (2013) avaliou alterações fisiológicas e enzimáticas de *Jatropha curca*, e descreveu que a atividade da CAT nas sementes reduz ao longo do armazenamento, e concluiu que a redução na atividade de enzimas é um indicativo de envelhecimento provocado pelo aumento do tempo de armazenamento. No entanto, Marques (2012), em seu estudo de sementes de cultivares de arroz durante o armazenamento, verificou que a atividade da CAT aumenta em paralelo com aumento do tempo de armazenamento. A CAT apresenta baixa afinidade pelo H_2O_2 , porém o aumento dessa enzima durante o armazenamento demonstra que há maior produção de H_2O_2 nas células, o aumento da expressão da CAT tem sido relacionado a produção de H_2O_2 durante o estresse oxidativo.

A redução da atividade da CAT pode tornar as sementes mais sensíveis aos efeitos das espécies reativas de oxigênio e aumentar o efeito do peróxido de hidrogênio nas células, tornando as sementes mais sujeitas a perda de viabilidade. Isso pode ser confirmado pela redução de germinação das sementes do cultivar Paraguaçu, principalmente nos períodos finais do armazenamento. Através deste resultado pode-se inferir que lotes com maior vigor possivelmente apresentariam menor produção ERO e a diminuição da CAT, resulta na diminuição da prevenção das espécies reativas de oxigênio. A exemplo do que ocorreu com o cultivar Paraguaçu, Bailly et al. (1996) descreveram que o decréscimo na atividade da enzima catalase está associada a perda de viabilidade de semente de girassol. Goel et al. (2003) demonstraram resultado semelhante em sementes de algodão e Sung & Chiu (1995) em sementes de soja.

Ao avaliar os valores de atividade da SOD e da CAT principalmente nas sementes de Paraguaçu, percebe-se que há similaridade nos comportamentos das duas enzimas, permitindo afirmar que as sementes de Paraguaçu estão envelhecendo ao longo do armazenamento e perdendo a sua qualidade ao se comparar os dados fisiológicos com os enzimáticos. O aumento da atividade da CAT nas sementes do cultivar Nordestina, mantidas nas condições URC, TC e URTAL, pode ser explicado pela função da enzima de catalisar a transformação do H_2O_2 produzido nas sementes durante o armazenamento. A produção de H_2O_2 pode ter ocorrido nas sementes mantidas em todas as

condições, pois quando a quantidade de ERO é superior aos valores normais, estas podem causar deterioração nas sementes, por promoverem alterações degenerativas como a desestabilização nas atividades de enzimas e a desestruturação e perda de integridade do sistema de membranas celulares, causada, principalmente, pela peroxidação de lipídios (CORTE et al., 2010). Além da redução da produção de ATP, diminuição na síntese de proteínas e ácidos nucleicos além de degeneração cromossômica (Oliveira et al., 2013).

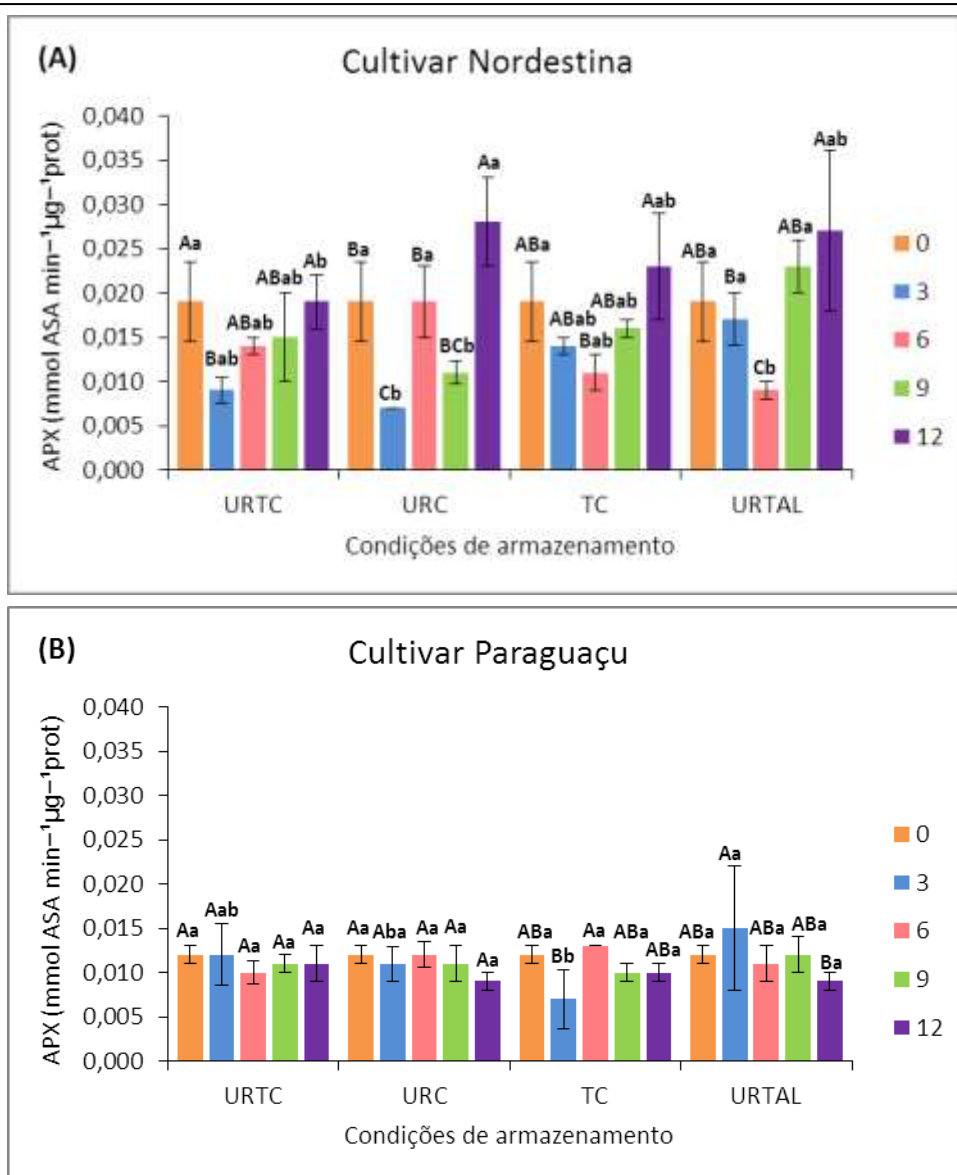
3.3. Atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11)

As APX são encontradas nos peroxissomos, citossol e cloroplasto (KARYOTOU & DONALDSON, 2005). A APX faz parte das enzimas que compõe o ciclo da glutathiona-ascorbato, que estão presentes nos cloroplastos, mitocôndria, peroxissomos e apoplastos e aumentam a sua atividade em resposta ao estresse oxidativo (FLORES et al., 2014).

Ao se analisar os resultados da atividade APX nas sementes do cultivar Nordeste (Figura 31 A), é possível notar uma variação significativa ao longo do armazenamento para todas as condições testadas. E ao se avaliar o tempo inicial e o mês doze, há um aumento na atividade da APX nas sementes mantidas na condição URC, TC URTAL. Quanto ao cultivar Paraguaçu, há alterações significativas apenas para as condições TC (mês três e seis) e URTAL (mês três e doze). No entanto ao se comparar o mês inicial e o mês doze de todas as condições de armazenamento do cultivar Paraguaçu, verifica-se que há uma tendência de redução da atividade de Paraguaçu, no entanto não é significativa.

A redução da atividade da APX pode indicar que as sementes estavam mais sensíveis aos efeitos dos radicais livres e aumento da ação do peróxido de hidrogênio, tornando as sementes mais sujeitas à perda de viabilidade, como descrito por Borba et al. (2014). Isso pode ser confirmado pela redução da germinação nos períodos finais do armazenamento. Estudos semelhantes relataram o aumento da atividade de APX em diferentes condições de estresse sobre sementes de girassol (CARNEIRO et al., 2011) e em sementes de feijão (DEUNER et al., 2011).

Figura 31. Atividade da ascorbato peroxidase (APX) em sementes de dois cultivares de *Ricinus communis* L. armazenadas em diferentes condições (umidade relativa e temperatura controla - URTC; umidade relativa controlada - URC; temperatura controlada - TC e umidade relativa e temperatura não controlada – URTNC), no período de março de 2014 a março de 2015 no LBBB/ICS/UFBA. (A) Nordestina e (B) Paraguaçu.



Letras maiúsculas iguais (em cada condição de armazenamento) não representam diferença significativa entre os tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 meses); letras minúsculas iguais entre os tempos de armazenamento não representam diferença significativa entre as condições de armazenamento, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

No entanto, em estudo de envelhecimento de arroz ocorreu uma redução na atividade da APX, resultando na perda de viabilidade das sementes (YIN et al., 2014; MARQUES et al., 2014). A CAT e a APX podem atuar de forma simultânea, o que pode resultar na baixa atividade para ambos, mas realizando uma desintoxicação eficiente. No entanto a CAT e a APX apresentam afinidades distintas para o peróxido de hidrogênio (MARQUES et al., 2014).

A manutenção da qualidade fisiológica é influenciada também por alterações bioquímicas que afetam o funcionamento e a integridade das enzimas envolvidas em vários processos, dentre elas as antioxidantes avaliadas neste estudo. Como as ERO são inevitavelmente produzidas por todos os organismos aeróbicos em função dos processos metabólicos normais da célula, a capacidade da manutenção da atividade de SOD, APX e CAT, sob condições de estresses ambientais, neste caso, as diferentes condições de temperatura e umidade relativa às quais as sementes estavam submetidas, é essencial para a manutenção do equilíbrio entre a formação e remoção de ERO que ocorreu durante o armazenamento e envelhecimento das sementes verificadas através dos dados fisiológicos (Capítulo 1) e as alterações enzimáticas verificadas. Portanto, no presente estudo, constatou-se o que foi descrito por (Soares 2006), que descreve em seu estudo com sementes de mamona a redução na atividade da SOD e variações nas atividades da CAT e APX, seguido de estabilização na atividade das mesmas.

O estresse causado pelo armazenamento, em especial nas condições sem controle de temperatura e/ou umidade pode ter induzido o aumento da produção de ERO. A redução na atividade das enzimas analisadas deve estar relacionada a níveis de perda da qualidade das sementes, e as diminuições das atividades das enzimas SOD, CAT e APX podem resultar na redução da prevenção das espécies reativas de oxigênio que são produzidas durante o armazenamento (BORBA et al., 2014).

A prevenção do estresse oxidativo está relacionado a um sistema antioxidante eficiente, e enzimas antioxidantes são consideradas como marcadores bioquímicos eficazes (PEREIRA, 2011). Alterações bioquímicas associadas com o envelhecimento da semente incluem insuficiência na síntese de

proteínas, inativação de proteína, alterações na atividade enzimática, e nas modificações pós-traducionais. Podem servir de sinais para o desenvolvimento de biomarcadores. No entanto, poucos estudos têm sido realizados para avaliar e comparar a eficiência de biomarcadores para avaliar o envelhecimento de sementes (BORBA et al., 2014; FU et al., 2015; SANO et al., 2015).

4. CONCLUSÃO

As enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, estão expressas em sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis* e podem ser utilizadas para avaliação do efeito da variação da temperatura e umidade relativa durante o armazenamento das sementes. Dentre as enzimas avaliadas, a superóxido dismutase pode ser considerada como potencial para a sua utilização como marcador bioquímico durante o armazenamento e envelhecimento de sementes de *R. communis*. No entanto, é necessário aprofundar os estudos da atividade enzimática e aliar esses resultados a estudos de perfil enzimático e expressão gênica, pois através das respostas bioquímicas e moleculares será possível correlacionar o metabolismo das sementes com a germinabilidade e vigor em função do tempo e o ambiente de armazenamento.

5. REFERÊNCIAS

- ABDULRASHEED, A.; AROKE, U. O.; MUAZU, M. T. Characterization and utilization of castor bean seed oil extract for production of medicated soap. **American Journal of Engineering Research**, Stamford, v. 4, p. 67-72, 2015.
- ABREU, L. A. S.; CARVALHO, L. M. C.; PINTO, C. A. G.; KATAOKA, V. Y.; SILVA, T. T. A. Deterioration of sunflower seeds during storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, 2013.
- ALFENAS, A. C. Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismos. 2ª Ed. Viçosa: Ed.UFV, 2006.
- ALLAN, G.; WILLIAMS, A.; RABINOWICZ, P. D.; CHAN, A. P.; RAVEL, J.; KEIM, P. Woerlwide genotyping of castor bean germplasm (*Ricinus communis* L.) using AFLPs and SSRs. **Genetics Resources and Crop Evolution**, Switzerland, v. 55, n. 03, p. 365-378, 2008.
- ANDRADE, R. V.; BORBA, C. S. Fatores que afetam a qualidade das sementes. In: EMBRAPA, Centro Nacional de Milho e Sorgo. **Tecnologia para a produção de sementes de milho**. Sete Lagoas, EMBRAPA, p. 7-10, 1993.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 14, p. 93-107, 2004.
- BAILLY, C.; BENAMAR, A.; COBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in malondialdehyde contend and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 97, n. 1, p. 104-110, 1996.
- BARBOSA, K. B. R.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; OLIVEIRA DE PAULA, S.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.4, n. 23, p. 629-643, 2010.
- BARBOSA, M. R.; SILVAL, M. M. A.; WILLADINOLL; C.; ULISSES, C.; CAMARAL, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, 2014.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, Salvador, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BEAUCHAMP, C. O; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Biochemical Journal**, Londres, v. 44, p. 276-287, 1971.
- BERGMEYER, N. Methoden der enzymatischen analyse. **Akademie Verlag**, Berlin, 1970. v. 1, p. 636-647.

BEZERRA NETO, F. V.; LEALS, N. R.; GONÇALVES, L. S. A.; RÉGO FILHO, L. M.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Descritores quantitativos na estimativa da divergência genética entre genótipos de mamoneira utilizando análises multivariadas. **Revista Ciência Agronômica**, Santa Maria, v. 41, n. 2, p. 294-299, 2010.

BHATT, R.; ASOPA, P. P.; SIHAG, S.; SHARMA, R.; KACHHWAHA, S.; KOTHARI, S. L. Comparative three way analysis of biochemical responses in cereal and millet crops under salinity stress. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, Gulmohar, v. 3, n. 6, p. 22-28, 2015.

BISCARO, G. A.; VAZ, M. A. B.; GIACONS, G. M.; GOMES, E. P.; SILVA, S. B.; MOTOMIYA, A. V. A. Produtividade de duas cultivares de mamona submetidas a diferentes lâminas de irrigação suplementar. **Engenharia Agrícola Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 16, n.9, p. 925-930, 2012.

BORBA, I. C. G.; BANDEIRA, J. M.; MARINI, P.; MARTINS, A. B. N.; MORAES, D. M. Metabolismo antioxidativo para separação de lotes de sementes de diferentes graus de homogeneidade. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 12, n. 1, p. 20-26, 2014.

BORGES, E. E. L.; FLORES, A. V.; ATAÍDE, G. M.; MATOS, A. C. B. Alterações fisiológicas e atividade de enzimática em sementes armazenadas de *Melanoxylon braúna* Schott. **Cerne**, Lavras, v. 21, n. 1, p. 75-81, 2015.

BRACCINI, A. L.; BRACCINI, M. C. L.; SCAPIM, C. A. Mecanismo de deterioração das sementes: aspectos bioquímicos e fisiológicos. **Informatvo Abrates**, Pelotas, v.11, n. 1, p.10-15, 2001.

CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. **Acta Botânica Brasilica**, Belo Horizonte, v.17, n.4, p. 609-617, 2003.

CAMPOS, E. S. C.; SANTOS, V. M. L. Estudo do processo de extração de óleo de mamona em cooperativas do Polo São Francisco. **Engevista**, Niterói, v.17, n. 4, p. 477-490, 2015.

CARDOSO, R. B.; BINOTTI, F. F. S.; CARDOSO, E. D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função de embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 272-278, 2012.

CARNEIRO, M. M. L. C. **Trocas gasosas e Metabolismo Antioxidativo em plantas de girassol em resposta ao déficit hídrico**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas. 2011. 41f. Tese – Programa de pós-graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A.; MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.33, n.4, p.754-763, 2011.

CENTENO, C. R. M.; AZEVEDO, C. A. V.; SANTOS, D. B.; LIRA, V. M.; SANTOS, J. B. Tolerância da mamona BRS Energia a diferentes níveis de água salina. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 6, n.11, p.1-8, 2010.

COOLBEAR, P. Mechanismo of seed deterioration. In: BASRA, A. S. (Ed.). **Seed quality: basic mechanism and agricultural implications**. New York: Food Producers, 1995. p. 223-275.

CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; LEITE, H. G.; PERREIRA, B. L. C.; GONÇALVES, J. F. C. E. Estudo da deterioração de sementes de *Melanoxylon braúna* submetidas ao envelhecimento natural e acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 83-91, 2010.

COTINGUIBA, G. G.; SILVA, J. R. N.; AZEVEDO, R. R. S. A.; ROCHAB, T. J. M.; SANTOS, A. F. Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 15, n. 3, p.231-237, 2013.

DEUNER, C.; MAIA, M. S.; DEUNER, S.; ALMEIDA, A. S.; MENEGHELLO, G. E. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 711 - 720, 2011.

FERREIRA, D.F. Sistema de análises de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA, 2000. (SISVAR 4. 1. – pacote computacional).

FLORES, A. V.; BORGES, E. E. L.; GUIMARÃES, V. M.; GONÇALVES, J. F. C.; ATAÍDE, G. M.; BARROS, D. P. Atividade enzimática durante a germinação de sementes de *Melanoxylon brauna* Schott sob diferentes temperaturas. **Cerne**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 401-408, 2014.

FONSECA, A. C. L.; FREIRE, H. B. Sementes recalcitrantes: problemas na pós-colheita. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 297-303, 2003.

FREITAS, R. A.; DIAS, C. F. S.; DIAS, L. A. S.; OLIVEIRA, M. G. A. Testes fisiológicos e bioquímicas na estimativa do potencial de armazenamento de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n.1, p. 84-91, 2004.

FU, Y. B.; AHMED, Z.; DIEDERICHSEN, A. Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. **Conservation Physiology**, Oxford, v. 3, p. 1-16, 2015.

GIANNOPOLITIS, C. N. & RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, California, n.59, p.309-314, 1977.

GOEL, A.; GOEL, A. K.; SHEORAN, I. S. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. **Journal Plant Physiology**, California, v. 160, n. 9, p. 1093-1100, 2003.

GUPTA, B; HUANG, B. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. **Journal of Genomics**, Londres, p. 1-18, 2014.

HASANUZZAMAN, M. HOSSAIN, M. A. SILVA, J. A. T. S. FUJITA, M. Plant Response and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. In: VENKATESWARLU, B; SHANKER, A. K.; SHAKER, C.; MAHESWARI, M. **Crop stress and its management: perspectives and strategies**. New York: Springer; 2012. p. 261-301.

HEBERLE, E. **Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de milho armazenadas**. 2012, 66f. Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

HENNING, F. A.; MERTZ, L. M.; JUNIOR, A. J. J.; MARCHADO, R. D.; FISS, G.; ZIMMER, P. J. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 727-734, 2010.

HUSSAIN, S.; ZHENG, M.; KHAN, F.; KHALIQ, A.; FAHAD, S.; PENG, SHAOBING; HUANG, J.; CUI, K.; NIE, L. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, Londres, v. 5, p. 1-12, 2015.

JOSÉ, S. C. B.; SALOMÃO, A. N.; COSTA, T. S. A.; SILVA, J. T. T.; CURI, C. S. Armazenamento de sementes de girassol em temperaturas subzero: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 29 - 38, 2010.

JUVINO, A. N. K.; RESENDE, O.; COSTA, L. M.; SALES, J. F. Vigor da cultivar BMX Potência RR de soja durante o beneficiamento e períodos de armazenamento, **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina grande, v. 18, n. 8, p. 844–850, 2014.

LIMA, D. C.; DUTRA, S.; PONTES, F. M.; BEZERRA, F. T. C. Storage of sunflower seeds, **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p. 361-369, 2014.

MAIA, J. M.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VOIGT, E. L.; MACEDO, C. E. C.; PONTE, L. F. A.; SILVEIRA, J. A. G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botânica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 26, n. 2, p. 342-349, 2012.

MARQUES, E. R. **Qualidade fisiológica e sanitária, dormência e atividade enzimática de sementes de cultivares de arroz armazenadas em diferentes ambientes**. 2012, 62 f. Tese - Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

MARQUES, E. R.; ARAÚJO, R. F.; ARAÚJO, E. F.; MARTINS FILHO, S.; SOARES, P. C.; MENDONÇA, E. G. Dormancy and enzymatic activity of rice

cultivars seeds stored in different environments. **Journal of Seed Science**, Londrina, v.36, n.4, p.435-442, 2014.

MATTOS, I. L. ; SHIRAISHI, K. A.; BRAZ, A. D.; FERNANDES, J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 2, n.3, p. 373-380, 2003.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MOROZESK, M.; BONOMO, M. M.; DUARTE, I. D.; ZANI, L. B.; CORTE, V. B. Longevidade de sementes nativas da Floresta Atlântica. **Floresta Atlântica, Natureza on line**. Espírito Santo, v. 12, n. 4, p. 185-194.

NAKADA, P. G.; OLIVEIRA, J. A.; MELO, L. C.; SILVA, A. A.; SILVA, P. A.; PERINA, F. J. Desempenho durante o armazenamento de sementes de pepino submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 3, p 42-51, 2010.

NAKANO, Y. & ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant & Cell Physiology**, California, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NAZARENO, A. C.; AFFÉRI, F. S.; PELUZIO, J. M.; CANCELLIER, L. L.; LEÃO, F. F.; NAOE, L. K. Avaliação de cultivares de mamona em três ambientes no estado do Tocantins, Safra 2007/2008. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 2, p. 297-304, 2011.

NÓBREGA, M. B. M.; GERALDI, I. O.; CARVALHO, A. D. F. Avaliação de cultivares de mamona em cruzamentos dialélicos parciais. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.2, p.281-288, 2010.

OLIVEIRA, E. M. Avaliação do teor de óleo e peso em sementes de mamona utilizando diversos acessos. **Engenharia Agrícola Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 8, n. 1, p. 205-211, 2011.

OLIVEIRA, G. L. **Alteração fisiológica de enzimáticas em sementes de *Jatropha curcas* durante o armazenamento**. 2013, 59 f. Tese – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

OMAR, S. A.; ELSHEERY, N. I.; KALAJI, H. M.; XU, ZENG-FU; SONG-QUAN, S. CARPERNTIER, R. LEE, C. H.; ALLAKHVERDIEVS, S, I. Dehydroascorbate Reductase and Glutathione Reductase Play an Important Role in Scavenging Hydrogen Peroxide during Natural and Artificial Dehydration of *Jatropha curcas* Seeds. **Journal plant biology**, India, v.55, p. 469-480, 2012.

ONAHUE, J. L.; OKPODU, C.M.; CRAMER, C. L.; GRABAU, E. A.; ALSCHER, R. G. Responses of antioxidants to paraquat in pea leaves (Relationships to resistance). **Plant Physiology**, California, v.113, p. 249–257, 1997.

PAULA, J. E.; IMAÑA-ENCINAS, J.; PEREIRA, B. A. S. Parâmetros volumétricos e da biomassa da mata ripária do Córrego dos Macacos. **Revista Cerne**, Lavras, v. 2, n. 2, p. 21-28, 1998.

PEREIRA, E. P. L. **Marcadores bioquímicos da atividade antioxidante em sementes de *Amburana cearenses* (Fr. Allemão) A. C. Smith submetidas a estresse hídrico**. 2010, 90f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

PETROV, V.; HILLE, J.; MUELLER-ROEBER, B.; GECHEV, T. S. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. **Plant Science**, Chicago, v. 6, n. 69, 2015.

RESENDE, M. L. V., SALGADO, S. M. L. & CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 123-130, 2003.

RESENDE, M. L. V., SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 123-130, 2003.

ROBERTUS, J. D. The structure and action of ricin, a cytotoxic N-glycosidase. **Seminars in Cell Biology**, Texas, v. 2, n.1, p. 23-30, 1991.

SAMBROOK, J. & RUSSEL, D. - **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Second Edition- Cold Spring Harbor Laboratory Press. Book 1, 2, 3, 2001. Section 6: 6.39-6.44.

SANO, N.; RAJJAOU, L.; NORTH, H.; DEBEAUJON, MARION-POLL, A.; SEO, M. Staying Alive: Molecular aspects of seed longevity. **Plant Cell Physiol**, Oxford, v. 1, n.15, p. 1-15, 2015.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 1, p.104-114, 2005.

SANTOS, E. M.; LEITE, P. B.; DRUZIAN, J. I. Estudo prospectivo sobre a proteção patentária da utilização da mamona (*Ricinus communis* L.) com enfoque para produção de biocombustíveis. **Cadernos de prospecção**, Salvador, v. 7, n. 1, p. 88-96, 2014.

SANTOS, H., O. **Conservação de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.)**. 2010, 85f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SHABAN, M. Review on physiological aspects of seed deterioration. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, Londres, v. 6, n. 11, p. 627-631, 2013.

SILVA, I. B. **Coordenação entre as repostas da catalase e da ascorbato peroxidase em folhas de feijão Caupi submetidas a diferentes fontes de**

peróxido de hidrogênio. 2012, 89f. Dissertação – Programa de pós graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

SILVA, M. M.; SOUZA, H. R. T.; DAVID, A. M. S. S.; SANTOS, L. M.; SILVA, R. F.; AMARO, H. T. R.; Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de feijão-comum produzidas no norte de Minas Gerais. **Revista Agroambiente, Boa vista**, v. 8, n. 1, p. 97-103, 2014.

SMANIOTTO, A. S.; RESENDE, O.; MARÇAL, K. A. F.; OLIVEIRA, D. E. C.; SIMON, G. A. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.18, n.4, p.446–453, 2014.

SUNG, J. M.; CHIU, C. C. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. **Plant Science**, Clare, v. 110, n. 1, p. 45-52, 1995.

TAVEIRA, J. H. S.; ROSA, S. D. V. F.; BORÉM, F. M.; GIOMO, G. S.; SAATHA, R. Perfis proteicos e desempenho fisiológico de sementes de café submetidas a diferentes métodos de processamento e secagem. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 10, p.1511-1517, 2012.

TIMÓTEO, T. S. **Condições de armazenamento e conservação do potencial fisiológico de sementes de diferentes genótipos de milho.** 2010, 89f. Teses – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

TOLEDO, M. Z.; FONSECA, N. R.; CÉSAR, M. L.; SORATTO, R. P.; CAVARIANI, C.; CRUSSCIOL, C. A. C. Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de feijão em função da aplicação tardia de nitrogênio em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 2, p. 124-133, 2009.

TSANG, C. K.; LIU, Y.; THOMAS, J.; ZHANG, Y.; ZHENG, X. F. S. Superoxide dismutase 1 acts as a nuclear transcription factor to regulate oxidative stress resistance. **Nature communications**, Cambridge, v. 5, p. 1-11, 2014.

VIEIRA, R. D.; PENARIOL, A. L.; PERENCIN, D.; PANOBIANCO, M. Condutividade elétrica e teor inicial de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1333-1338, 2002.

YIN, G.; XIN, X.; SONG, C.; CHEN, X.; ZHANG, J.; WU, S.; LI, R.; LIU, X.; LU, X. Activity levels and expression of antioxidant enzymes in the ascorbate-glutathione cycle in artificially aged rice seed. **Plant Physiology and Biochemistry**, California, v.80, p.1-9, 2014.

CONCLUSÃO FINAL

- As sementes dos cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis* apresentam diferenças fisiológicas e bioquímicas;
- As sementes dos dois cultivares respondem de forma diferente ao armazenamento, sendo que ao serem mantidas em condições com a umidade relativa controlada (URTC e URC) há menor variação nas características fisiológicas, ao longo do armazenamento.
- As condições de armazenamento, durante 12 meses, sem controle de umidade (TC e URTAL) afetam mais as sementes promovendo a diminuição da qualidade fisiológica das sementes de ambos cultivares;
- O vigor das sementes de Nordeste e Paraguaçu é reduzido ao longo de doze meses de armazenamento, nas diferentes condições de temperatura e umidade, principalmente quando são mantidas nas condições TC e URTAL;
- A cultivar Nordeste apresenta melhor qualidade fisiológica em comparação a Paraguaçu, que é mantida ao longo dos 12 meses de armazenamento. Os parâmetros de germinação (Germinação final máxima – GFM, Tempo para alcançar a 50% de germinação – T50, Uniformidade da germinação – U8416, Área abaixo da curva – AAC; Plântulas normais, anormais deformadas e anormais deterioradas; Biometria das plântulas normais e Massa seca das plântulas normais) e teor de umidade são mantidos durante os doze meses de armazenamento em diferentes condições de temperatura e umidade relativa;
- As sementes dos dois cultivares apresentam variações quanto à atividade das enzimas SOD, CAT e APX ao longo de doze meses de armazenamento em diferentes condições de temperatura e umidade;
- A SOD pode ser utilizada como marcador bioquímico para avaliação de sementes de *R. communis* durante o armazenamento, já que sua atividade altera em sementes submetidas a diferentes condições de temperatura e umidade relativa nos 12 meses de armazenamento;

- A expressão de genes das enzimas SOD, CAT e APX, juntamente com a realização de perfis enzimáticos e avaliação de malondialdeído (MDA), vai permitir um maior esclarecimento e complementar os dados óbitos, possibilitando complementação das informações e melhor caracterização das sementes de *R. communis* iniciadas no presente estudo.



**Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde
Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela CEP: 40110-100
Salvador, Bahia, Brasil
Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**