



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

JAIR LUCAS OLIVEIRA JÚNIOR

**PERFIS BIOQUÍMICO E FISIOLÓGICO DA MATURAÇÃO,
LONGEVIDADE E GERMINABILIDADE DE SEMENTES DE
AROEIRA-VERMELHA (*Schinus terebinthifolia* Raddi.)**

Salvador
2021

JAIR LUCAS OLIVEIRA JÚNIOR

**PERFIS BIOQUÍMICO E FISIOLÓGICO DA MATURAÇÃO,
LONGEVIDADE E GERMINABILIDADE DE SEMENTES DE
AROEIRA-VERMELHA (*Schinus terebinthifolia* Raddi.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Renato Delmondez de Castro
Coorientadora: Profa. Marta Bruno Loureiro

Salvador
2021

O48 Oliveira Junior, Jair Lucas.

Perfis bioquímico e fisiológico da maturação, longevidade e germinabilidade de sementes de Aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolia* Raddi)/Jair Lucas Oliveira Junior. – Salvador, 2021.

130 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Renato Delmondez de Castro; Coorientadora: Profa. Dra. Marta Bruno Loureiro.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2021.

Inclui referências.

1. Anacardiaceae. 2. Sementes - qualidade. 3. Osmocondicionamento. 4. Sementes – armazenamento. 5. *Schinus terebinthifolia* Raddi.

6. Enzimas antioxidantes. I. Castro, Renato Delmondez de. II. Loureiro, Marta Bruno. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDU 581

JAIR LUCAS OLIVEIRA JÚNIOR

PERFIS BIOQUÍMICO E FISIOLÓGICO DA MATURAÇÃO,
LONGEVIDADE E GERMINABILIDADE DE SEMENTES
DE AROEIRA-VERMELHA (*Schinus terebinthifolia* Raddi)

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia pelo Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia.

Aprovada em 18 de junho de 2021.

BANCA EXAMINADORA:

Renato Delmondez de Castro – Orientador

Doutor em Fitotecnia / Fisiologia Molecular Vegetal pela Wageningen University And Research Center,
WUR, Holanda.

Universidade Federal da Bahia.



Documento assinado digitalmente
Renata Silva Mann
Data: 17/06/2021 10:17:05 -0300
CPF: 008412118-94
Verifique em https://verbocebo.gov.br

Renata Silva-Mann

Doutora em Agronomia (Fitotecnia) pela Universidade Federal de Lavras,
UFPA, Brasil

Universidade Federal de Sergipe.

Cimille Gabrielle Cardoso Antunes

Doutora em Botânica pela Universidade Estadual de Feira de Santana,
UEFS, Brasil.

Faculdade Regional da Bahia.

Cimille Gabrielle Cardoso Antunes

Dedico aos meus pais, Jair e Anair, pelos exemplos de pessoas que são e por compreenderem as minhas ausências ao longo desses anos.

Agradecimentos

A Deus por tudo.

Agradeço aos meus pais, Jair e Anair, por todo o esforço para que eu pudesse fazer um curso superior e chegar até aqui. Vocês são a minha motivação!

À Universidade Federal da Bahia pela oportunidade de ter acesso a uma pós-graduação pública, gratuita e de qualidade.

Ao professor Dr. Renato Delmodez de Castro pela orientação, confiança, apoio e amizade.

À professora Dra. Marta Bruno Loureiro pela coorientação, contribuições, sugestões, conselhos e amizade.

À professora Dra. Luzimar Gonzaga Fernandez, coordenadora do Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos, pela oportunidade e pelo esforço constante para manter os trabalhos de pesquisas no LBBB.

A todos os alunos e professores do Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos pelo apoio e amizade.

Agradeço à Brenda, Thamires, Cris Brito, Patrícia, Cecília, Newcastle, Marcos, Diego, Honório e Valdir pelo companheirismo, conhecimentos compartilhados e apoio na realização do trabalho.

Aos professores, servidores e colegas do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) da UFBA.

Aos colegas da Coordenação de Meio Ambiente da UFBA por me apoiarem durante a pós-graduação.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

*Cada um de nós compõe a sua história
Cada ser em si
Carrega o dom de ser capaz
E ser feliz (...)*

Almir Sater/Renato Teixeira

OLIVEIRA JÚNIOR, Jair Lucas. Perfis bioquímico e fisiológico da maturação, longevidade e germinabilidade de sementes de Aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolia* Raddi). 130 f.: il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2021.

RESUMO

A espécie *Schinus terebinthifolia* é estudada principalmente pelas suas propriedades medicinais e condimentares, além de sua importância na recuperação de áreas degradadas e recomposição da vegetação nativa. Por isso, devido a importância de se obter sementes de boa qualidade dessa espécie para diferentes finalidades, objetivou-se nesse estudo avaliar os perfis bioquímico e fisiológico da maturação, longevidade e germinabilidade de sementes sob condições de restrição hídrica. Para isso, foram realizados experimentos avaliando diferentes estádios de maturação e condições de secagem, diferentes condições de armazenamento, além de ensaios de restrição hídrica na germinação dessa espécie. Observou-se que as sementes obtidas de frutos no estádio Vermelho apresentaram melhor qualidade fisiológica e tolerância a secagem. Na avaliação da longevidade, as sementes armazenadas em ambiente refrigerado (5°C) foram capazes de manter a sua qualidade por 15 meses, diferente das armazenadas em temperatura ambiente (24°C), que reduziram a germinabilidade e o vigor. As mudanças nas atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) nessas condições de armazenamento indicaram que o sistema antioxidante enzimático está relacionado com a manutenção da viabilidade das sementes, porém, não foi capaz de evitar a perda da qualidade, o aumento da peroxidação lipídica (teor de malondialdeído - MDA), e da permeabilidade de membranas (teste de condutividade elétrica - CE), quando armazenadas em temperatura ambiente. Com isso, conclui-se que o estádio Vermelho pode ser considerado a fase de maturidade fisiológica para obtenção de sementes de boa qualidade, porém, a secagem ambiente reduz a germinabilidade de sementes. Além disso, conclui-se que as sementes de aroeira-vermelha podem ser armazenadas em ambiente refrigerado por até 15 meses mantendo a longevidade. Nos ensaios de restrição hídrica, conclui-se que a espécie é altamente sensível a esse estresse abiótico no processo de germinação e estabelecimento inicial de plântulas. As avaliações bioquímicas mostram que as atividades das enzimas SOD, CAT e APX conferem proteção contra o estresse oxidativo quando submetidas a embebição em baixos níveis de estresse (-0,2 MPa), porém, ocorre um provável desbalanço entre o acúmulo de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e o sistema antioxidante em potenciais mais baixos de restrição (-0,8 MPa), comprovados pela redução na atividade enzimática. Já em plântulas, os primeiros danos oxidativos ocorrem nas raízes, comprovados pela redução na biometria e na atividade da SOD, CAT e APX em -0,2 MPa. Além disso, quando utilizado embebição controlada para efeito de osmocondicionamento, os potenciais de -0,2 e -0,4 MPa são capazes de promover uma germinação mais rápida e uniforme, porém sem efeito de *priming*, pois não promove melhoria na porcentagem germinação e vigor das sementes de *S. terebinthifolia*. Essas informações são importantes para uso em programas de melhoramento genético e de protocolos para obtenção de sementes e mudas de boa qualidade, visando a exploração sustentável e domesticação da espécie.

Palavras-chaves: Anacardiaceae; Qualidade de sementes; Armazenamento; Osmocondicionamento; Enzimas antioxidantes.

OLIVEIRA JÚNIOR, Jair Lucas. Biochemical and physiological profiles of maturation, longevity and germination of Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) seeds. 130 f.: il. Dissertation (Masters in Biotechnology) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2021.

ABSTRACT

Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolia*) has been studied mainly for its condiment and medicinal properties, in addition to its importance in the recovery of degraded areas and the restoration of native vegetation. Therefore, due to the importance of obtaining good quality seeds of this species for different purposes, the objective of this study was to evaluate the biochemical and physiological profiles of seed maturation, longevity and germination under water-restricted conditions. For this, experiments were carried out evaluating different stages of maturation and drying conditions, different storage conditions, in addition to water restriction tests on the germination of this species. It was observed that seeds obtained from fruits in the Red stage had better physiological quality and drying tolerance. In assessing longevity, seeds stored in a refrigerated environment (5°C) were able to maintain seed quality for 15 months, unlike those stored at room temperature (24°C), which reduced germination and vigor. The changes in the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) enzymes under these storage conditions indicated that the antioxidant enzyme system is related to the maintenance of seed viability, however, it was not able to prevent loss of quality, increased lipid peroxidation (malondialdehyde content - MDA), and membrane permeability (electrical conductivity test - EC), when stored at room temperature. Thus, it can be concluded that the Red stage can be considered the physiological maturity stage for obtaining good quality seeds, however, ambient drying reduces the germination of Brazilian peppertree seeds. In addition, it is concluded that the seeds of Brazilian peppertree can be stored in a refrigerated environment for up to 15 months maintaining longevity, and the evaluations of SOD, CAT, APX activity, malondialdehyde accumulation and electrical conductivity can be used as biochemical markers for evaluation of quality throughout storage. In water restriction assays, it is concluded that the species is highly sensitive to this abiotic stress in the germination process and initial seedling establishment. Biochemical evaluations show that the activities of SOD, CAT and APX enzymes provide protection against oxidative stress when subjected to imbibition at low stress levels (-0.2 MPa), however, there is a probable unbalance between the accumulation of Reactive Oxygen Species (ROS) and the antioxidant system at lower restriction potentials (-0.8 MPa), proven by the reduction in enzymatic activity. In seedlings, the first oxidative damage occurs in the roots, evidenced by the reduction in biometry and in the activity of SOD, CAT and APX in -0.2 MPa. In addition, when controlled imbibition is used for osmoconditioning, the potentials of -0.2 and -0.4 MPa are capable of promoting faster and more uniform germination, but without priming effect, as the use of this pre-treatment does not promote improvement in germination and vigor of Brazilian peppertree seeds. The information obtained in this study are important and can be applied for genetic improvement programs and protocols for obtaining good quality seeds and seedlings, aiming at the sustainable exploitation and domestication of the species.

Keywords: Anacardiaceae; Seed quality; Storage; Osmoconditioning; Antioxidant Enzymes.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2. OBJETIVOS.....	20
2.1. Objetivo geral	20
2.2. Objetivos específicos:.....	20
3. REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1. A espécie (<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi.).....	21
3.2.1. Importância econômica	21
3.2.2. Características morfológicas e importância ecológica e ambiental	24
3.2. Qualidade fisiológica de sementes	27
3.3. Estresse hídrico durante a germinação e osmocondicionamento	29
3.4. Estresse oxidativo e espécies reativas de oxigênio (ERO)	33
3.5. Enzimas Antioxidantes: importância e função	36
3.5.1. Superóxido dismutase.....	38
3.5.2. Catalase	40
3.5.3. Ascorbato peroxidase:.....	41
Referências Bibliográficas:.....	43
4. CAPÍTULO I: ESTÁDIO DE MATURAÇÃO, SECAGEM E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE <i>Schinus terebinthifolia</i>	55
4.1. INTRODUÇÃO	55
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
4.4. CONCLUSÃO.....	87
Referências Bibliográficas	88
5. CAPÍTULO II: ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE AROEIRA-VERMELHA (<i>Schinus terebinthifolia</i> RADDI.) SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA	96
5.1. INTRODUÇÃO:	96
5.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	98
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	104
5.4. CONCLUSÃO.....	122
CONSIDERAÇÕES FINAIS	123
Referências Bibliográficas:.....	124

LISTA DE TABELAS

Nº	Legenda	Pag.
Tabela 1 -	Códigos enzimáticos, localização subcelular e reações catalisadas pelas enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase.	38
Tabela 2 -	Massa seca e grau de umidade e de frutos e sementes frescas e após secagem de <i>Schinus terebentifolia</i> em cinco diferentes estádios de maturação.	67
Tabela 3 -	Média das variáveis morfométricas de frutos (comprimento e largura) e sementes (comprimento, largura e espessura) de <i>Schinus terenbithifolia</i> em diferentes estádios de maturação.	69
Tabela 4 -	Grau de umidade (%) de sementes de <i>Schinus terebentifolia</i> durante 15 meses em dois diferentes ambientes de armazenamento.	77

LISTA DE FIGURAS

Nº	Legenda	Pag.
Figura 1 -	A - Óleo essencial comercial produzido a partir de frutos de <i>Schinus terebinthifolia</i> . B - Frutos de <i>Schinus terebinthifolia</i> comercializados para uso condimentar.	22
Figura 2 -	A) Indivíduo de <i>Schinus terebinthifolia</i> utilizada na arborização urbana ao lado do prédio da Reitoria da UFBA/Salvador-BA. B) Detalhe dos frutos reunidos em cachos.	24
Figura 3 -	Aspecto das flores (A), frutos (B) e Semente (C) de <i>Schinus terebinthifolia</i> .	25
Figura 4 -	Curva de embebição de sementes e as fases da germinação com priming e sem priming.	31
Figura 5 -	Balanço entre antioxidante e espécies reativas de oxigênio	34
Figura 6 -	Oxidação de ácido graxo poliinsaturado (ácido linolênico).	36
Figura 7 -	Principais mecanismos de defesa antioxidante enzimático em plantas.	37
Figura 8 -	Localização de superóxido dismutase em células vegetais.	39
Figura 9 -	A) Estrutura tridimensional da Catalase. B) Grupo heme único de catalase.	41
Figura 10 -	Representação da estrutura geral do complexo APX-ascorbato e ciclo da ascorbato-glutationa.	42
Figura 11 -	Aspctos das árvores, aspecto dos frutos e identificação geográfica do local de coleta do material biológico.	58
Figura 12:	Representação esquemática da avaliação fisiológica em função do estágio de maturação e secagem.	60
Figura 13 -	Classificação dos frutos de <i>Schinus terebentifolia</i> em diferentes estágios de maturação baseados na coloração do exocarpo.	66
Figura 14 -	A) Germinação (Gmax), B) Tempo para atingir 50% de germinação (T50), C) Uniformidade (U8416), D) Área	71

abaixo da curva (AUC360h), E) Porcentagem de Plântulas Normais (PN), F) Massa seca de parte aérea (MSPA), G) Comprimento de Parte Aérea (CPA) e H) Comprimento de raiz (CR) de plântulas e sementes recém-colhidas e após secagem de *Schinus terebentifolia* em diferentes estádios de maturação.

Figura 15 -	A) Germinação (Gmax), B) Tempo para atingir 50% de germinação (T50), C) Uniformidade (U8416), D) Área abaixo da curva (AAC), E) Plântulas Normais (PN) e F) Comprimento de raízes (CR) de sementes de <i>Schinus terebentifolia</i> armazenadas durante 15 meses em dois ambientes diferentes.	78
Figura 16 -	Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e teor de malondialdeído (MDA), em sementes de <i>Schinus terebentifolia</i> armazenadas durante 15 meses em dois ambientes diferentes.	82
Figura 17 -	Avaliação da Condutividade Elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}/\text{g}^{-1}$) em sementes de <i>Schinus terebentifolia</i> armazenadas durante 15 meses em dois ambientes diferentes.	84
Figura 18	Alterações fisiológicas e bioquímicas no armazenamento sementes de aroeira-vermelha em 2 condições.	86
Figura 19	Representação esquemática do ensaio de restrição hídrica (estresse osmótico) em sementes de aroeira-vermelha.	99
Figura 20	Representação esquemática da curva de embebição em diferentes potenciais osmóticos.	100
Figura 21	Representação esquemática da curva de embebição em diferentes potenciais osmóticos.	101
Figura 22	Representação esquemática da avaliação da restrição hídrica em plântulas.	102
Figura 23	Representação esquemática da avaliação do efeito do osmocondicionamento sobre a qualidade de sementes.	103
Figura 24	A) Germinação (Gmax), B) Tempo para atingir 50% de germinação (T50), C) Uniformidade (U8416), D) Área abaixo da curva (AUC360h), E) Plântulas Normais (%), F) Massa seca de raiz (MSR) G) Comprimento de Parte Aérea (CPA) e H) Comprimento de raiz (CR) de	105

	sementes e plântulas de <i>Schinus terebinthifolia</i> em diferentes potenciais de restrição hídrica.	
Figura 25	Efeito da restrição hídrica utilizando diferentes potenciais de PEG 8000 na germinação e estabelecimento inicial de plântulas de <i>S. terebinthifolia</i> após 21 dias de embebição.	106
Figura 26 -	Curva de Embebição de sementes de <i>Schinus terebinthifolia</i> em água destilada (controle) e soluções de PEG 8000 com diferentes potenciais osmóticos a 25 °C.	108
Figura 27 -	Atividade das enzimas Superóxido Dismutase (A) Catalase (B) e Ascorbato Peroxidase (C) em sementes de <i>Schinus terebinthifolia</i> sob diferentes potenciais de restrição hídrica (MPa).	109
Figura 28 -	Comprimento de Parte Aérea (A) e Raiz (B) de plântulas obtidas de sementes de <i>Schinus terebinthifolia</i> mantidas em potencial de restrição hídrico por 4 dias.	112
Figura 29 -	Massa seca de Raiz, Hipocótilo, e Cotilédone de plântulas de <i>Schinus terebinthifolia</i> desenvolvidas por 4 dias em água destilada (Controle) e sob restrição hídrica (-0,2 MPa).	113
Figura 30 -	Atividade das enzimas Superóxido Dismutase, Catalase, e Ascorbato Peroxidase em diferentes partes de plântulas de <i>Schinus terebinthifolia</i> desenvolvidas em água destilada (Controle) e em condições de restrição hídrica (-0,2 MPa).	115
Figura 31	Alterações atividade enzimas antioxidantes de <i>S. terebinthifolia</i> em resposta estresse hídrico.	116
Figura 32 -	Germinação (G_{max}). Tempo para atingir 50% de A) Germinação (G_{max}). B) Tempo para atingir 50% de germinação (T50). C) Uniformidade (U8416). D) Área abaixo da curva (AAC384h) E) Plântulas Normais (PN) e F) Comprimento de raiz (CR), G) Razão m. seca/comprimento de parte aérea (RMCPA), H) Relação massa seca/comprimento de raiz (RMCR) de plântulas e sementes de <i>Schinus terebinthifolia</i> osmocondicionadas por sete dias em diferentes potenciais e submetidas a condições sem secagem (barra clara) e com secagem (barra escura).	118

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAC/AUC	Área abaixo da curva
ABA	Ácido abscísico
AGPI	ácidos graxos poli-insaturados
APX	Ascorbato peroxidase
AsA	Ascorbato
ATP	Adenosina trifosfato
BA	Bahia
CAT	Catalase
CPA	Comprimento de parte aérea
CR	Comprimento de raíz
Cu/Zn-SOD	Cobre-zinco superóxido dismutase
DAA	Dias após a antese
DAP	Diâmetro a altura do peito
DHAR	Dehidroascorbato redutase
DNA	Ácido Desoxirribonucleido
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ERO	Espécies reativas de oxigênio
Fe-SOD	Ferro superóxido dismutase
GA	Giberelinas
G _{max}	Germinação máxima
GPX	Glutaciona peroxidase
GR	Glutaciona redutase
GSSG	Glutaciona oxidada
GSH	Glutaciona reduzida
GST	Glutaciona S-transferase
HOCH ₂ (OCH ₂ CH ₂) _n OH	Fórmula geral polietilenoglicol
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₂ O	Água
ICS	Instituto de Ciências da Saúde
ISTA	International Seed Testing Association
KH ₂ PO ₄	Fosfato de potássio
KNO ₃	Nitrato de potássio

LBBB	Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos
LEA	Proteínas abundantes na embriogênese tardia
MDA	Malondialdeído
MDHA	Monodehidroascorbato
MDHAR	Monodehidroascorbato redutase
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
MgSO ₄	Sulfato de magnésio
Mn- SOD	Mânganes superóxido dismutase
MnSO ₄	Sulfato de manganês
MSPA	Massa seca de parte aérea
MSR	Massa seca de raiz
NaCl	Cloreto de sódio
NBT	Nitroazul de tetrazólio
Pb	Chumbo
PEG	Polietilenoglicol
PN	Plântulas normais
PVP	Polivinilpirrolidona
O ₂	Oxigênio molecular
¹ O ₂	Oxigênio singleto
O ₂ ^{•-}	Radical superóxido
OH [•]	Radical hidroxila
RAS	Regras de Análise de Sementes
RNA	Ácido ribonucleico
sHSP	Proteínas de choque térmico
SOD	Superóxido dismutase
T 50	Tempo para alcançar 50 % de germinação
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

1. INTRODUÇÃO GERAL

As sementes são essenciais para propagação de plantas, na preservação da diversidade genética a longo prazo, e como ponto de suma importância nos esforços voltados à restauração do meio ambiente (BEWLEY *et al.*, 2013; BASKIN; BASKIN, 2020). A propagação de espécies florestais nativas como forma de promover a recuperação de áreas degradadas, recomposição da vegetação natural, bem como o estabelecimento de plantios comerciais, tem sido crescente nos últimos anos. Por isso, as informações sobre os processos fisiológicos e bioquímicos que envolvem a coleta, beneficiamento, conservação e germinabilidade dessas espécies são essenciais para obtenção de sementes e mudas de boa qualidade (PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2007).

Entre as espécies florestais, *Schinus terebinthifolia* Raddi. (Anacardiaceae), conhecida popularmente como aroeira-vermelha ou pimenta-rosa, é estudada pelas suas propriedades medicinais, condimentares e na recuperação de áreas degradadas (FONSECA *et al.*, 2017; RORATO *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Na medicina, esta espécie mostra-se promissora em estudos voltados à bioprospecção de compostos para tratamento de doenças, apresentando atividades antioxidante, antisséptica, anti-inflamatória, entre outras (LUCENA *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.* 2013; BULLA *et al.*, 2015). Além disso, os óleos isolados dessa espécie têm potencial para serem utilizados como agentes antimicrobianos com atividade contra diversos isolados de bactérias e fungos (EL - MASSRY *et al.*, 2009; OLIVEIRA JUNIOR *et al.*, 2013; ULIANA *et al.*, 2016).

A espécie *S. terebinthifolia* ocorre em diversos tipos de ecossistemas e formações florestais, como restingas, além de florestas pluviais e semidecíduas de altitude (LORENZI, 2008). No Espírito Santo, existem plantios comerciais da aroeira-vermelha localizados em áreas de baixada litorânea (restingas) e/ou em áreas de elevações de tabuleiros costeiros, nos quais existe um trabalho de seleção de matrizes e manejo tecnificado. No entanto, em algumas regiões, essa espécie vem sofrendo extrativismo não sustentável em alta escala, praticado por agricultores e comunidades tradicionais para coleta dos frutos, onde muitos chegam a derrubar as árvores para reduzir e agilizar o trabalho de coleta (NEVES *et al.*, 2016). Por isso, a recuperação ambiental empregando essa espécie assume grande importância, necessitando-se de

informações sobre o estágio ideal para a coleta de sementes, as condições ideais de armazenamento e a obtenção de sementes de boa qualidade para uso, tanto na produção de mudas para plantios com finalidade comerciais, quanto na recuperação ou restauração de áreas degradadas (SILVA-MANN *et al.*, 2013).

A qualidade das sementes está diretamente relacionada ao vigor e este depende das condições nas quais ocorreram o desenvolvimento e maturação. Portanto, o vigor expressa o potencial máximo para uma germinação e desenvolvimento rápidos e uniformes sob uma ampla gama de condições ambientais, dependente também dos processos relacionados à coleta, secagem e beneficiamento, bem como a manutenção da sua viabilidade ao longo do armazenamento (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015). Contudo, mesmo quando armazenadas em condições ideais, as sementes envelhecerão e perderão a sua viabilidade ao longo do tempo, devido a diversos fatores que contribuem para a sua deterioração (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019).

A germinação das sementes começa com a absorção de água (embebição), é seguida pela reativação do metabolismo e termina com a protrusão visível da radícula (BEWLEY *et al.*, 2013). Por isso, para a recomposição de matas nativas e expansão de plantios comerciais são necessárias sementes de qualidade que possam suportar intempéries de diversas formas, entre elas o estresse hídrico. Nesse sentido, o comportamento fisiológico e bioquímico durante a germinação deve ser estudado para que se possa estabelecer protocolos de otimização do processo germinativo e produção de mudas resistentes a condições ambientais adversas.

Ao longo de sua vida, as plantas e suas sementes estão sujeitas à variações, muitas vezes drásticas nas condições ambientais. Entre elas, a restrição hídrica, ou estresse osmótico, é um dos principais fatores abióticos causadores de estresse nas diversas fases de desenvolvimento das plantas (APEL; HIRT, 2004). A condição de restrição hídrica pode ser prejudicial as plantas quando ocasiona o estresse osmótico.

No entanto, quando é utilizada para a realização da embebição controlada com o uso de substâncias osmóticas, pode ser utilizada como uma técnica de condicionamento em sementes, servindo como tratamentos pré-germinativo ou pré-semeadura. Este método, conhecido como osmocondicionamento ou *priming*, visa proporcionar melhor vigor na germinação das sementes e na emergência de plântulas, favorecendo o desenvolvimento uniforme da lavoura no campo (DE CASTRO; HILHORST, 2004; DI GIROLAMO; BARBANTI, 2012; MARCOS FILHO, 2015).

As sementes também são expostas aos estresses ambientais durante a maturação na planta mãe, a secagem, o armazenamento e durante a fase inicial da germinação (KRANNER *et al.* 2010; VENTURA *et al.* 2012). Por isso, as diferentes espécies de plantas têm desenvolvido mecanismos e processos de adaptação e defesa aos estresses abióticos, sendo a compreensão desses processos um dos tópicos mais importantes da biologia de plantas (HIRAYAMA; SHINOZAKI, 2010; JASPERS; KANGASJÄRVI, 2010). Uma característica comum das respostas das plantas em relação a todos esses estresses é a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) em diferentes compartimentos celulares (PETROV *et al.*, 2015).

Em condições normais, ERO como superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais hidroxila ($HO\cdot$) e oxigênio singlete (1O_2), são componentes de diversas vias de sinalização da célula, sendo produzidas continuamente como subprodutos das reações de oxidação-redução em organelas como: cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos durante o desenvolvimento vegetal, bem como uma resposta da planta a estresses bióticos e abióticos (APEL; HIRT, 2004). No entanto, em condições de estresse, ocorre o aumento na taxa de produção destas espécies, causando danos oxidativos em proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos (GILL; TUTEJA, 2010).

As ERO também estão relacionadas aos danos de oxidação na deterioração de sementes ao longo do armazenamento. Elas interagem com macromoléculas, como os ácidos graxos poliinsaturados (AGP) presentes nos fosfolipídios de membrana, o que pode levar à peroxidação de lipídios e o aumento na permeabilidade da membrana. Entre os subprodutos gerados desse processo, alguns aldeídos reativos, como o malondealdeído, podem ainda causar danos a outros componentes celulares, podendo ser usados como indicadores da deterioração de sementes (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019; ZHANG *et al.*, 2021).

Diante da maior produção de espécies reativas de oxigênio e considerando os prejuízos causados pelas mesmas, as plantas possuem mecanismos de defesa como os antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, que podem prevenir o acúmulo de ERO e o estresse oxidativo extremo. Dentre os antioxidantes enzimáticos destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), que estão presentes em diferentes compartimentos celulares (APEL; HIRT, 2004; GILL; TUTEJA, 2010; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os perfis bioquímico e fisiológico da maturação, armazenamento e germinação sob restrição hídrica em sementes de *Schinus terebinthifolia*. Para isso, no Capítulo I, foi avaliado o comportamento morfológico e fisiológico durante a maturação, comparando o seu desempenho quando recém-colhidas e após a secagem. A partir desses dados, foi selecionado o lote de sementes para a continuidade dos testes. Esse lote foi submetido à duas condições de armazenamento (ambiente de laboratório e refrigerado) durante 15 meses e, ao longo desse período, foram avaliados o comportamento fisiológico (germinação e vigor) e bioquímico (atividade de enzimas antioxidantes e danos em membrana) das sementes nas duas condições. No Capítulo II, foram avaliados o comportamento germinativo das sementes e plântulas submetidas a restrição hídrica (estresse osmótico), bem como a atividade enzimática antioxidante durante a embebição e retrição hídrica. No mesmo Capítulo, foi avaliada a resposta das sementes submetidas ao osmocondicionamento em diferentes potenciais com e sem secagem após o processo.

A partir da melhor compreensão dos perfis fisiológico e bioquímico de sementes de *S. terebinthifolia*, como a investigação da maturação, germinabilidade, vigor, estresse oxidativo e a atividade de enzimas antioxidantes no armazenamento e sob efeito de agentes abióticos, pretendeu-se obter informações sobre os mecanismos de ajuste desta espécie a essas diferentes condições. O entendimento desses processos é relevante para elaboração de futuros projetos com foco em programas de conservação, produção de sementes e mudas, melhoramento genético da espécie, bem como estudos que visem sua aplicação biotecnológica.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os perfis bioquímico e fisiológico de sementes de *Schinus terebinthifolia* durante a maturação, armazenamento e germinação sob restrição hídrica.

2.2. Objetivos específicos:

- Determinar o ponto de maturidade fisiológica de sementes de *Schinus terebinthifolia*, visando a obtenção de sementes de melhor qualidade;
- Avaliar como a secagem afeta a qualidade de sementes em diferentes estádios de maturação;
- Avaliar a viabilidade e vigor das sementes submetidas a duas condições de armazenamento durante 15 meses;
- Avaliar a atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX) e a integridade de membranas (acúmulo de malondialdeído e condutividade elétrica) das sementes submetidas a duas condições de armazenamento durante 15 meses;
- Indicar a melhor condição para conservação de sementes de *Schinus terebinthifolia*;
- Avaliar a germinabilidade de sementes de *Schinus terebinthifolia* sob condições de restrição hídrica (estresse osmótico);
- Avaliar a atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX) durante a germinação em sementes e plântulas de *Schinus terebinthifolia* sob condições de restrição hídrica (estresse osmótico);
- Avaliar o efeito do osmocondicionamento na melhoria da qualidade de sementes.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. A espécie (*Schinus terebinthifolia* Raddi.)

3.2.1. Importância econômica

A espécie *Schinus terebinthifolia* Raddi. (Anacardiaceae), conhecida popularmente como aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira ou pimenta-rosa, destaca-se pelas suas propriedades medicinais e condimentares, além do seu potencial vegetativo para ser utilizada em áreas degradadas e em recomposição de mata ciliar (JOSÉ; DAVIDE; OLIVEIRA, 2005; OLIVEIRA V. *et al.*, 2020). Apesar de não ter suas aplicações nutricionais e biotecnológicas tão difundidas no cenário nacional, o fruto da aroeira-vermelha é apreciado nas exigentes culinárias internacionais para temperar carnes brancas, salames e massas, e conferir sabores exóticos a bebidas e doces, como coquetéis e chocolate. Na culinária nacional é utilizada sob a forma desidratada e comercializada, na maioria das vezes, a granel (BERTOLDI, 2006).

Entre os compostos presentes na aroeira que podem vir a fomentar seu comércio e seu consumo no almejo de aproveitar suas propriedades nutricionais destacam-se os carotenóides, a vitamina C e a capsaicina (PAGANI *et al.*, 2013). No aspecto fitoquímico, os principais compostos da aroeira, são os ácidos graxos, terpenos, taninos, alcalóides, antocianinas, compostos fenólicos e flavonoides (PAWLOWSKI *et al.*, 2012; SANTANA; SARTORELLI; LAGO, 2012; FEUEREISEN *et al.*, 2017; ENNIGROU *et al.*, 2018).

Diversos estudos têm mostrado diferentes quimiotipos presentes no óleo essencial de folhas de aroeira coletadas em diferentes regiões. Foi encontrado, por exemplo, maior teor de α -pineno com 51,82% em plantas da Índia e 30% em plantas do estado do Paraná, Brasil (BORTOLUCCI *et al.*, 2019), enquanto que em plantas do Egito e Tunísia destacou-se α -felandreno, com 24,2% e 36,18%, respectivamente (IBRAHIM; FOBBE; NOLTE, 2004; ENNIGROU *et al.*, 2018). Em outro estudo sobre a composição química do óleo essencial presente em folhas e frutos de aroeira coletadas no estado do Espírito Santo, Cole *et al.* (2014) encontraram, principalmente, monoterpenos (85,81%), com uma maior concentração de δ -3-careno (30,37%), α -felandreno (12,60%), α -pineno (12,59%), além da ocorrência de sesquiterpenos, como o *trans*cariofileno (1,77%). Em diferentes genótipos obtidos no estado de Sergipe, os principais compostos dos óleos essenciais de aroeira foram α -pineno, β -pineno, α -

felandreno, δ -*careno*, *o-cimeno*, *limoneno*, β -*felandreno* e *mirtenol*, com uma diferença significativa entre os níveis desses compostos químicos obtidos de indivíduos coletados em diferentes locais (SOUZA *et al.*, 2014).



Figura 1. A) Óleo essencial comercial produzido a partir de frutos de *Schinus terebinthifolia*. B) Frutos de *Schinus terebinthifolia* comercializados para uso condimentar. (Fonte: Autor).

Há potencial de utilização da casca, folhas e frutos desta espécie como fontes de diversos compostos, sendo utilizado para o preparo de chás, produtos farmacêuticos e produtos medicinais. O gel obtido do extrato hidroalcoólico foi eficiente e seguro para o tratamento da vaginose bacteriana, enquanto os extratos obtidos de suas folhas são usados para proteção, cicatrização e reparo tecidual de feridas na pele, micoses, infusão no tratamento de infecções do trato respiratório, digestivo e urinário, bem como contra reumatismo e candidíase (AMORIM; SANTOS, 2003; RIBAS *et al.*, 2006; BRASIL, 2014; ESTEVÃO *et al.*, 2015). Os óleos isolados de *S. terebinthifolia* têm potencial para serem utilizados como agentes antimicrobianos com atividade antibacteriana contra diversas espécies como *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus spp.*, *Enterobacter sp.* *Streptococcus sp.*, (EL - MASSRY *et al.*, 2009; COLE *et al.*, 2014; ULIANA *et al.*, 2016), além de atividade antifúngica contra o patógeno *Colletotrichum gloesporioides*, causador da doença antracnose em diversas espécies vegetais (OLIVEIRA JUNIOR *et al.*, 2013).

Foi demonstrado que extratos obtidos de frutas, casca do caule, caules, folhas e amostras comerciais de *S. terebinthifolia* apresentam uma variedade de metabólitos secundários, incluindo alto teor de compostos fenólicos, que podem ser responsáveis pela atividade antioxidante detectada (COSTA *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2015). A atividade antioxidante da casca do caule dessa espécie também mostrou efeitos neuroprotetores sobre a doença de Parkinson, em que o extrato etanólico inibiu a

peroxidação lipídica (SERENIKI *et al.*, 2016). O extrato das folhas de *Schinus terebinthifolia* foi eficiente na proteção contra estresse oxidativo em eritrócitos humanos (ROCHA *et al.*, 2017), além de possuírem atividade antioxidante, antiproliferativas e anti-inflamatória *in vivo*, apresentando efeito inibidor eficaz sobre o desenvolvimento de linhagens de células do câncer de ovário (SILVA, M. *et al.*, 2017).

Na agricultura, existem estudos sobre o uso de extratos de aroeira para controlar a infecção do Vírus do Mosaico Comum do Feijoeiro (*Bean common mosaic virus*) em feijoeiro (ELSHARKAWY; EL-SAWY, 2015), atividade inseticida contra *Spodoptera littoralis*, conhecida como lagarta desfolhadora, e *Phthorimaea operculella*, conhecida como traça da batatinha (ENNIGROU *et al.*, 2018). O óleo essencial da espécie também se mostrou promissor para ser utilizado na suplementação da dieta alimentar da espécie de Peixe do Mato Grosso (*Hyphessobrycon eques* Steindachner) favorecendo o desenvolvimento do sistema imunológico desses animais (PORTO *et al.*, 2020).

Do ponto de vista de produção dessa espécie, em função dos elevados preços alcançados pela pimenta-rosa, alguns produtores do Espírito Santo cultivam a aroeira para produção de frutos. No entanto, esses plantios não apresentam um sistema de produção definido, mas já contemplam a aplicação de insumos e um trabalho inicial para a seleção de matrizes voltada à produção de frutos (NEVES *et al.*, 2016). Foi demonstrado que o cultivo da aroeira se mostrou uma solução viável para aumentar a renda do agricultor familiar, por ser uma árvore nativa, apresentando-se como uma alternativa sustentável para pequenas áreas (CARVALHO, 2015). A espécie também é estudada para potencial utilização em práticas agroflorestais, consorciada com outras culturas (FEIJÓ; MIELKE; GOMES, 2009).

Em estudo realizado por Jesus *et al.* (2013), os autores relataram que os estados brasileiros que mais contribuíram para a cadeia produtiva extrativista da aroeira vermelha no ano de 2008 foram: Rio de Janeiro (640 t.), Bahia (200 t.), Pernambuco (100 t.), Ceará (100 t.), Sergipe-Alagoas (70 t.) e Espírito Santo (400 t.) que, além dessa produção extrativista, tem plantios com produção comercial. Os mesmos autores confirmaram o potencial de melhoria dos atuais índices de geração de emprego e renda de comunidades ribeirinhas no Baixo São Francisco (SE), que têm o extrativismo de aroeira como fonte de renda nos períodos de safra. Contudo, eles ressaltam a necessidade da adoção de práticas extrativistas sustentáveis nesta

região, com vista à manutenção da espécie e/ou políticas públicas que incentivem o estabelecimento de plantios comerciais a exemplo do estado do Espírito Santo.

Na região do Baixo São Francisco, o extrativismo da aroeira chega a representar 20% da renda anual das famílias ribeirinhas, sendo os frutos vendidos para a indústria alimentícia e exportados para a fabricação de molhos condimentares e uso em embutidos (JESUS; GOMES, 2010). Conforme exposto por Bertoldi (2006), apesar de não haver um sistema de produção definido, percebe-se grande perspectiva de mercado e potencial de exploração sustentável por parte das comunidades tradicionais que têm na colheita da aroeira fonte de emprego e renda, além de produtores e indústrias que identifiquem a aroeira como opção rentável de negócio, para produção em larga escala.

2.1.2. Características morfológicas e importância ecológica e ambiental

A aroeira vermelha é nativa do Brasil e possui uma grande plasticidade ecológica, o que possibilita a espécie ocupar diversos tipos de ecossistemas e formações florestais, desde restingas até as florestas pluviais e semidecíduas de altitude. Com isso, ocorre desde o Nordeste, passando pelos Cerrados, e chegando ao Rio Grande do Sul (LORENZI, 2008). Essa espécie pode ainda ser empregada como planta ornamental na arborização urbana (Figura 2), destacando-se pela beleza das folhas, pelas flores esverdeadas e seus frutos vermelhos que são consumidos pelas aves.

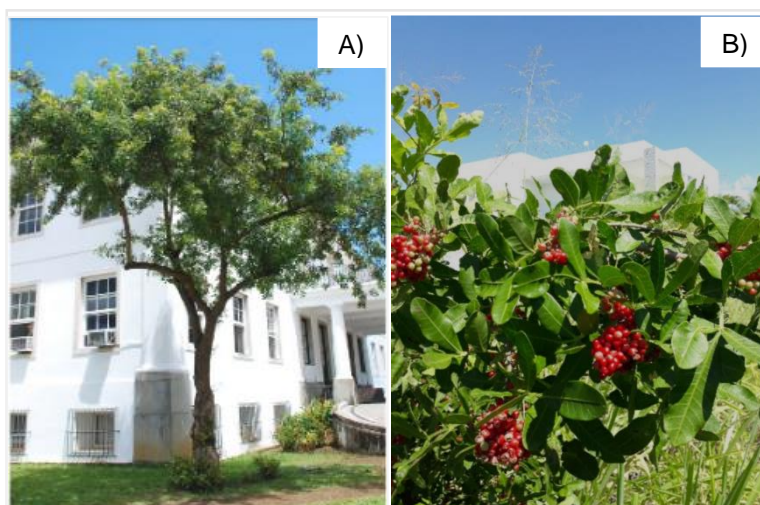


Figura 2. A) Indivíduo de *Schinus terebinthifolia* utilizado na arborização urbana, ao lado do prédio da Reitoria da UFBA/Salvador-BA. B) Detalhe dos frutos reunidos em cachos. (Fonte: Autor).

Por essas características, a espécie consta no Manual de Arborização Urbana de Salvador como espécie recomendada para ocupação de encostas, devido seu sistema radicular agressivo e ramificado, que favorece a conservação do solo (PREFEITURA DA CIDADE DE SALVADOR, 2017).

A espécie é perenifólia, pode alcançar 15 m de altura e 60 cm de DAP. A casca externa do tronco é escura, grossa e rugosa, áspera, sulcada e escamosa e a interna é avermelhada, com textura fibrosa e odor característico devido a exsudação de terebintina. O fruto é uma drupa, globoso, com 4 mm a 5,5 mm de diâmetro, levemente achatado na parte do comprimento. Quando imaturos são verde-claros, e quando maduros, apresentam cor vermelha, com sabor adocicado e aromático (NEVES *et al.*, 2016).

A única semente presente no fruto é caracterizada por ser reniforme, com envoltório membranáceo, lisa, de coloração amarelo clara, com uma mancha marrom escura (Figura 3). O envoltório tem dupla origem, uma que na semente madura se manifesta externamente como uma mancha marrom escura, e a outra tegumentar (NEVES *et al.*, 2016). Possui micrópila não visível, o endosperma é ausente, o embrião não clorofilado é axial dobrado ou pleurorrizo, composto por dois cotilédones planos, carnosos, eixo hipocótilo-radícula longo e plúmula pouco desenvolvida. É exalbuminosa e a reserva dos cotilédones consiste, principalmente de proteínas e lipídeos (CARMELLO- GUERREIRO; PAOLI, 1999).

Trata-se de uma espécie dióica, com flores diclinas, que possui diferenças nas estruturas reprodutivas, sendo maiores e mais floridas as inflorescências masculinas. Sua estratégia de reprodução é cruzada (alogamia/xenogamia), dependendo basicamente de agentes bióticos para o transporte do pólen (LENZI; ORTH, 2004).



Figura 3: Aspecto das flores (A), frutos (B) e Semente (C) de *Schinus terebinthifolia*. Barra = 1 cm. (Fonte: Autor).

Segundo Neves *et al.*, (2016) em diversas áreas de ocorrência da espécie, especialmente em regiões onde há empresas de beneficiamento dos frutos, a aroeira-vermelha vem sofrendo extrativismo não sustentável. Não há manejo sustentado de coleta dos frutos e a maioria dos coletores chega a derrubar as árvores para reduzir e agilizar o trabalho de coleta. A atividade, normalmente, é efetuada em propriedades privadas, pouco fiscalizadas e que, provavelmente, serão convertidas em cultivos ou pastagens em curto prazo. Sabe-se que estes fatores contribuem para o aumento crescente de áreas degradadas, paisagens fragmentadas e, conseqüentemente, pela redução da biodiversidade e pelo aumento do risco de extinção de espécies (KAGEYAMA; GANDARA, 2005).

Por isso, segundo Silva-Mann *et al.* (2013), a recuperação ambiental empregando essa espécie assume grande importância, necessitando que seja possível gerar informações de como armazenar adequadamente sementes, mantendo bancos de germoplasmas e assegurando a manutenção de populações geneticamente diversas, bem como conhecer formas de obter sementes de boa qualidade para uso, tanto na produção de mudas para plantios com finalidade comerciais, quanto na recuperação ou restauração de áreas degradadas.

Os plantios comerciais da espécie estão localizados em áreas de baixada litorânea (restingas), elevações de tabuleiros costeiros e em áreas de cultivo experimental (NEVES *et al.*, 2016). A grande incidência da aroeira-vermelha em áreas de restinga antropizadas, margens de rios e terrenos aluviais está associada à sua eficiência como espécie pioneira, adaptando-se muito bem às condições inóspitas locais, suportando inundações, encharcamento do solo, além de locais com restrições hídricas e com baixas temperaturas (DURIGAN *et al.*, 2002; RORATO *et al.*, 2018). A espécie também mostrou ser eficaz no processo de recuperação de matas ciliares, por meio da semeadura direta, apresentando maior crescimento relativo, tanto em altura como em diâmetro do colo (FERREIRA *et al.*, 2009).

Essas características favorecem e aumentam as chances de cultivo de *S. terebinthifolia* em diferentes regiões brasileiras, tanto para exploração sustentável quanto para recomposição e recuperação de matas ciliares e áreas degradadas (SOUZA, 2001; JOSÉ; DAVIDE; OLIVEIRA, 2005). É comum essas áreas apresentarem altas temperaturas, déficit hídrico e alta concentração de sais, sendo importante para sua recomposição o uso de espécies tolerantes a estas condições. Nesse sentido, a informação sobre o comportamento e a capacidade germinativa das

sementes de espécies nativas crescendo em diferentes níveis de estresse é de sumo interesse para otimizar a sua produção (LARCHER, 2006).

Devido a demanda de programas de recomposição da vegetação e recuperação de áreas degradadas, especialmente as ciliares, há uma necessidade de se produzir mudas e sementes de boa qualidade de espécies florestais em menor tempo e em condições acessíveis, devendo-se priorizar espécies nativas regionais, supostamente mais adaptadas às condições edafoclimáticas locais e que, desse modo, facilitariam o restabelecimento da vegetação e de suas relações com o ambiente (CARRASCO; CASTANHEIRA, 2004; JESUS; ROLIM, 2005).

O plantio de mudas é o método mais utilizado para recuperação dessas áreas, no entanto, o uso da semeadura direta também é recomendado quando se trata de espécies pioneiras, como é o caso de *S. terebinthifolia* (FERREIRA *et al.*, 2009; FERREIRA; SANTOS, 2012). Em virtude dos diversos usos da espécie *S. terebinthifolia* apresentados, observa-se a necessidade de otimização dos processos de obtenção de sementes com boa qualidade física e fisiológica para produção de mudas e semeadura direta.

3.2. Qualidade fisiológica de sementes

As sementes são essenciais para a conservação dos recursos genéticos. A produção de sementes florestais para fins silviculturais ou de conservação envolve desde as atividades de seleção de áreas, material genético e matrizes, até a coleta, beneficiamento, secagem, armazenamento e controle de qualidade do lote de sementes (PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2007). A maturidade fisiológica é a fase em que é interrompida a transferência de nutrientes e fotoassimilados da planta para as sementes. Durante o processo, ocorrem alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas nas sementes, entre elas, alterações no teor de água e de óleo, conteúdo de matéria seca, germinação e vigor, que permitem a identificação do momento ideal de colheita, obtendo assim um material com máximo potencial fisiológico (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2015; BRITO *et al.*, 2015).

Em estudo conduzido na região metropolitana de Curitiba-PR, Totti e Medeiros (2006) mostraram que a coloração vermelho-escura dos frutos, que apresentavam

sementes com grau de umidade de 30,5% e a presença de aves se alimentando destes frutos, foram indicadores do melhor momento de colheita para as sementes de *S. terebinthifolia*. Já Vitória *et al.*, (2018), avaliando sementes de frutos obtidos na região de Conceição da Barra – ES, observaram os maiores valores de germinação e vigor em sementes que apresentavam 9,13% de grau de umidade, provenientes também de frutos com coloração do epicarpo avermelhado.

Segundo definição da *International Seed Testing Association* (ISTA), o vigor das sementes é a soma das propriedades que determinam o desempenho da germinação em uma ampla gama de ambientes (ISTA, 2015). Como parte dessa definição, eles apontam que o vigor não é uma única propriedade mensurável, mas um conceito associado a aspectos do desempenho que incluem: taxa e uniformidade da germinação e crescimento, capacidade de emergência em condições ambientais desfavoráveis e desempenho após o armazenamento. A última destas características é conferida pela longevidade da semente, que é definida como sua capacidade de permanecer viável por longos períodos durante o armazenamento no estado seco de repouso (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015; ISTA, 2015).

O processo de deterioração que pode ocorrer durante a secagem e armazenamento é determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, iniciando-se a partir da maturidade fisiológica, em ritmo progressivo, e culminando com a morte da semente (MARCOS FILHO, 2015). Por isso, a qualidade e a viabilidade das sementes durante os processos de armazenamento dependem principalmente do estado inicial das mesmas e das condições nas quais são armazenadas (CHHABRA; SINGH, 2019).

Medeiros e Zanon (1998) avaliando diferentes condições de armazenamento para conservação de sementes de aroeira-vermelha obtiveram maiores valores de germinação quando estas foram conservadas em câmara seca, com temperatura de $14\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e embalagem de papel Kraft, condição na qual a germinação foi em torno de 65% após 360 dias. Em outro estudo, realizado por Silva-Mann *et al.*, (2013), o armazenamento durante 24 meses afetou a qualidade fisiológica de sementes de aroeira-vermelha, acondicionadas em embalagens plásticas e em câmara fria à temperatura de $6^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa (UR) do ar de 60 a 65%, interferindo negativamente na longevidade natural, de forma mais acentuada após os 16 meses de armazenamento.

O armazenamento em baixas temperaturas (10 °C) foi essencial para a manutenção da qualidade fisiológica e a longevidade das sementes de aroeira-vermelha coletadas no município de Conceição da Barra – ES e armazenadas pelo período de quatro meses em recipientes de vidro vedados com tampa emborrachada (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Neste mesmo trabalho, os autores ressaltaram a importância de mais estudos com as sementes de aroeira, testando principalmente tipos de embalagens e maior período de armazenamento.

Já em estudos realizados para avaliar a influência da umidade relativa no armazenamento, foi observado que as sementes de *S. terebinthifolia* conservaram o vigor por 12 meses, quando mantidas em umidade relativa de 33 e 55%, no entanto, na umidade relativa de 93% ocorreu deterioração das sementes logo aos dois meses (RIBEIRO *et al.*, 2018). Esses autores não verificaram relação entre a perda de qualidade fisiológica das sementes com a peroxidação de lipídios ou a permeabilidade de membrana, no entanto, observaram o aumento nas atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) apenas quando as sementes foram conservadas na umidade relativa (UR) de 93%.

3.3. Estresse hídrico durante a germinação e osmocondicionamento

A germinação de sementes é um dos estádios mais importantes do ciclo de vida das plantas, sendo caracterizada pela retomada das atividades anabólicas e catabólicas, incluindo o aumento da respiração, síntese de proteínas e mobilização das reservas após a absorção da água. É um processo composto por três fases, que consistem na embebição (Fase I), reativação dos processos metabólicos, e crescimento do embrião por meio de expansão e/ou divisões celulares (Fase II), culminando com um aumento na absorção de água à medida que o eixo embrionário se alonga, seguido pela protrusão radicular (Fase-III) e conclusão da germinação (DE CASTRO; HILHORST, 2004; BEWLEY *et al.*, 2013;).

A compreensão das respostas abióticas ao estresse é considerada um dos tópicos mais importantes da biologia de plantas (HIRAYAMA; SHINOZAKI, 2010). Diversos estudos tentaram demonstrar o comportamento da espécie *S. terebinthifolia* em situações de estresses abióticos. Kuki, Oliva e Costa (2009) mostraram que o

índice de tolerância radicular e o crescimento inicial de *S. terebinthifolia* não foram afetados pela poeira e acidez do ferro liberados por indústrias de minério de ferro, revelando a resistência da espécie a esses poluentes. As mudas de aroeira-vermelha também foram resistentes ao solo contaminado por óleo diesel, mostrando seu potencial como espécie fitorremediadora (BONA *et al.*, 2011).

Já Silva E. *et al.*, (2017), mostraram que o chumbo (Pb) presente em baixas concentrações causa efeitos tóxicos que afetam o percentual e a velocidade de germinação de sementes de *S. terebinthifolia*, porém apesar desses efeitos, eles não se elevaram quando as sementes foram expostas a concentrações maiores de Pb, mostrando que a espécie possui tolerância ou adaptação fisiológica a este contaminante.

Já foi demonstrado que o estresse hídrico reduz significativamente a taxa fotossintética, a transpiração, a condutância estomática, a eficiência de carboxilação da rubisco e os teores de clorofila de plantas de *S. terebinthifolia* (NUNES *et al.*, 2017). No entanto, a restrição hídrica pode ser utilizada como técnica de embebição controlada nas sementes, servindo como tratamento pré-semeadura. Os benefícios da pré-embebição de sementes antes da semeadura foram descobertos desde tempos antigos, e desde a década de 1960 é aplicada pelas indústrias de sementes como alternativa para proporcionar maior e melhor germinação, além da emergência de plântulas mais rápida e uniforme no campo (PAPARELLA *et al.*, 2015).

Entre os métodos principais de pré-embebição de sementes destacam-se: i) com água (hidropriming); ii) matrizes sólidas (areia, turfa, vermiculita, algodão) hidratadas ou embebidas em soluções iii) soluções osmóticas ou osmocondicionamento com cloreto de sódio (NaCl), nitrato de potássio (KNO₃), sulfato de magnésio (MgSO₄), cloreto de magnésio (MgCl₂), fosfato de potássio (KH₂PO₄), sulfato de manganês (MnSO₄), manitol, glicerol e polietilenoglicol (PEG); iv) hormopriming com ácido abscísico, giberelina, auxinas, poliaminas, entre outros; e v) biopriming com bactérias (*Pseudomonas fluorescens*) e rizobactérias (DI GIROLAMO; BARBANTI, 2012; MARCOS FILHO, 2015; LUTSS *et al.*, 2016).

Dentre esses tratamentos utilizados, o osmocondicionamento, condicionamento osmótico ou *priming*, é uma técnica proposta inicialmente por Heydecker, Higgins e Gulliver (1973), que consiste na embebição das sementes em soluções de baixo potencial osmótico, por determinado período, de modo que as mesmas iniciem a embebição, porém paralise o processo assim que entrem em equilíbrio com o

potencial osmótico da solução (Figura 4). Isso faz com que ocorram os processos iniciais da germinação, mas não haja expansão e divisões celulares o suficiente para que ocorra a protrusão da radícula embrionária, ou seja, sem que a germinação seja concluída (HEYDECKER; HIGGINS; GULLIVER, 1973; DE CASTRO; HILHORST, 2004; MARCOS FILHO, 2015). Com isso, é possível realizar a semeadura logo após o processo, ou, realizar a secagem, armazenamento e posterior comercialização da semente. Este processo favorece a germinação mais rápida e uniforme, culminando com melhor desempenho em campo sob condições adversas, além de possibilitar melhoria ou recuperação de lotes de sementes com baixa qualidade fisiológica (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; ZHANG *et al.*, 2015). Para Marcos Filho (2015) o controle da embebição via osmocondicionamento permite que as sementes menos vigorosas tenham tempo suficiente para reparação e reorganização de suas membranas e alcancem um estágio de atividade metabólica semelhante às sementes mais vigorosas.

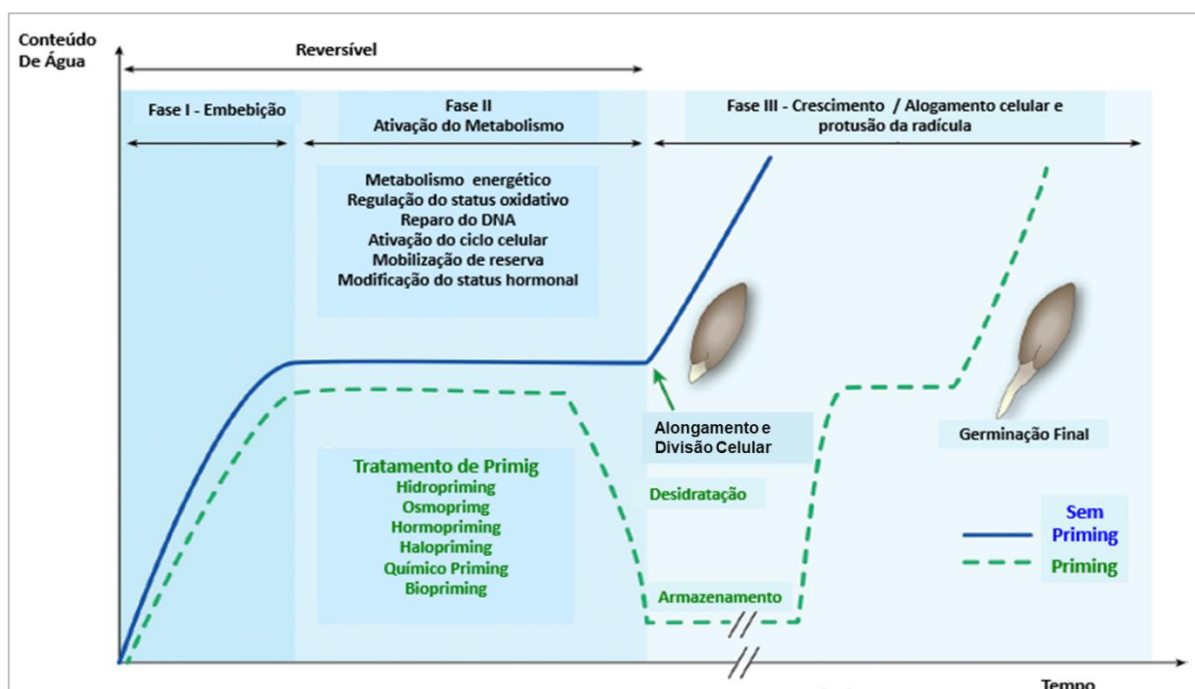


Figura 4. Curva de embebição de sementes e as fases da germinação com *priming* e sem *priming*. (Fonte: Modificado a partir de: Lutts *et al.*, 2016).

O polietilenoglicol, fórmula geral $\text{HOCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$, é o agente osmótico mais utilizado para simular restrição hídrica e osmocondicionamento. Esse composto é quimicamente inerte e atóxico para as sementes, possui molécula de alto peso

molecular, e assim é capaz de simular condições de restrição hídrica sem penetrar no tegumento das sementes (VILLELA; BECKERT, 2001; DI GIROLAMO; BARBANTI, 2012; MARCOS FILHO, 2015). Diversos dados publicados na literatura relatam uma melhora na taxa, velocidade e uniformidade da germinação, além de um melhor comportamento das mudas obtidas em termos de crescimento e resistência ao estresse em diferentes espécies vegetais. No geral, a utilização desta técnica em diferentes espécies sob condições variadas mostrou aumento médio de 11% em porcentagem de germinação e 36% menor tempo médio de germinação (CHEN; ARORA, 2011; ZHANG *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2016; DI GIROLAMO; BARBANTI, 2012).

A técnica de osmocondicionamento pode promover diversas alterações bioquímicas nas sementes. Os resultados favoráveis podem estar relacionados à um conjunto de adaptações metabólicas como estímulo a síntese de enzimas antioxidantes, novos RNA, proteínas e outras macromoléculas (WAHID *et al.*, 2008; CHEN; ARORA, 2011; KIMBINZA *et al.*, 2011; TANOU; FOTOPOULOS; MOLASSIOTIS, 2012; GAMIR; BEL; FLORS, 2014). Sabe-se que o *priming* aumenta a relação giberelinas (GA) / ácido abscísico (ABA), além de iniciar o reparo e reativação de mitocôndrias preexistentes e iniciar a biogênese de novas, proporcionando um nível mais alto de energia em um curto período de tempo para garantir a germinação final (SUNG *et al.*, 2008; SUN *et al.*, 2011; NASCIMENTO *et al.*, 2013).

O efeito do osmocondicionamento depende de muitos fatores, dentre eles: o tempo e temperatura do pré-tratamento, aeração do meio, estado de deterioração das sementes, tamanho, velocidade de absorção de água (associada ao potencial matricial das sementes e ao potencial osmótico do meio em que as sementes absorvem água), aplicação de elementos nutritivos, grau de hidratação alcançado e a secagem após o tratamento (VARIER; VARI; DADLANI, 2010). Os resultados positivos do osmocondicionamento, sobretudo para culturas agrícolas, reafirmam seu grande potencial para melhorar o processo germinativo e o vigor das sementes e mudas. Porém, apesar dos estudos já realizados, ainda há poucas informações a respeito desta técnica em sementes de espécies florestais nativas.

Sobre estas espécies, sabe-se que normalmente apresentam desuniformidade de germinação, o que pode ser superado pelo osmocondicionamento, pois esta técnica está relacionada à sincronização da germinação e obtenção de mudas

vigorosas em menor período de tempo (SANTOS, 2008). Por isso, são necessárias informações sobre a utilização de métodos que aumentem o poder germinativo dessas sementes, de modo a contribuir com programas de reflorestamento de áreas degradadas ou de recomposição de matas nativas.

Como exemplo de estudos com espécies florestais nativas, o osmocondicionamento potencializou a germinação de sementes de *Platymiscium pubescens* Micheli (tamboril-da-mata; BORGES *et al.*, 2002) e *Peltophorum dubium* (canafístula; MISSIO *et al.*, 2018), além de aumentar o potencial de germinação em condições de estresse em *Triplaris americana* (pau-formiga; MENDONÇA *et al.*, 2005). No entanto, nem sempre estudos realizados com a técnica de osmocondicionamento em espécies florestais nativas apresentam resultados satisfatórios. Por exemplo, em sementes de carobinha - *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* o osmocondicionamento por 24 horas causou redução na qualidade das sementes e vigor das plântulas (KISSMANN *et al.*, 2011).

Já em sementes de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* fr. Allemão), o tratamento com PEG 6000, por 4 dias, com posterior secagem das sementes, reduziu a germinabilidade e o teor de clorofilas “a” e “b” em suas folhas, apesar de promover melhor uniformidade e aumento na área foliar (CARDOSO *et al.*, 2012). Com relação a espécie *S. terebinthifolia*, ainda é necessário a busca de informações sobre os mecanismos fisiológicos e bioquímicos que ocorrem durante o início do processo de embebição com restrição hídrica, além de efeitos do osmocondicionamento de sementes, para ajudar a usar essa tecnologia simples e barata de maneira mais eficiente.

3.4. Estresse oxidativo e espécies reativas de oxigênio (ERO)

As plantas são susceptíveis a diversos tipos de estresses ao longo de sua vida, e por serem organismos sésseis, elas desenvolveram sofisticadas adaptações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas para sobreviver aos efeitos prejudiciais do meio ambiente (HIRAYAMA; SHINOZAKI, 2010). Uma característica comum das respostas das plantas em relação a todos esses estresses é a produção das chamadas espécies reativas de oxigênio (ERO) em diferentes compartimentos celulares (JASPERS; KANGASJARVI, 2010; PETROV *et al.*, 2015).

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) como oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (HO^\cdot) são componentes de diversas vias de sinalização da célula, sendo produzidas continuamente como subprodutos das reações de oxidação-redução em níveis menores em organelas tais como: cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos durante o desenvolvimento vegetal, bem como uma resposta da planta a estresses bióticos e abióticos (APEL; HIRT, 2004). Em tecidos fotossintéticos, os cloroplastos e peroxissomos são a principal fonte de geração de ERO. Já em células não fotossintéticas, as mitocôndrias são os principais produtores, com cerca de 1 a 5% do consumo de O_2 resultando na produção de ERO (MOLLER; JENSEN; HANSSON, 2007).

Em cloroplastos, os fotossistemas I e II (PSI e PSII) são os principais sítios para a produção de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Já nas mitocôndrias, o complexo I e III de cadeia de transporte de elétrons (ETC) são os principais locais para a geração de radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Em condições de estresse ocorre o aumento na taxa de produção destas espécies, causando danos oxidativos em proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Nessa condição, caso os mecanismos de eliminação não sejam o suficiente para reestabelecer o equilíbrio (Figura 5), a célula sofre danos oxidativos por mais tempo podendo sofrer lesões teciduais mais graves e morte da planta (GILL; TUTEJA, 2010).

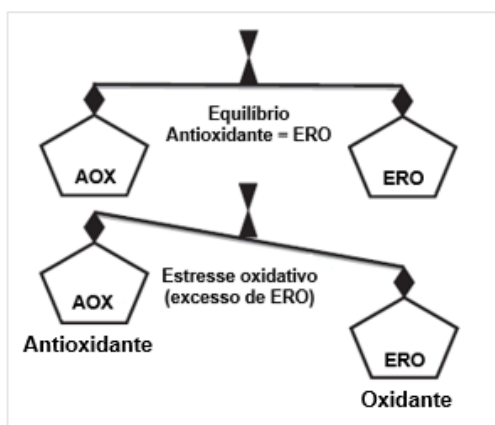


Figura 5: Balanço entre antioxidante e espécies reativas de oxigênio – ERO. (Fonte: Modificado a partir de Gill e Tujela, 2010).

A resposta da planta e seus componentes à ERO depende do tipo produzido, bem como da sua concentração, local de produção e interação com outras moléculas. Outros fatores que influenciam são o estágio de desenvolvimento e o histórico da célula vegetal a exposições anteriores a outros estresses (GECHEV *et al.*, 2006). No caso das sementes, as ERO são produzidas continuamente durante todo seu desenvolvimento, da embriogênese à germinação, e também durante o seu armazenamento. No entanto, é provável que ocorra acúmulo descontrolado durante o envelhecimento ou a dessecação de sementes, levando a danos oxidativos em uma ampla gama de biomoléculas e, finalmente, a necrose e morte celular (BAILLY; BOUTEAU; CORBINEAU, 2008).

Além disso, durante o armazenamento, as sementes passam por um processo de deterioração gradual e constante que depende do ambiente de conservação (temperatura, umidade e disponibilidade de oxigênio) tipo de embalagem e características da espécie. O processo deteriorativo durante o armazenamento está associado à produção de ERO, bem como a ativação de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos responsáveis pela remoção de radicais livres (PETROV *et al.*, 2015).

Os eventos bioquímicos e celulares desencadeados pela absorção e perda de água pelas sementes também são acompanhados por uma geração de ERO (BAILLY; BOUTEAU; CORBINEAU, 2008; WOJTYLA *et al.*, 2016). Nesse contexto, o processo de restrição hídrica durante a embebição ou o osmocondicionamento pode levar à produção e ativação de ERO e do sistema antioxidante (KUBALA *et al.*, 2015).

Dentre as ERO, o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) é caracterizado por possuir vida curta e por não atravessar biomembranas, podendo também ser desmutado em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 é moderadamente reativo com uma meia-vida relativamente longa e cujo pequeno tamanho permite-lhe atravessar membranas celulares e migrar em compartimentos diferentes. Além disso, pode inativar enzimas e percorrer livremente através das membranas, atuando também como um mensageiro na resposta de sinalização de estresse e indução de morte programada em células (MOLLER; JENSEN; HANSSON, 2007; PETROV *et al.*, 2015). O H_2O_2 também pode levar à produção de OH^{\cdot} (radical hidroxila), o oxidante mais reativo da família das ERO e considerado um dos radicais de iniciação da peroxidação lipídica (KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011).

Os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), ácido linoléico (18:2) e ácido linolênico (18:3) são os principais ácidos graxos presentes nas membranas das células. A

extensa peroxidação dos AGPI, provocada pelo ataque de $^1\text{O}_2$ e HO^\bullet , diminui a fluidez e aumenta o vazamento de eletrólitos através da membrana. Esse processo também causa danos secundários às suas proteínas e origina misturas complexas de hidroperóxidos lipídicos e aldeídos, entre eles o malondialdeído (MDA; Figura 6), que pode ser utilizado como indicador do estresse oxidativo celular (MOLLER; JENSEN; HANSSON, 2007).

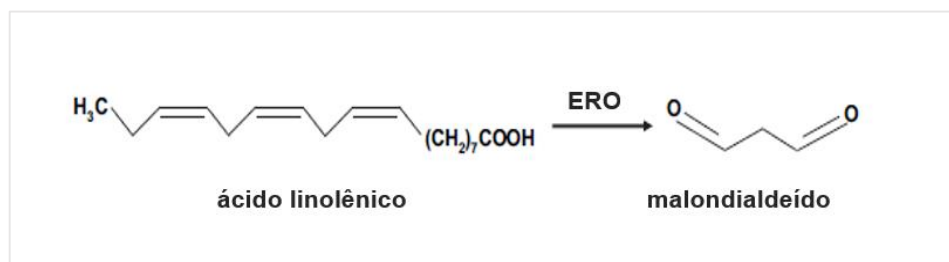


Figura 6. Oxidação de ácido graxo poliinsaturado (ácido linolênico) e formação da molécula de malondialdeído (MDA). (Fonte: Modificado a partir de Gill e Tujela, 2010).

3.5. Enzimas Antioxidantes: importância e função

Diante da maior produção de espécies reativas de oxigênio - ERO e considerando-se os prejuízos causados pelas mesmas, as plantas possuem mecanismos de defesa antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos que podem prevenir acúmulo de ERO e o estresse oxidativo extremo. Dentre os antioxidantes enzimáticos destacam-se: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), monodeidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR), glutathione redutase (GR) guaiacol peroxidase, peroxidase e glutathione-S-transferase (Figura 7). Já os antioxidantes não enzimáticos incluem ácido ascórbico (AA), glutathione (GSH), tocoferóis e compostos fenólicos (APEL; HIRT, 2004; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011).

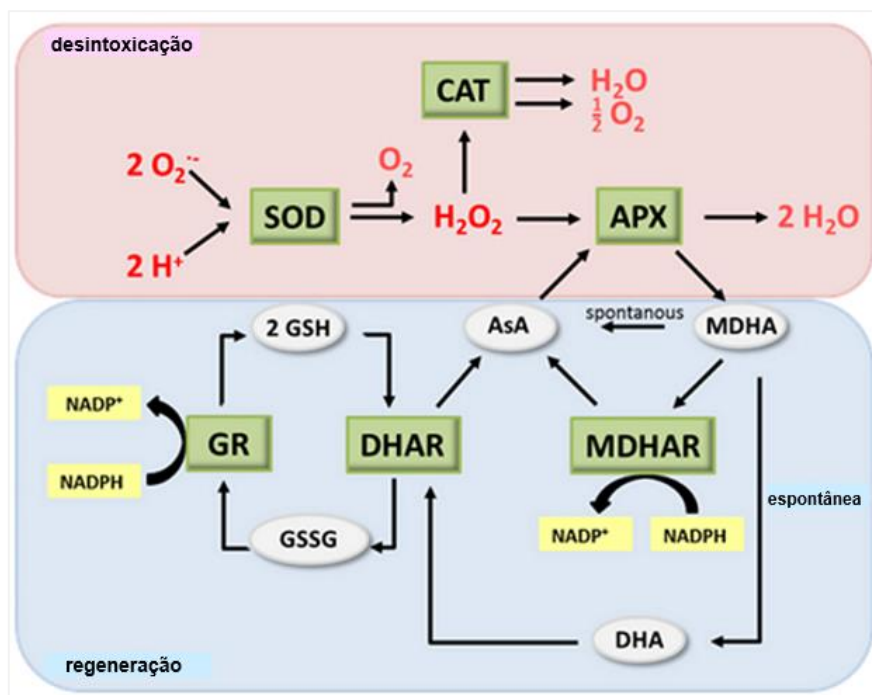


Figura 7. Principais mecanismos de defesa antioxidante enzimático em plantas. (Fonte: Adaptado de Groß *et al.*, 2013). SOD=superóxido dismutase, CAT=catalase, APX=ascorbato peroxidase, GR = glutaciona redutase, GSSG = glutaciona oxidada, GSH = Glutaciona reduzida, DHAR = dehidroascorbato redutase, MDHAR = monodehidroascorbato redutase, MDHA = monodehidroascorbato, AsA = Ascorbato, DHA = Dehidroascorbato redutase.

A avaliação de enzimas antioxidantes ou removedores de espécies reativas de oxigênio, como SOD, CAT e APX (Tabela 1), também são importantes para caracterização de lotes com diferentes níveis de deterioração e como marcadores moleculares do potencial fisiológico das sementes (HEBERLE, 2012). Já foi demonstrado que alterações de enzimas antioxidantes, como a SOD, podem ser utilizadas como potenciais marcadores bioquímicos para avaliação da qualidade de sementes de *R. communis* durante o armazenamento e envelhecimento (JESUS, 2016). Já em sementes de milho tratadas com inseticidas, as enzimas α -amilase, superóxido dismutase, catalase e álcool desidrogenase foram indicadas como marcadores da qualidade (OLIVEIRA, T., *et al.*, 2020). No mesmo trabalho, os autores demonstraram que enzimas α -amilase, superóxido dismutase e catalase tiveram menor expressão aos nove meses de armazenamento.

Tabela 1. Códigos enzimáticos, localização subcelular e reações catalisadas pelas enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase. (Fonte: modificado de Gill e Tuteja, 2010).

Antioxidante enzimático	Código da enzima	Localização*	Reação Catalisada
Superóxido dismutase	EC 1.15.1.1	clor., per., cit., mit.	$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow 2 H_2O_2 + O_2$
Catalase	EC 1.11.1.6	per., gliox., mit., cit.; clor.	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2} O_2$
Ascorbato Peroxidase	EC 1.11.1.11	mit., tilac., gliox., clor. cit.	$H_2O_2 + AA \rightarrow 2 H_2O + DHA$

*Clor. = cloroplasto; per. = peroxissomo; mit. = mitocôndria; gliox. = glioxissomo; cit. = citosol; tilac. = tilacoide.

Diversos estudos mostram que o processo de embebição em condições de restrição hídrica pode induzir a ativação do sistema antioxidativo de sementes de diferentes culturas (KUBALA *et al.*, 2015; NOUMAN *et al.*, 2014; ISLAM *et al.*, 2015). Kubala, Wojtyla e Garnczarska (2013) e Zhang *et al.*, (2015) mostraram, respectivamente, aumento da taxa de expressão dos genes APX, SOD e CAT em sementes de *Brassica napus* e plântulas de sorgo (*Sorghum bicolor*). Já em sementes de espinafre (*Spinacia oleracea*) e arroz (*Oryza sativa*), a pré-embebição com polietilenoglicol (PEG) promoveu ativação da enzima APX acompanhada pela repressão da atividade de SOD e CAT (CHEN; ARORA, 2011; SALAH, 2015). Souza *et al.*, (2016), verificaram que a melhora na germinação de sementes de *Physalis angulata*, bem como tolerância ao sal estão correlacionadas com o aumento da expressão dos genes APX (ascorbato peroxidase) em sementes, e dos genes GST (glutathione S-transferase), SOS1 (via hipersensível aos sais) e TXN (tioredoxina) em mudas.

Já foi demonstrado que diferentes condições de estresse, como tratamento com doses de Fe e o déficit hídrico por suspensão da irrigação, aumentaram as atividades de SOD, CAT, POX e APX em mudas de *S. terebinthifolia* (NUNES *et al.*, 2017; DOBBS; SANTOS; PITTARELLO, 2018). Porém, ainda são necessárias informações sobre a ativação dos mecanismos de defesa antioxidante, principalmente durante os processos iniciais da germinação.

3.5.1. Superóxido dismutase

A superóxido dismutase (SOD) é uma metaloenzima do sistema antioxidante enzimático intracelular, eficaz e presente em todos os organismos aeróbicos e componentes subcelulares suscetíveis ao estresse oxidativo. A SOD catalisa a

dismutação de radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$; tempo de vida curto) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2 ; ERO mais estável), atuando como primeira linha de defesa contra as ERO produzidas em resposta ao estresse abiótico (CHEN; ZHANG; SHEN, 2010; GILL *et al.*, 2015).

A metaloenzima SOD é o antioxidante enzimático intracelular mais eficaz presente em todos os compartimentos subcelulares propensos a oxidação mediada por ERO em organismos aeróbicos. Esta enzima é classificada pelos seus cofatores de metal, em três tipos: cobre/ zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD). Todas as formas de SOD são nuclearmente codificadas e direcionadas a seus respectivos compartimentos subcelulares (GILL; TUTEJA, 2010). Segundo Arora e Bhatlas (2015), a Cu/Zn-SOD está localizada principalmente nos cloroplastos, peroxissomos e citosol das células eucarióticas, Mn-SOD está presente nas mitocôndrias de células eucarióticas e citoplasma de células procarióticas, e a Fe-SOD ocorre principalmente nos procariotos e cloroplastos de plantas (Figura 8).

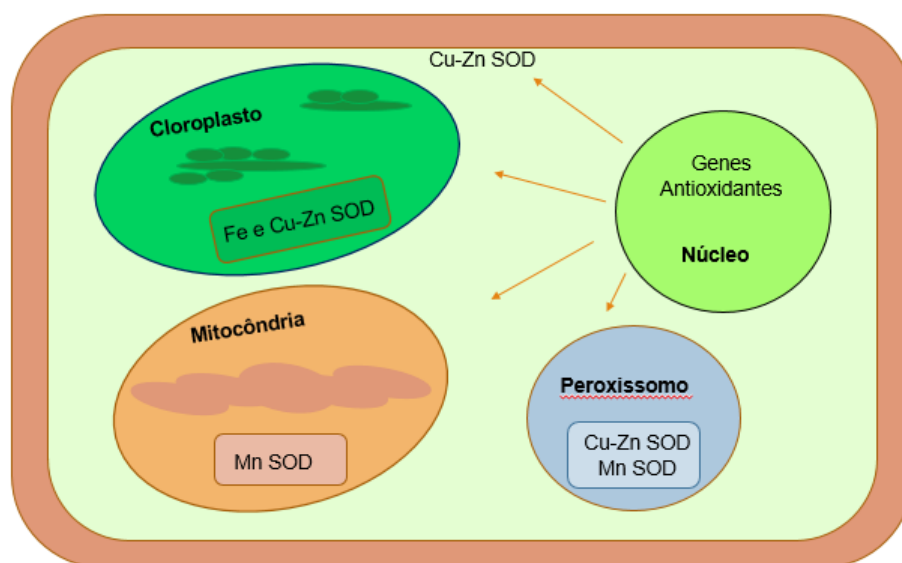


Figura 8. Localização das diferentes isoformas de superóxido dismutase em células vegetais. (Fonte: Adaptado de Gill *et al.*, 2015).

As isoformas de SOD já foram detectadas em raízes, folhas, frutos e sementes de muitas espécies vegetais sob várias condições de estresse abiótico, como seca, salinidade, temperatura extrema e presença de metais pesados, sugerindo que diferentes mecanismos possam estar envolvidos no reparo de várias lesões por estresse oxidativo (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977; KARUPPANAPANDIAN *et al.*,

2011; ASENSIO *et al.*, 2012; GILL *et al.*, 2015). As famílias de genes SOD são descritas para algumas plantas como *Arabidopsis thaliana* (7 genes; KLIEBENSTEIN; MONDE; LAST, 1998), arroz (8 genes; NATH *et al.*, 2014), sorgo (8 genes; FILIZ; TOMBULOĞLU, 2015), tomate (9 genes; FENG *et al.*, 2016) e mamona (8 genes; GOMES NETO *et al.*, 2018).

3.5.2. Catalase

A catalase (CAT) foi a primeira enzima antioxidante documentada e aparece em todos os procariontes e eucariontes. As diferentes formas atuam na conversão de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio, evitando que as células sofram danos oxidativos. O H_2O_2 é formado durante reações como dismutação de $O_2^{\bullet-}$ por atividade de superóxido dismutase (SOD), fotorrespiração, β -oxidação de ácidos graxos, decomposição induzida por prótons de $O_2^{\bullet-}$ e defesa contra patógenos. As catalases estão presentes nos principais sítios de produção de H_2O_2 , como peroxissomos, glioxissomos, mitocôndrias, citosol e cloroplastos (SHARMA; AHMAD, 2014). De acordo com uma classificação sugerida por Willekens *et al.*, (1995) são encontrados três tipos de catalases, Classe I, Classe II e Classe III, sendo estas especificamente expressas em tecidos fotossintéticos, vasculares e reprodutivos, respectivamente.

Esta enzima possui uma estrutura tetramérica em forma de haltere com quatro subunidades de monômero idênticas de 220.000 a 350.000 kD e é um removedor eficiente de ERO, por ter uma das maiores taxas de rotatividade entre todas as enzimas antioxidantes. O grupo prostético heme é o componente chave para a atividade enzimática. O grupo heme de cada unidade monomérica consiste em um átomo de ferro central ligado a um anel de protoporfirina (Figura 9). Foi relatado que uma molécula de catalase pode converter 6 milhões de moléculas de H_2O_2 em H_2O e O_2 por minuto (GILL; TUTEJA 2010; SHARMA; AHMAD, 2014).

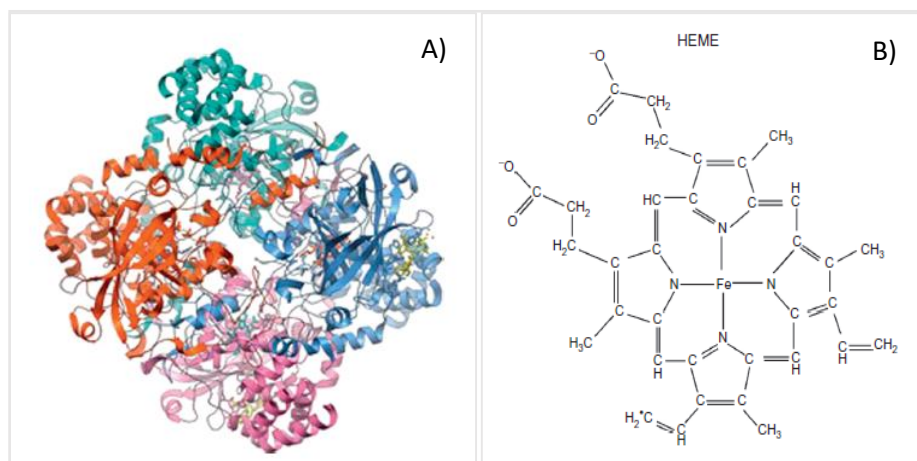


Figura 9. A) Estrutura tridimensional da Catalase. B) Grupo heme único de catalase. (Fonte: Adaptado de Sharma e Ahmad, 2014).

A presença de múltiplas isoenzimas da catalase sugere sua versatilidade estrutural e funcional em uma variedade de espécies vegetais, sendo a expressão dos genes sujeita a vários fatores ambientais exógenos (SHARMA; AHMAD, 2014). O aumento da atividade da CAT é considerado um traço adaptativo, que possivelmente ajuda a superar os danos no metabolismo dos tecidos, reduzindo os níveis tóxicos de H_2O_2 (KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011).

3.5.3. Ascorbato peroxidase:

Ascorbato peroxidase (APX) pode desempenhar o papel mais importante na remoção de ERO, protegendo as células de plantas superiores, algas e outros organismos. A APX está envolvida na decomposição de H_2O_2 em H_2O no ciclo ascorbato-glutationa (ASA-GSH), utilizando o ascorbato como substrato e catalisando elétrons para H_2O_2 , produzindo dehidroascorbato (DHA) e água (Figura 10). O ciclo ASA-GSH é um caminho eficiente para as células vegetais eliminarem o H_2O_2 em certos compartimentos celulares, onde esse metabólito é produzido e a enzima catalase não está presente. A família APX está presente nas mitocôndrias, tilacóides, glioxissomos, cloroplastos e citosol (GILL; TUTEJA 2010; HASANUZZAMAN *et al.*, 2012). As isoenzimas variam em uma faixa de massa molecular entre 27 e 40 kDa (ASADA, 1992).

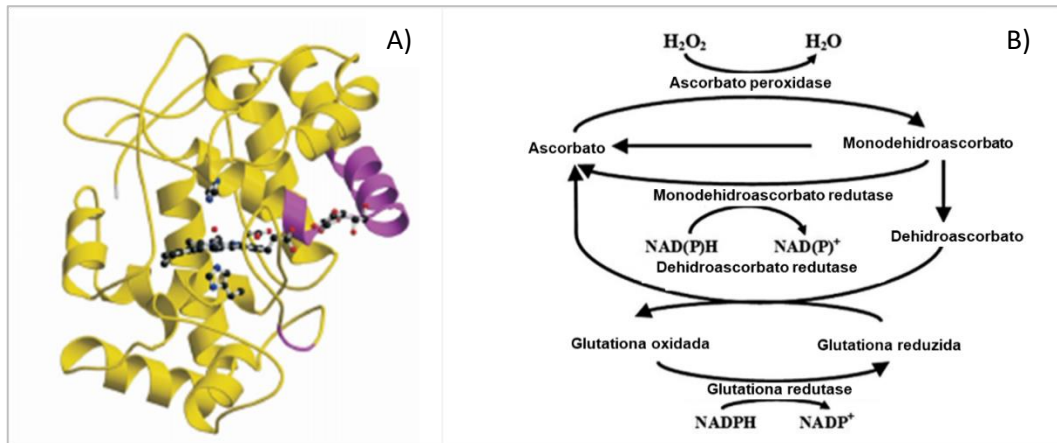


Figura 10: A) Representação da estrutura geral do complexo APX-Ascorbato. B) Ciclo da ascorbato-glutationa. (Fonte: Modificado a partir de Sharp *et al.*, 2003).

A APX tem uma afinidade maior para H₂O₂ do que CAT, por isso, pode ter papel crucial no gerenciamento de ERO durante o estresse (GILL; TUTEJA, 2010). A expressão de APX em plantas foi demonstrada durante diferentes condições estressantes, como resistência ao déficit hídrico e estresse salino, por exemplo, em cloroplastos de *Nicotiana tabacum* (BADAWI *et al.*, 2004), em *Phaseolus vulgaris* (EYIDOGAN; OZ, 2005) e em espécies de citros (HOSSAIN *et al.*, 2009).

Referências Bibliográficas:

AMORIN, M.M.R.; SANTOS, L.C. Tratamento de vaginose bacteriana com gel vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 25, p. 95-102, 2003.

ANTUNES, C.G.C.; DE CASTRO, R.D.; NETO V.G.; MARQUES, A.C.S.S.; TAKAHASHI, D, FERNANDEZ L.G., CRUZ C.R.P.; TOOROP, P., AFLITOS, S.A.; HILHORST H.W.M.; LIGTERINK, W. Osmopriming-associated genes in *Poincianella pyramidalis*, **Environmental and Experimental Botany**, v. 183, 104345, 2021.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

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 e Behavior**, v.10, n. 10, p. 1-28, 2015.

ASENSIO, A.C.; GIL-MONREAL, M., PIRES, L.; GOGORCENA, Y., APARICIO-TEJO, P. M.; MORAN, J. F. Two Fe-superoxide dismutase families respond differently to stress and senescence in legumes. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 13, p. 1253-1260, 2012.

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

BADAWI, G.H.; YAMAUCHI, Y.; SHIMADA, E.; SASAKI, R.; KAWANO, N. TANAKA, K.; TANAKA, K. Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts, **Plant Science**, v. 166, p. 919-928, 2004.

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

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. Breaking seed dormancy during dry storage: a useful tool or major problem for successful restoration via direct seeding? **Plants**, v. 9, p. 636-653, 2020.

BERTOLDI, M.C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleoresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa, 2006, 96p. Tese de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3^o ed. New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer; 2013. 392 p.

BONA, C.; SILVA, M.Y.B.; REZENDE, I.M.; SANTOS, G.; SOUZA, L.A.; INCKOT, R.C. Efeito do solo contaminado com óleo diesel na estrutura da raiz e da folha de plântulas de *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae) e *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 2, p. 277-285, 2011.

BORGES, E.E.L.; PEREZ, S.C.J.G.A.; BORGES, R.C.G.; REZENDE, S.T.; GARCIA, S.R. Comportamento fisiológico de sementes osmocondicionadas de *Platymiscium pubescens* Micheli (tamboril-da-mata). **Revista Árvore**, v. 26, n. 5, p. 603-613, 2002.

BORTOLUCCI, W.C.; OLIVEIRA, H.L.M.; SILVA, E.S.; CAMPO, C.F.A.A.; GONÇALVES, J.E.; PIAU JUNIOR, R.; COLAUTO, N.B.; LINDE, G.A.; GAZIM, Z.C.; **Bioscience Journal**, v. 35, n. 5, p. 1575-1587, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monografia da espécie *Schinus terebinthifolius* RADDI (aroeira-da-praia)**. Brasília, 2014.

BRITO, C.D.; LOUREIRO, M.B.; SOUZA JÚNIOR, A.P.; FERNANDEZ, L.G.; CASTRO, R.D. Morphophysiological profile of *Jatropha curcas* L. fruits and seeds maturation. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 3615-3628, 2015.

BULLA, M.K; HERNANDES L.; BAESSO, M.L.; NOGUEIRA, A.C.; BENTO, A.C.; BORTOLUZZI, B.B; SERRA L.Z.; CORTEZ D.A. Evaluation of Photoprotective Potential and Percutaneous Penetration by Photoacoustic Spectroscopy of the *Schinus terebinthifolius* Raddi Extract. **Photochemistry and Photobiology**, v. 91, n. 3, p. 558–566, 2015.

CARDOSO, N. S. N.; OLIVEIRA, L.M.; FERNANDEZ, L.G.; PELACANI, C.R.; SOUZA, C.L.M.; OLIVEIRA, A. R. M. F. Osmocondicionamento na germinação de sementes, crescimento inicial e conteúdo de pigmentos de *Myracrodruon urundeuva* fr. Allemão. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p. 457, 2012.

CARMELLO-GUERREIRO S.M.; PAOLI, A.A.S. Morfologia e anatomia da semente de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em desenvolvimento. **Revista Brasileira de Botânica**, vol.22 n.1, São Paulo, 1999.

CARRASCO, G.P.; CASTANHEIRA, A.S. Teste de substrato para produção de *Rhizophora mangle* sob condições de viveiro florestal. **Revista Arquivo do Instituto Biológico**, v. 71, p. 188-337, 2004.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 588p.

CARVALHO, M.G.; MELO A.G.; ARAGÃO C.F.; RAFFIN F.N.; MOURA T.F. *Schinus terebinthifolius* Raddi: Chemical composition, biological properties and toxicity. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 158-69, 2013.

CARVALHO, R.O.; MACHADO, M.B.; LOPES, R.S.; SCHERER, V.S.; CRUZ, W.A.; LUZ, M.L. G S.; LUZ, C.A.S.; GADOTTI, G. I.; GOMES, M. C. 2015. Agroindustry for Drying Pink Pepper (*Schinus terebinthifolius*). **Agricultural Engineering**

International: CIGR Journal, Special issue, 2015: 18th World Congress of CIGR: p. 177-180.

CHEN, Q.; ZHANG, M.; SHEN, S. Effect of salt on malondialdehyde and antioxidant enzymes in seedling roots of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33 p. 273-278, 2010.

CHEN, K.; ARORA, R. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, postpriming germination, and seedling establishment in spinach (*Spinacia oleracea*). **Plant Science**, v. 180, p. 212-220, 2011.

CHHABRA, R.; SINGH, T. Seed Aging, Storage and Deterioration: An Irresistible Physiological Phenomenon. **Agricultural Reviews**, v. 40, p. 234-238, 2019.

COLE, E. R.; SANTOS, R. B.; JÚNIOR, V. L.; MARTINS, J.D. L.; GRECO, S. J.; CUNHA NETO, A. Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 821-828, 2014.

COSTA, C.O.; RIBEIRO P.R.; CASTRO R.D.; FERNANDEZ L.G. Evaluation of antioxidant activity in commercial samples of *Schinus terebinthifolius* (aroeira vermelha 317). **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 12, n. 3, p. 312-317, 2013.

COSTA, C.O.; RIBEIRO, P.R.; LOUREIRO, M.B.; SIMÕES, R.C.; CASTRO, R.D.; FERNANDEZ, L.G. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of extracts prepared from different tissues of *Schinus terebinthifolius* Raddi that occurs in the coast of Bahia, Brazil. **Pharmacognosy Magazine**, v. 11, p. 607–614, 2015.

DE CASTRO, R.D.; HILHORST, H.W.M. Embebição e Reativação do Metabolismo. In: **Germinação: do básico ao aplicado** (A. Gui Ferreira; Borghetti, F., orgs.) Artmed, Porto Alegre, p. 149-162. 2004.

DI GIROLAMO G.; BARBANTI L. Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming effectiveness. **Italian Journal of Agronomy**, v. 7, p. 8-18, 2012.

DOBBSS, L.B.; SANTOS, T.C.; PITTARELLO, M. Alleviation of iron toxicity in *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) by humic substances. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 9416–9425, 2018.

DURIGAN, G.; FIGLIOLIA, M.B.; KAWABATA, M.; GARRIDO, M.A.O.; BAITELLO, J. B. **Sementes e mudas de árvores tropicais**. São Paulo: Páginas & Letras Editora e Gráfica, 2. ed. São Paulo, SP. 2002. 65p.

EBONE, L.A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 145, p. 34-42, 2019.

EL-MASSRY, K.F.; EL-GHORAB, A.H.; SHAABAN, H.A.; SHIBAMOTO, T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *S. terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 5265-5270, 2009.

ELSHARKAWY M.M.; EL-SAWY M.M. Control of Bean common mosaic virus by plant extracts in bean plants. **International Journal of Pest Management**, v. 61, n. 1, p. 54-59, 2015.

ENNIGROU, A.; CASABIANCA, H.; LAARIF, A.; HANCHI, B.; HOSNI, K. Maturation-related changes in phytochemicals and biological activities of the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruits. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 407–415, 2017.

ESTEVIÃO, L.R.M.; MEDEIROS, J.P.; SIMÕES, R.S.; ARANTES, R.M.E.; RACHID, M. A.; SILVA, R. M. G.; MENDONÇA, F. S.; NETO, J. E. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 289-295, 2015.

EYIDOGAN, F.; OZ, M.T. Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 29, p. 485-493, 2005.

FARRANT J.M.; MOORE J.P. Programming desiccation-tolerance: from plants to seeds to resurrection plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v.14, n.3, p.340-345, 2011.

FEIJÓ, N.S.A.; MIELKE, M.S.; GOMES, F.P. Growth and photosynthetic responses of *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms and *Schinus terebinthifolius* Raddi seedlings in dense shade. **Agroforest Syst.** v. 77, p. 49, 2009.

FENG, K.; YU, J.; CHENG, Y., RUAN, M.; WANG, R.; YE, Q.; ZHOU, G.; LI, Z.; YAO, Z.; YANG, Y.; ZHENG, Q.; WAN, H. The SOD Gene Family in Tomato: Identification, Phylogenetic Relationships, and Expression Patterns. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p.1-12, 2016.

FERREIRA, R.A.; SANTOS, P.L.; ARAGÃO, A.G.; SANTOS, T.I.S.; SANTOS NETO, E.M.; REZENDE, A.M.S. Semeadura direta com espécies florestais na implantação de mata ciliar no Baixo São Francisco em Sergipe. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 81, p. 37-46, 2009.

FERREIRA, R.A.; SANTOS, P.L. Direct sowing: an alternative to the Restoration of Ecosystems of Tropical Forests. In: Sudarshana, P.; Nageswara-Rao, M.; Soneji, J.R. (Org.). **Tropical Forests**. p. 333-348. 2012.

FEUERISEN, M.M.; HOPPE, J.; ZIMMERMANN, B.F.; WEBER, F.; SCHULZE-KAYSERS, N.; SCHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) Exocarp. **Journal of Food Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 6219-6226, 2014.

FINCH-SAVAGE W.E.; BASSEL, G.W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 567-591, 2015.

FILIZ, E.; TOMBULOĞLU, H. Genome-wide distribution of superoxide dismutase (SOD) gene families in *Sorghum bicolor*. **Turkish Journal of Biology**, v. 39, p. 49-59, 2015.

FONSECA, D.A.; BACKES, A.R.; ROSENFELD, M.F.; OVERBECK, G.E.; MÜLLER, S.C. Avaliação da regeneração natural em área de restauração ecológica e mata ciliar de referência. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 521-534, 2017.

GAMIR, J.; BEL, P. S.; FLORS, V. Molecular and physiological stages of priming: how plants prepare for environmental challenges. **Plant Cell Reports**. v. 33, p.1935-1949, 2014.

GECHEV, T.S.; VAN BREUSEGEM, F.; STONE, J.M.; DENEV, I.; LALOI, C. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. **BioEssays**. v. 28, p. 1091-1010, 2006.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

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.

GILL, S.S.; ANJUM, N.A.; GILL, R.; YADAV, S.; HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M., MISHRA, P.; SABAT, S.C.; TUTEJA, N. Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 10375-10394, 2015.

GOMES NETO, V.; RIBEIRO, P.R.; DEL-BEM, L.E.; BERNAL, D.T.; LIMA S.T.C.; LIGTERINK, W.; FERNANDEZ, L.G.; DE CASTRO, R.D. Characterization of the superoxide dismutase gene family in seeds of two *Ricinus communis* L. genotypes submitted to germination under water restriction conditions, **Environmental and Experimental Botany**, v. 155, p. 453-463, 2018.

HASANUZZAMAN M.; HOSSAIN M. A.; DA SILVA J. A. T.; FUJITA M. Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor, in: **Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies**, eds Bandi, V., Shanker A. K., Shanker C., Mandapaka M. (Berlin: Springer), p. 261-316, 2012.

HAY, F.R.; PROBERT, R.J. Advances in seed conservation of wild plant species: a review of recent research. **Conservation Physiology**, v. 1, 2013.

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.

HELL, A.F.; KRETZSCHMAR, F.S.; SIMÕES, K.; HEYER, A.G.; BARBEDO, C.J.; BRAGA, M.R. CENTENO, D.C. Metabolic Changes on the Acquisition of Desiccation

Tolerance in Seeds of the Brazilian Native Tree *Erythrina speciosa*. **Frontiers in Plant Science**, v. 23, 2019.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R. Accelerated Germination by Osmotic Seed Treatment. **Nature**, v. 246, p. 42-44, 1973.

HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. **Plant Journal**, v. 61, p. 1041-1052, 2010.

HOSSAIN, Z.; LÓPEZ-CLIMENT, M.F.; ARBONA, V.; PÉREZ-CLEMENTE, R.M.; GÓMEZ-CADENAS, A. Modulation of the antioxidant system in *citrus* under waterlogging and subsequent drainage. **Journal of Plant Physiology**, v.166, p. 1391-1404, 2009.

IBRAHIM, M.; FOBBE, R.; NOLTE, J. Chemical composition and biological studies of Egyptian *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi. oils. **Bull Faculty of Pharmacy**, n. 42, p. 289-296, 2004.

ISLAM, F.; YASMEEN, T.; ALI, S.; ALI, B.; FAROOQ, M.A.; GILL, R.A. Priming-induced antioxidative responses in two wheat cultivars under saline stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, p. 153, 2015.

ISTA. **International rules for seed testing**. Basserdorf, Switzerland: International Seed Testing Association, 2015.

JASPERS, P.; KANGASJARVI, J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. **Plant Physiology**, v. 138, p. 405-413, 2010.

JESUS, N.B.; GOMES, L.J., Importância Socioeconômica. In: GOMES; L.J.; SILVA-MANN, R.; MATTOS, P.P. **Pensando a biodiversidade**: aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). São Cristóvão: Editora UFS, 2013.

JESUS. N.B.; GOMES, L.J. Cadeia produtiva da pimenta-rosa a partir do Baixo São Francisco, Sergipe/Alagoas. In: Silva, Valdeline A.; Santos, Alyson, L.; Albuquerque, Ulysses P. (Org.). **Etnobiologia e Etnoecologia**: pessoas & natureza na América Latina. Ed 1. Recife: NUPEEA, v. 1, p. 263-290, 2010.

JESUS, N.B.; SOUZA, A.L.G.; SANTOS, S.L.M.; GOMES, L.J. Cadeia produtiva. In: GOMES, L.J.; SILVA-MANN, R.; MATTOS, P.P.; RABBANI, A.R.C. **Pensando a biodiversidade**: aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi.). São Cristóvão: Editora UFS, 2013. 372 p.

JESUS, R. M.; ROLIM, S. G. Experiências relevantes na restauração da Mata Atlântica. In: GALVÃO, A. P. M.; SILVA, V. P. (Eds.). **Restauração florestal: fundamentos e estudos de caso**. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. p. 59-86.

JESUS, T.S.R. **Marcadores fisiológicos e bioquímicos da qualidade de sementes de *Ricinus communis* L. submetidas a diferentes condições de armazenamento**. 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), 2016.141 f. Salvador, 2016.

JOSÉ, A.C.; DAVIDE, A.C.; OLIVEIRA, S.L. Produção de mudas de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para recuperação de áreas degradadas pela mineração de bauxite. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 2, p. 187-196, 2005.

KAGEYAMA, P.; GANDARA, F.B. Recuperação de áreas ciliares. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. F. **Matas ciliares: Conservação e Recuperação**. 2. ed. São Paulo, Universidade de São Paulo, FAPESP, 2004. p. 249-269.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.C.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W., Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709-725, 2011.

KIMBINZA, S.; BAZIN, J.; BAILLY, C.; FARRANT, J.M.; CORBINEAU, F.; BOUTEAU, H. M. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. **Plant Science**, v. 181, n. 3, p. 309-315, 2011.

KISSMANN, C.; SCALON, S.P.Q.; SCALON FILHO, H.; VIEIRA, M.C. Biorregulador e pré-condicionamento osmótico na germinação de sementes e no crescimento inicial da muda de carobinha (*Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença) – Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 1, p. 58-67, 2011.

KLIEBENSTEIN, D.J.; MONDE, R. A.; LAST, R.L., 1998. Superoxide dismutase in *Arabidopsis*: an eclectic enzyme family with disparate regulation and protein localization. **Plant Physiology**, v. 118, p. 637–650.

KRANNER, I.; BECKETT, R.P.; MINIBAYEVA, F.V.; SEAL, C.E. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. **New Phytologist**, v. 188, p. 655-673, 2010.

KUBALA, S.; WOJTYLA, Ł.; GARNCZARSKA, M. Seed priming improves salt stress tolerance during germination by modulation of antioxidative capacity. In: Proceedings of the 11th International POG Conference Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants, Warszawa, **BioTechnologia**, v. 94, p. 223, 2013.

KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M.; WOJTYLA, Ł.; CLIPPE, A.; KOSMALA, A.; ŻMIENKO, A.; LUTTS, S.; QUINET, M. Deciphering priming-induced improvement of rapeseed (*Brassica napus* L.) germination through an integrated transcriptomic and proteomic approach. **Plant Science**. v. 231, p. 94-113, 2015.

KUKI, K.N.; OLIVA, M.A.; COSTA, A.C. The Simulated Effects of Iron Dust and Acidity During the Early Stages of Establishment of Two Coastal Plant Species. **Water Air Soil Pollut**, v. 196, p. 287-295, 2009.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Rima: São Carlos. 2006. 531 p.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 17, n. 2, 2004.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v. 1, 5^o Ed., 2008, 384p.

LUCENA, P. L. H.; FILHO, J. M. R.; MAZZA, M.; CRECZKO, G.; DIETZ, U. A.; NETO, M. A. C.; HENRIQUES, G. S.; SANTOS, O. J.; THIELE, E. S. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 46-51, 2006.

LUTTS, S.; BENINCASA, P.; WOJTYLA, L.; KUBALA, S.; PACE, R.; LECHOWSKA, K.; QUINET, M.; GARNCZARSKA, M. Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. In: Susana Araujo S, Balestrazzi A (eds) **New Challenges in Seed Biology**—basic and translational research driving seed technology. InTech, Rijeka, 2016.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015. 659p.

MEDEIROS, A.C.; ZANON, A. Conservação de sementes de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* RADDI). **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 36, p.11-20, 1998.

MENDONÇA, A.V.R.; COELHO, E.A.; SOUZA, N.A.; BALBINOT, E.; SILVA, R.F.; BARROSO, D.G. Efeito da hidratação e do condicionamento osmótico em sementes de pau-formiga. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 2, p. 111-116, 2005.

MISSIO, E.L.; NUNES, U.R.; SALDANHA, C.W.; MALDANER, J.; STEFFEN, G. P. K.; MORAIS R. M. Seeds of *Peltophorum dubium* submitted to osmotic conditioning increases germination and vigor. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 38, p. 1-9, 2018.

MOLLER, I.M.; JENSEN, P.E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459-481, 2007.

NASCIMENTO, W.M.; HUBER, D.J.; CANTLIFFE, D.J. Carrot seed germination and respiration at high temperature in response to seed maturity and priming. **Seed Science and Technology**. v. 41, p. 164-169, 2013.

NATH, K.; KUMAR, S.; POUDYAL, R.S.; YANG, Y.N.; TIMILSINA, R.; PARK, Y.S.; NATH, J.; CHAUHAN, P.S.; PANT, B.; LEE, C.H. Developmental stage-dependent differential gene expression of superoxide dismutase isoenzymes and their localization and physical interaction network in rice (*Oryza sativa* L.). **Genes and Genomics**, v. 36, p. 45-55, 2014.

NEVES, E.J.M.; SANTOS, A.M.; GOMES, J.B.V.; RUAS, F.G.; VENTURA, J.A. **Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para produção de pimento rosa**. Colombo: Embrapa Florestas, 2016. 10p. (Documentos, 294).

NOUMAN, W.; BASRA, S.M.A.; YASMEEN, A.; GULL, T.; HUSSAIN, S.B.; ZUBAIR M.; GUL, R. Seed priming improves the emergence potential, growth and antioxidant system of *Moringa oleífera* under saline conditions. **Plant Growth Regulation**. v. 73, p. 267-278, 2014.

NUNES, D.P.; SCALON, S.P.Q.; DRESCH, D.M.; GORDIN, C.R.B. Photosynthetic and enzymatic metabolism of *Schinus terebinthifolius* Raddi. seedlings under water déficit. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 6, p. 676-682, 2017.

PAGANI, A.A.C.; CARNELOSSI, M.A.G.; SOUZA, A.L.G.; SOUZA, D.S.; BATISTA, R.A. Características nutricionais e físico-químicas. In: PAGANI, A.A.C. (Ed.). **Pensando a Biodiversidade: aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. São Cristóvão/SE: Editora UFS, led, 2013, p. 263-273.

PAPARELLA, S.; ARAÚJO, S.S.; ROSSI, G.; WIJAYASINGHE, M.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI A. Seed priming: state of the art and new prospectives. **Plant Cell Reports**. v. 34, p. 1281-1293, 2015.

PAWLOWSKI Â.; KALTCHUK-SANTOS E.; ZINI C.A., CARAMÃO E.B.; SOARES G.L.G. Essential oils of *Schinus terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae): Mitodepressive and aneugenic inducers in onion and lettuce root meristems. **South African Journal of Botany**. v. 80 p. 96-103, 2012.

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

PREFEITURA DA CIDADE DE SALVADOR. **Manual Técnico de Arborização Urbana de Salvador com espécies nativas da Mata Atlântica**. Salvador, p. 167. 2017.

PORTO, E.L.N.; LIMA, F.F.; SOUSA, R.M.; BANHARA, D.G.A; MENDONÇA, W.C.B.; HONORATO, C.A. *Schinus terebinthifolius* Raddi pepper oil used as na addictive in *Hyphessobrycon eques steindachner* fish diet. Research, **Society and Development**, v. 9, n. 6, 2020.

OLIVEIRA JUNIOR, L.F.G.; SANTOS, R.B.; REIS, F.O.; MATSUMOTO, S.T.; BISPO, W.M.S.; MACHADO, L.P.; OLIVEIRA, L.F.M. Efeito fungitóxico do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 150–157, 2013.

OLIVEIRA, F.T.G.; VITÓRIA, R.Z.; POSSE, S.C.P.; ARANTES, S.D.; SCHMILDT, O.; VIANA, A.; MALIKOUSKI, R.G., BARROS, B. L. A. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira em função das condições de armazenamento. **Nucleus**. v.15, n. 2, p. 567-574, 2018.

OLIVEIRA, V.S.; AUGUSTA, I.M.; BRAZ, M.V.D.C.; RIGER, C.J.; PRUDÊNCIO, E.R.; SAWAYA, A.C.H.F.; SAMPAIO, G.R.; TORRES, E.A.F.D.S.; SALDANHA, T.

Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 15, n. 315, 126274, 2020.

OLIVEIRA, T.L.; PINHO, R.G.V.; SANTOS, H.O.; SILVA, K.M.J.; PEREIRA, E.M.; SOUZA, J.L.D. Biochemical changes and physiological quality of corn seeds subjected to different chemical treatments and storage times. **Journal of Seed Science**, v. 42, p. 38, 2020.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; NOGUEIRA, E.S.; PEIXOTO, M.C.; REIS, L.L. Estado da arte da produção de sementes de espécies florestais na Mata Atlântica. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FREIRE, J.M.; LELES, P.S.S.; BREIER, T.B. **Parâmetros técnicos para produção de sementes florestais**. Seropédica: EDUR, 2007. 186p.

RIBAS, M.O.; SOUZA, M.H.; SARTORETTO, J.; LANZONI, T.A.; NORONHA, L.; ACRA, L.A. Efeito da *Schinus terebinthifolius* RADDI sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. **Revista Odonto Ciência**, v. 21, n. 53, p. 245-252, 2006.

RIBEIRO, L.P.; LEITE FILHO, A.T.; SILVA, L.B.J.; SILVA, V.F.; BORGES, E.E.L. Physiological and biochemical changes in brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) seeds during storage. **Revista Árvore**, v. 42, n. 1, e420105, 2018.

ROCHA, P.S.; CAMPOS, J.F.; NUNES-SOUZA, V.; VIEIRA, M.C.; BOLETI, A.P.A.; RABELO, L.A.; SANTOS, E.L.; SOUZA, K.P. Antioxidant and protective effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi against doxorubicin-induced toxicity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 184, p. 869-884, 2017.

RORATO, D.G.; M.M.; ARAUJO, L.A.; TABALDI, F.; TURCHETTO, A.M. GRIEBELER; BERGHETTI, Á.L.P.; BARBOSA, F.M. Tolerance and resilience of forest species to frost in restoration planting in southern Brazil. **Restoration Ecology**, v. 26, n. 3, p. 537-542, 2018.

SALAH, S.M.; YAJING, G.; DONGDONG, C.; JIE, L.; AAMIR N.; QIJUAN, H.; WEIMIN, H.; MINGYU, N.; JIN, H. Seed priming with polyethylene glycol regulating the physiological and molecular mechanism in rice (*Oryza sativa* L.) under nano-ZnO stress. **Scientific Reports**, v. 5, 14278, 2015.

SANTANA, J.S; SARTORELLI, P.; LAGO, J.H.G. Isolamento e avaliação do potencial citotóxico de derivados fenólicos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**, v. 35, p. 2245-2248, 2012.

SANTOS, M.C.A.; AROUCHA, E.M.M.; SOUZA, M.S.; SILVA, R. F.; SOUSA, P.A. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 2, p. 1-6, 2008.

SERENIKI, A.; MEDEIROS, C.F.B.L.; SILVA, S.N.; SILVA, J.B.R.; PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; SILVA, J.R.; ALVES, L.D.S.; SMAILI, S.S.; WANDERLEY, A.G.; LAFAYETTE, S.S.L.; *Schinus terebinthifolius* administration prevented behavioral

and biochemical alterations in a rotenone model of Parkinson's disease, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 240-245, 2016.

SHARMA, I.; AHMAD, P. **Catalase. Oxidative Damage to Plants**, In: Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling, p. 131-148, 2014.

SILVA, M.M.; IRIGUCHI, E.K.K.; KASSUYA, C.A.L.; VIEIRA, M.C.; FOGLIO, M.A.; CARVALHO, J.E.; RUIZ, A.L.T.G.; SOUZA, K.P.; FORMAGIO, A.S.N. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 445-452, 2017.

SILVA, E., GUILHERME M.F., OLIVEIRA H., VIANA Z., SANTOS, V.L. Caracterização morfológica e efeitos ecotoxicológicos do chumbo na germinação de sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 84, p. 1-7, 2017.

SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R.A.; RABBANI, A.R.C.; OLIVEIRA, A.S.; SOUZA, E.M. Qualidade de Sementes. In: Gomes; L.J.; Silva-Mann, R.; Mattos, P.P. **Pensando a biodiversidade: aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. São Cristóvão: Editora UFS, 2013.

SOUZA, P.A.; VENTURINI, N.; MACEDO, R.L.G.; ALVARENGA, M.I.N. DA SILVA, V.F. Estabelecimento de espécies arbóreas em recuperação de área degradada pela extração de areia. **Cerne**, v. 7, p. 43-52, 2001.

SOUZA, D.C.L.; GOMES, L.J.; BLANK, A.F.; GOIS, I.B.; PEREIRA, G.S.; ALVES, P.B.; SILVA-MANN, R. Characterization of wild genotypes of Aroeira: subsidy for plant breeding. **Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development**. v. 6, p. 39-49, 2014.

SOUZA, M.O.; PELACANI, C.R.; WILLEMS, L.A.J.; DE CASTRO, R.D.; HILHORST, H.W.M.; LIGTERINK, W. Effect of osmopriming on germination and initial growth of *Physalis angulata* L. under salt stress and on expression of associated genes. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, p. 503-516, 2016.

SUNG, Y.; CANTLIFFE, D.J.; NAGATA, R.T.; NASCIMENTO, W.M. Structural changes in lettuce seed during germination at high temperature altered by genotype, seed maturation temperature and seed priming. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 133, p. 300-311, 2008.

SUN, H.; LIN, L.; WANG, X.; WU, S.; WANG, X. Ascorbate-glutathione cycle of mitochondria in osmoprimed soybean cotyledons in response to imbibitional chilling injury. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 226-232, 2011.

TANOUE, G.; FOTOPOULOS, V.; MOLASSIOTIS, A. Priming against environmental challenges and proteomics in plants: update and agricultural perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 216, 2012.

TOTTI, L.C.; MEDEIROS, A.C.S. **Maturação e Época de Colheita de Sementes de Aroeira-vermelha. Comunicado Técnico.** Colombo-PR, Dezembro, 4p. 2006.

ULIANA, M.P.; FRONZA, M.; SILVA, A.G.; VARGAS, T.S.; ANDRADE, T.U.; SCHERER, R. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 235-240, 2016.

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

VENTURA, L.; DONA, M.; MACOVEI, A.; CARBONERA, D.; BUTTAFAVA, A.; MONDONI, A.; ROSSI, G.; BALESTRAZZI, A. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 60, p. 196-206, 2012.

VILLELA, F.A.; BECKERT, O.P. Potencial osmótico de soluções aquosas de polietilenoglicol 8000. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 267-275. 2001.

VITÓRIA, R.Z.; OLIVEIRA, F.T.G.; POSSE, S.C.P.; ARANTES, S.D.; SCHMILDT, O.; VIANA, A.; MALIKOUSKI, R.G.; BARROS, B.L.A. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira em função da maturação dos frutos sob diferentes temperaturas de germinação. **Nucleus**, v. 15, n. 2, 2018.

WAHID, A.; NOREEN, A.; BASRA, S. M. A.; GELANI, S.; FAROOQ, M. Priming-induce metabolic changes in sunflower (*Helianthus annuus*L.) achene improve germination and seedling growth. **Botanical Studies**, v. 49, n. 2, p. 343-350, 2008.

WOJTYLA, Ł.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers Plant Science**. v. 7, p. 66, 2016.

ZHANG, F.; YU, J.; JOHNSTON, C.R.; WANG, Y.; ZHU, K.; LU, F.; ZHANG, Z.; ZOU J. Seed priming with polyethylene glycol induces physiological changes in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) seedlings under suboptimal soil moisture environments. **PLoS One**. v. 10, e0140620, 2015.

ZHANG, K.; ZHANG, Y.; SUN, J.; MENG, J.; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 475-485, 2021.

4. CAPÍTULO I: ESTÁDIO DE MATURAÇÃO, SECAGEM E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Schinus terebinthifolia*

4.1. INTRODUÇÃO

A espécie *Schinus terebinthifolia* (Anacardiaceae), conhecida popularmente como aroeira-vermelha ou pimenta-rosa, possui características que justificam seu uso na arborização urbana, na recuperação de áreas degradadas e em programas de reflorestamento (JOSÉ; DAVIDE; OLIVEIRA, 2005; FONSECA *et al.*, 2017). Os seus frutos de cor vermelha ou rosada, adocicados e aromáticos possuem propriedades nutricionais e são presentes na cozinha do mundo inteiro, principalmente na culinária europeia, onde são utilizados como condimento com o nome de “poivre-rose” (LENZI; ORTH, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Na medicina, esta espécie mostra-se promissora em estudos voltados à bioprospecção de compostos para tratamento de doenças por demonstrar atividades antioxidantes, terapêuticas, antissépticas, anti-inflamatória, efeito cicatrizante, entre outros (ESTEVÃO *et al.*, 2015; FEUERISEN *et al.*, 2017). Além disso, é rica em compostos bioativos e antioxidantes que podem ser utilizados como fonte natural em indústrias alimentícias e elaboração de outros produtos de interesse comercial (ELSHARKAWY; EL-SAWY, 2015; TLILI *et al.*, 2018).

Esta espécie possui uma grande plasticidade ecológica, ocupando diversos ecossistemas. No entanto, em algumas regiões, especialmente onde há empresas de beneficiamento dos seus frutos, a aroeira-vermelha vem sofrendo extrativismo não sustentável em alta escala, praticado por agricultores e comunidades tradicionais (LORENZI, 2008; NEVES *et al.*, 2016). Por isso, são necessárias informações de como obter sementes de boa qualidade fisiológica para trabalhos silviculturais, de melhoramento e conservação genética, para a produção de mudas destinadas a plantios com finalidades comerciais, além de projetos para recuperação ou restauração de áreas degradadas (SILVA-MANN *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2013; RIBERO-OLIVEIRA; RANAL, 2014). Essas informações vão desde a seleção de áreas e material genético, marcação de árvores matrizes, coleta e beneficiamento até o controle de qualidade de sementes durante o armazenamento (PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2007).

A maturação de sementes é caracterizada por diversas mudanças fisiológicas e metabólicas que ocorrem antes e durante a desidratação, como alterações no teor de

água, lipídeos e compostos de reserva, além de alterações na coloração do fruto e no peso seco das sementes. Essas mudanças auxiliam na determinação do ponto de máxima qualidade fisiológica, sendo de suma importância para a obtenção de sementes de boa qualidade (BRITO *et al.*, 2015; HELL *et al.*, 2019). Nesse sentido, a caracterização do estágio apropriado de maturidade para coleta de sementes no momento adequado é de extrema importância, especialmente para as culturas com frutificação e maturação desuniformes, como em *S. terebinthifolia*. Além disso, devido à sua ampla distribuição geográfica, diversas variações edafoclimáticas, em escalas espaciais e temporais, podem influenciar a qualidade de suas sementes. Outros fatores, como a não domesticação da espécie, a coleta, a secagem, e o ambiente de armazenamento também devem ser levados em consideração (WIELEWICKI *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2013).

Durante a desidratação, ou dessecação das sementes, ocorre diminuição no teor de água celular, proporcionando equilíbrio de umidade com o ambiente. Nesta fase, existe a ação de proteção e reparação de mecanismos, preservando a integridade de compostos celulares, evitando danos irreversíveis às sementes (CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2004; BEWLEY *et al.*, 2013). No entanto, algumas sementes precisam passar por um processo de secagem após a colheita, antes de serem armazenadas. No caso das sementes de espécies florestais, normalmente utiliza-se o método de secagem natural conduzida diretamente ao sol ou à sombra (PEREIRA; SILVA, 2009).

Além da obtenção de sementes de boa qualidade e dos cuidados no beneficiamento, a manutenção da qualidade ao longo do armazenamento, ou seja, a sua longevidade, é também essencial para atender à demanda de viveiros, além da conservação *ex situ* dos recursos genéticos vegetais e da biodiversidade (HAY; PROBERT, 2013). No entanto, mesmo quando armazenadas com condições ideais, as sementes perdem sua viabilidade à medida que envelhecem, por um processo denominado deterioração ou envelhecimento da semente (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019).

O processo de deterioração está associado à produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), que se acumulam com o envelhecimento das sementes durante o armazenamento prolongado. O acúmulo dessas ERO pode ser prejudicial para germinação, a depender do seu nível de acumulação dentro das células embrionárias. Entre os principais danos ocasionados no envelhecimento das sementes estão a

peroxidação de lipídeos da membrana, o aumento na perda de lípidos da semente, diminuição das taxas respiratórias e produção de ATP, além de alterações nas atividades de enzimas (ZHANG *et al.*, 2021). Para diminuir esses efeitos, os vegetais dispõem de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos para remoção do excesso desses radicais livres (BAILLY; BOUTEAU; CORBINEAU, 2008; PETROV *et al.*, 2015). Por isso, a avaliação da atividade de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), são importantes para caracterização de lotes e estudo do comportamento das sementes em diferentes condições, além de serem potenciais marcadores moleculares da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento (ARALDI *et al.*, 2016).

Diante desse contexto, o objetivo deste capítulo foi avaliar a qualidade de sementes de *Schinus terebinthifolia* obtidas de frutos em diferentes estádios de maturação e submetidas ou não à secagem ambiente, além da influência de duas condições de armazenamento na qualidade bioquímica e fisiológica das sementes.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. Obtenção dos frutos e determinação do grau de umidade e massa seca

Os frutos de *Schinus terebinthifolia* utilizados no trabalho foram coletados em maio de 2019, de aproximadamente 12 plantas matrizes, situadas a uma distância de aproximadamente 100 metros uma da outra, localizadas em uma área de restinga no município de Camaçari – BA (Catú de Abrantes; coordenadas: -12,86278, -38,26778). A região está localizada a 11 m acima do nível do mar, tem uma temperatura média de 25.4 °C e pluviosidade média anual de 919 mm. A escolha das matrizes se deu em função da boa produção de sementes e do bom aspecto fitossanitário (Figura 11). Após a coleta, os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos - LBBB do Instituto de Ciências da Saúde – ICS, da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, onde foi desenvolvido o estudo.

Os frutos de *S. terebinthifolia* foram classificados em cinco estádios de maturação a partir da coloração do exocarpo. As sementes foram extraídas, selecionadas as intactas e separadas em cinco lotes correspondentes aos estádios de maturação.

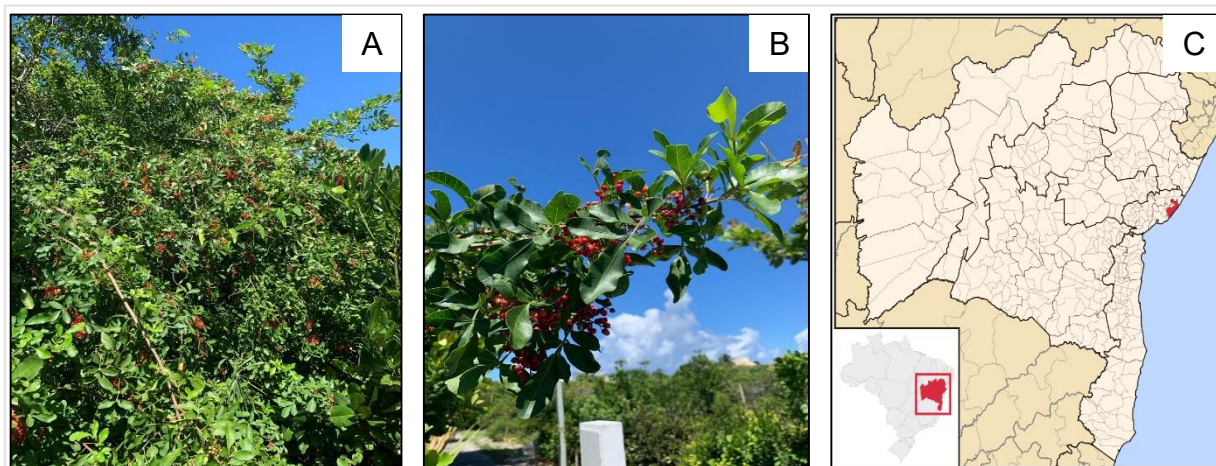


Figura 11. A) Aspectos das árvores de *Schinus terebinthifolia*. B) Aspecto dos frutos. C) Identificação geográfica do local de coleta do material biológico.

O grau de umidade foi determinado com base no peso fresco, sendo calculado com base na avaliação de 3 amostras com 100 sementes cada. Para tal, as amostras foram colocadas por 24 horas em estufa (Eletrolab – EL402/150) ajustada em $105 \pm 3^\circ\text{C}$. Após este período foi realizado a pesagem final e o cálculo do grau de umidade, de acordo com a metodologia descrita nas Regras para Análises de Sementes - RAS (BRASIL, 2009), sendo os resultados expressos em porcentagem.

O acúmulo de massa seca foi avaliado através da pesagem dos tecidos das sementes após secagem em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas. Cada repetição foi pesada separadamente em balança analítica (0,0001 g), sendo os resultados expressos em gramas.

4.2.2. Biometria e Peso de Mil Sementes

As análises morfométricas foram realizadas através de medições dos frutos e sementes nas diferentes fases do desenvolvimento. As medidas foram tomadas com auxílio de paquímetro digital (Jomarca) com precisão de 0,01 mm. Nos frutos foram mensurados comprimento (distância do pedúnculo ao lado oposto) e largura (região mediana). Nas sementes foram analisadas as seguintes dimensões: comprimento (medido da base até o ápice), largura e a espessura (medida na linha mediana das

sementes). Para tal, foram utilizadas quatro repetições de 25 unidades (frutos/sementes), sendo os resultados expressos em milímetros.

Para obtenção do peso fresco de mil sementes foram utilizadas oito repetições de 100 sementes. Cada repetição foi pesada separadamente em balança analítica com precisão de 0,0001g e o cálculo realizado conforme recomendações da RAS (BRASIL, 2009).

4.2.3. Avaliação fisiológica em função do estágio de maturação e secagem

O estudo do comportamento fisiológico das sementes foi realizado em dois momentos: no primeiro, as sementes dos cinco lotes separados por diferentes estádios de maturação foram colocadas para germinar logo após a extração (sementes frescas recém-colhidas). No segundo, as sementes permaneceram secando em bancada de laboratório (temperatura média 24°C) por cinco dias até a estabilização da umidade com o ambiente (sementes após a secagem).

Para a condução do teste de germinação, as sementes foram desinfestadas em solução contendo 1% de cloro ativo e Tween 20 (1 gota de Tween 20 para cada 100 mL de solução), sendo agitadas constantemente durante cinco minutos e em seguida submetidas a quatro lavagens com água destilada. Os testes foram montados em caixa gerbox com papel “germitest” (10,5 cm x 10,5 cm), umedecido com água destilada, na proporção de três vezes o peso do papel seco. As sementes foram dispostas no papel e levadas ao germinador (Eletrolab, Mod. EL202) ajustado à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 h. As avaliações foram feitas diariamente por 21 dias (WIELEWICK *et al.*, 2006; SHIBATA; PRADO; OLIVEIRA, 2019).

Os testes de germinação foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x2, consistindo em cinco estágios de maturação e sementes frescas e secas, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes (Figura 12). Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação (G_{max}), tempo para 50% da germinação total (T_{50}), uniformidade da germinação (U_{8416}) e área abaixo da curva (AAC). Os resultados obtidos no teste de germinação foram analisados no programa estatístico “Germinator” (JOOSEN *et al.*, 2010).

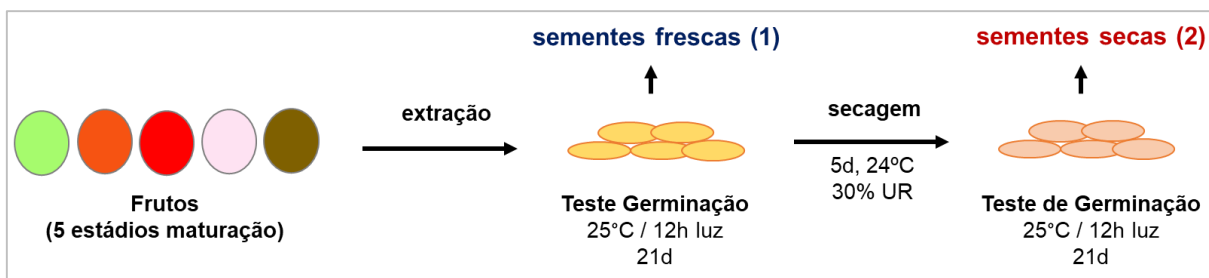


Figura 12: Representação esquemática da avaliação fisiológica em função do estágio de maturação e secagem.

A análise biométrica das plântulas normais foi realizada no 21º dia de germinação utilizando paquímetro digital (Jomarca), sendo os resultados expressos em mm. Para determinação da massa seca das plântulas normais, estas foram separadas em raiz e parte aérea e acondicionadas em sacos de papel e levadas para a estufa (Eletrolab – EL402/150) a 70°C por 72 horas. Após este período, as plântulas permaneceram em dessecador por 20 minutos para esfriar, em seguida realizou-se a pesagem em balança analítica (Shinadzu, AUW220D), para determinar a massa seca da raiz e parte aérea das plântulas.

4.2.4. Avaliações fisiológicas durante o armazenamento

Para avaliação das alterações fisiológicas e bioquímicas durante o armazenamento, foram separados dois lotes de sementes extraídas de frutos vermelhos, sendo um lote armazenado em temperatura ambiente de laboratório (24 °C \pm 2,8 / UR = 11% \pm 2,7) e outro em ambiente refrigerado (5 °C \pm 1,9 / UR 9% \pm 2,1). Os lotes foram armazenados em embalagens de papel Kraft e acondicionados em caixas plásticas, com sílica gel para manutenção da umidade.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sob arranjo fatorial (2x5) correspondendo respectivamente às duas condições de armazenamento (temperatura ambiente e ambiente refrigerado) e aos cinco períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 15 meses). Foram avaliados o grau de umidade, porcentagem de germinação (G_{max}), tempo para 50% da germinação total (T_{50}), uniformidade da germinação (U_{8416}), área abaixo da curva (AAC), com auxílio do programa Germinator (JOOSEN *et al.*, 2010). Foram também avaliados o comprimento e massa seca de raiz e parte aérea das plântulas normais, conforme descritos anteriormente.

4.2.5. Avaliações bioquímicas durante o armazenamento

4.2.5.1. Extração e quantificação de proteínas totais

Para extração e quantificação de proteínas, foram obtidos extratos preparados a partir de 0,1 g de sementes sem tegumento, coletadas aos 0, 3, 6, 9 e 15 meses de armazenamento e mantidas no freezer (Sanyo) – 80°C até o momento de uso. Essas amostras foram trituradas em nitrogênio líquido, seguido da adição de 2,0 mL do meio de homogeneização: potássio 0,1 M tampão fosfato (pH 6,8), 0,1 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e 1% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVP). Os tubos eppendorfs com as amostras foram colocados em recipientes com gelo na mesa agitadora (Labnet International, Inc. ORBITTM 300) durante 1h, sob agitação constante. O extrato foi então centrifugado a 12.000 × g por 30 min a 4 ° C. Foram utilizadas três repetições de 50 sementes para extrações, e alíquotas foram tomadas para quantificar a atividade enzimática.

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. Foi utilizado como reagente de cor, solução Bradford Protein Assay (Bio-Rad) e as leituras das absorbâncias foram realizadas no comprimento de onda de 595 nm, utilizando espectrofotômetro (GE Healthcare - Ultrospec™ 7000).

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.

4.2.5.2. Determinação da atividade Superóxido Dismutase - SOD

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada espectrofotometricamente utilizando metodologia adaptada, tendo como base o descrito em Gianopolitis e Ries (1977). A técnica para quantificação da atividade dessa enzima é baseada na detecção espectrofotométrica do formazan a 560 nm (produto de redução do azul de nitro-tetrazólio – NBT), mediado pelos radicais superóxidos, que são formados a partir da riboflavina. Nesse processo, a riboflavina

quando submetida à luz, sofre fotólise e libera 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). A reação é inibida quando a SOD está presente no meio, sendo essa inibição utilizada para determinar atividade enzimática dessa enzima (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, segundo a metodologia de Gianopolitis e Ries (1977). Foram utilizados diferentes volumes de amostra e tempos de exposição à luz, para determinar qual o volume e tempo necessário para inibir em torno de 50% da reação de redução do NBT. 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 14mM; ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1µM; NBT 75µM e riboflavina 2µM. Para a determinação da atividade da SOD, após a padronização, utilizou-se 15µL de amostra (extrato proteico diluído 5x) e acrescentou-se 180µL do meio de reação, totalizando 195µL. A microplaca de 96 poços (marca Greiner) foi mantida por 12 minutos sob iluminação (480 w) em caixa de papelão forrada com papel alumínio e a mistura de reação não irradiada foi usada como controle. As leituras das absorbâncias foram realizadas a 560 nm em espectrofotômetro (Varian Care 50). 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:

$$\text{SOD (Unidade/mL)} = [(V/v) - 1] \times F / [P]$$

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;
- P** - 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 de SOD. μg^{-1} de Proteína.

4.2.5.3. Determinação da atividade de Catalase – CAT

A atividade da CAT foi determinada pelo método descrito por Bergmeyer (1970), no qual a decomposição enzimática do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) é medida pelo decaimento da absorbância a 240 nm. A mistura de reação foi composta de um volume total de 250 µL contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,4) com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1 mM, peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 0,03% e 20 µL de extrato proteico bruto contendo a enzima. A reação foi iniciada com a adição do H₂O₂, e o decréscimo da absorbância a 240 nm avaliado utilizando-se microplacas de 96 poços (marca Greiner) medida em espectrofotômetro (Varian Care 50), até a estabilização da curva de decaimento. O branco foi preparado utilizando-se a mistura da reação com amostra e com ausência de peróxido de hidrogênio. Uma unidade de catalase corresponde a 1µM de H₂O₂ consumido min⁻¹.µg⁻¹ proteína.

Para o cálculo foi utilizado a fórmula a seguir, em que 1U CAT = 1,0 umol H₂O₂/min, então:

$$\frac{[\text{H}_2\text{O}_2] \text{ mM} = \frac{\Delta \text{A}_{240} \times 0,00025 \text{ L (Vmeio)} \times 1000 \text{ (umol)}}{0,0436}}{\text{T (min)}} = \text{U CAT}$$

Onde,

Δ A₂₄₀ 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;

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

0,00025 é o volume (L) do meio de reação;

U CAT é a unidade de catalase.

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

$$\text{U CAT/ug de proteínas} = \text{U CAT} / ([\text{PT}] \times 20)$$

PT corresponde à concentração de proteínas totais do extrato bruto;

20 = corresponde ao volume (µL) de extrato bruto usado.

4.2.5.4. Determinação da atividade de Ascorbato peroxidase – APX

A atividade da ascorbato peroxidase foi realizada através da oxidação do ascorbato (AsA) que ocorre com a diminuição da absorbância a 290 nm, segundo Nakano e 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; peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 1mM e 20 µL de extrato proteico, para um volume total de reação de 250 µL. A reação foi realizada a 25°C utilizando microplacas de 96 poços (marca Greiner) com leitura da absorbância a 290 nm em espectrofotômetro (Varian Care 50), durante 7 minutos com intervalos de leitura de 10 segundos. Para a leitura do branco foi utilizado 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).

Para o cálculo foi usada a seguinte fórmula:

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

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

A corresponde à absorbância da amostra;

F é o fator de diluição;

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

T é o tempo de reação em minutos;

PT corresponde à concentração de proteínas totais do extrato bruto;

4.2.5.5. Peroxidação de lipídios através da determinação de malondialdeído (MDA)

A peroxidação lipídica através da determinação do acúmulo de MDA foi realizada segundo Heath e Packer (1968) com modificações. Inicialmente foram pesadas 0,125 g de material liofilizado e macerado até pó fino de semente sem tegumento, colocadas em tubo eppendorf de fundo redondo de 2 mL, utilizando-se três replicatas biológicas. As 0,125 g de amostra foram homogeneizadas com 1 mL de ácido tricloroacético

(TCA) 0,1% e em seguida foram centrifugadas durante 15 minutos a 15.000 rpm a 25°C em centrífuga refrigerada (HETTICH, mod.320 R). Posteriormente foi coletado 500 µL de sobrenadante, colocado em um novo tubo eppendorf de 2 mL e adicionado 1500 µL de uma mistura de ácido tricloroacético e ácido tiobarbitúrico (respectivamente TCA 5% e TBA 0,5%). Em seguida os tubos eppendorfs foram colocados para aquecer em banho-maria (Polyscience, mod. POL00010) a 95 °C por 30 min, depois, os tubos foram colocados para resfriar em gelo durante 10 minutos e as amostras foram colocadas para centrifugar por 10 minutos a 4 °C a 15.000 rpm em centrífuga refrigerada (HETTICH, mod.320 R).

Os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos eppendorfs e as amostras foram colocadas em quatro replicatas técnicas em microplacas de 96 poços (marca Greiner, leitura em luz visível). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Varian Care 50) para leitura em microplaca a 532 nm e 600 nm. Para o cálculo da quantidade de MDA foi usado o coeficiente de extinção molar 155 mM⁻¹cm⁻¹ e os resultados foram expressos em µM MDA g⁻¹ de massa seca.

4.2.5.6. Condutividade Elétrica (CE)

O teste de condutividade elétrica, para avaliação da permeabilidade de membranas, foi realizado para as sementes submetidas as duas condições de armazenamento ao longo de 15 meses. A avaliação foi conduzida em três repetições de 50 sementes. Essas sementes permaneceram imersas em 75 ml de água destilada e mantidas no interior de germinador, regulado à temperatura de 25°C, por 24 h (SHIBATA; PRADO; OLIVEIRA, 2019). A leitura da condutividade elétrica foi feita em um condutivímetro de bancada (NT-CVM), e os dados obtidos foram expressos em µS.cm⁻¹.g⁻¹ de sementes.

4.2.6 Análise estatística

Os dados foram testados para ajuste a distribuição normal, submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade, empregando-se o Programa de Análise Estatística Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2000).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Classificação dos estádios de maturação, Grau de Umidade e Massa seca:

Os frutos de *S. terebinthifolia* foram classificados em cinco estádios de maturação a partir da coloração do exocarpo (Figura 13), a saber: Verde (exocarpo predominantemente verde), Verde-vermelho (exocarpo em transição do verde para o vermelho), Vermelho (exocarpo predominantemente vermelho), Róseo (exocarpo predominantemente rosa), Marrom (exocarpo predominantemente marrom, seco e iniciando a senescência).

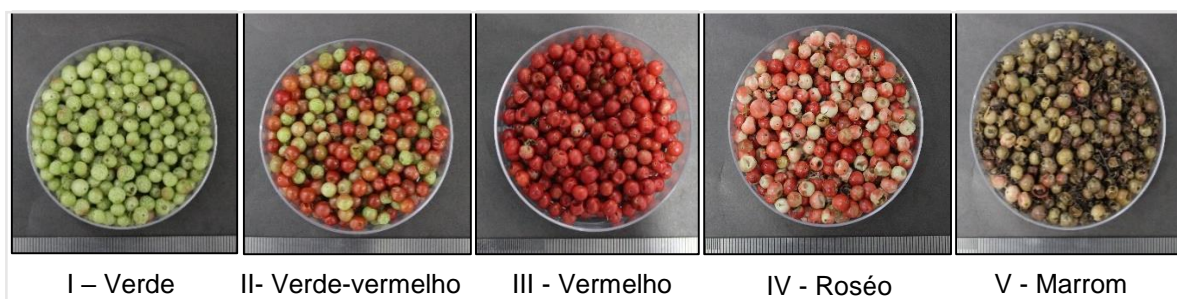


Figura 13. Classificação dos frutos de *Schinus terebinthifolia* em diferentes estádios de maturação baseados na coloração do exocarpo. (Fonte: Autor).

Os frutos e sementes de *S. terebinthifolia* obtidos no início do processo de maturação apresentaram elevado grau de umidade, que diminuiu progressivamente com o avanço dos estádios de maturação, reduzindo de 45,77% para 18,36% entre os estádios Verde-vermelho e Vermelho (Tabela 2). O elevado conteúdo de água nas sementes auxilia nas intensas divisões celulares, aporte de nutrientes e fotoassimilados, assim como na promoção de interações entre hormônios de crescimento, sendo importante nos estádios iniciais da maturação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; LULSDORF *et al.*, 2013). Após o processo de secagem em temperatura ambiente de laboratório por sete dias, as sementes apresentaram graus de umidade variando de 7,69 a 9,29%. Em levantamento feito por Wielewicki *et al.*, (2006) através de diferentes registros de análises de sementes na região Sul do Brasil, o grau de umidade médio em lotes de sementes de *S. terebinthifolia* foi de 11,2%, valor acima dos valores obtidos após a secagem das sementes no nosso trabalho.

Em estudo realizado por Totti e Medeiros (2006), na região de Curitiba-PR, os frutos de *S. terebinthifolia* permaneceram verdes até os 36 dias após a floração (DAF). A mudança para vermelho-claro ocorreu aos 43 dias, para vermelha aos 57 dias e para rosa aos 71 dias, mostrando uma rápida maturação. Estes mesmos autores classificaram os frutos de *S. terebinthifolia* em 6 estádios de maturação de acordo com a coloração do exocarpo, sendo eles: verde-claro (29 DAA), verde (36 DAA), vermelho-claro (43 DAA), vermelho (57 DAA), vermelho-escuro (64 DAA) e rosa (71 DAA), e também observaram redução gradativa no grau de umidade de 49,7% para 20,4%, ao longo do processo de maturação. Vitoria *et al.*, (2018), verificaram graus de umidade variando de 13,96; 13,75 e 9,13% em sementes obtidas de frutos de *S. terebinthifolia* classificados como verdes, intermediários e maduros.

Tabela 2. Massa seca e Grau de Umidade de frutos, sementes frescas e após secagem de *Schinus terebinthifolia* em cinco diferentes estádios de maturação.

Estádio de Maturação	Caracterização	Fruto		Semente		
		Massa seca (mg/fruto)	Grau de Umidade (%)	Massa seca (mg/semente)	Grau de Umidade (%)	Grau de Umidade após secagem (%)
I	Verde	14,41 ($\pm 1,1$) c	69,51 ($\pm 0,5$) a	4,90 ($\pm 1,1$) c	48,80 ($\pm 1,8$) a	9,29 ($\pm 0,4$) a
II	Verde-vermelho	20,15 ($\pm 0,41$) b	62,82 ($\pm 1,1$) b	9,81 ($\pm 0,2$) b	45,77 ($\pm 2,3$) a	7,93 ($\pm 0,2$) b
III	Vermelho	24,07 ($\pm 0,53$) a	32,17 ($\pm 1,2$) c	14,86 ($\pm 0,2$) a	18,36 ($\pm 0,4$) b	7,69 ($\pm 0,5$) b
IV	Róseo	19,87 ($\pm 0,57$) b	28,83 ($\pm 1,2$) d	15,44 ($\pm 0,2$) a	18,16 ($\pm 0,1$) b	7,98 ($\pm 0,3$) b
V	Marrom	10,97 ($\pm 0,76$) d	8,79 ($\pm 0,5$) e	6,20 ($\pm 1,0$) c	9,64 ($\pm 0,2$) c	7,80 ($\pm 0,1$) b
Média Geral	-	17.89	40.42	10.26	28.15	8.14
CV (%)	-	4.04	2.43	7.18	4.85	4.74

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O maior valor de massa seca de frutos foi verificada no estágio Vermelho e de massa seca de sementes nos estádios Vermelho e Róseo, quando as sementes se encontravam com aproximadamente 18% de grau de umidade. Foi observado um aumento nos valores de massa seca à medida que se avançava o estágio de maturação. No entanto, houve uma diminuição acentuada nos frutos e sementes quando atingiram o estágio Marrom, mostrando que esses frutos já apresentavam elevado grau de deterioração nesse estágio, provavelmente ocasionado pelo ataque de patógenos, insetos e o próprio envelhecimento natural. Sabe-se que insetos, como

Megastigmus transvaalensis, identificado no estado da Bahia deste 2018, pode provocar danos em frutos de *S. terebinthifolia* diminuindo a germinação das sementes e o estabelecimento desta planta em áreas ecológicas nativas e de restauração (FERREIRA FILHO *et al.*, 2015; GHIOTTO; PRADO; GIULIANI, 2019). Nessa coleta, foram observadas lesões em alguns frutos características do ataque desse inseto. Além disso, a colheita tardia dos frutos pode expor as sementes ao excesso de umidade e consequente aumento na taxa de respiração, o que acelera o consumo de reservas acumuladas e pode resultar na redução de peso seco (DIAS *et al.*, 2006).

4.3.2. Biometria e Peso de Mil Sementes

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nas variáveis morfométricas dos frutos ao longo dos estádios de maturação, ou seja, não foi observado interferência direta das transições fisiológicas da cor do exocarpo com o aumento do seu crescimento e diâmetro. Por outro lado, houve diferença significativa ($p < 0,05$) nas variáveis morfométricas comprimento, diâmetro e espessura das sementes, nas quais os maiores valores foram observados nos estádios Vermelho e Róseo (Tabela 3). O rápido aumento no tamanho das sementes na metade do período de maturação, coincidindo com um maior acúmulo de massa fresca e seca, pode estar relacionado com a necessidade da semente manter o transporte de produtos fotossintetizados e as altas taxas metabólicas durante o desenvolvimento, além do posterior armazenamento desses compostos nos tecidos de reserva (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Os menores valores de comprimento e diâmetro foram observados nas sementes características dos estádios Verde e Marrom e de espessura nas obtidas no estágio Verde. A redução no tamanho das sementes no final da maturação, ou seja, nas obtidas de frutos com exocarpo marrom, ocorre devido à perda de água durante o amadurecimento quando atingem nível máximo de dessecação (9,64% de grau de umidade), além do consumo das reservas nos processos metabólicos, já que as sementes atingem a maturidade fisiológica quando os frutos estão no estágio vermelho e após este iniciam o processo de envelhecimento a campo. Estas reduções no tamanho das sementes no final da maturação são comuns e também foram observadas em sementes de *Spondias tuberosa* (SOUZA *et al.*, 2005), catingueira - *Poincianella pyramidalis* (LIMA *et al.*, 2012) e pinhão-manso - *Jatropha curcas* L

(BRITO *et al.*, 2015), entre outras. Comportamento semelhante também foi observado para a espécie mulungu do litoral - *Erythrina speciosa*, na qual os frutos atingiram seu tamanho máximo logo no início de maturação, enquanto sementes só aumentaram de tamanho substancialmente após 25 dias, sendo este fato atribuído ao ganho em matéria seca, com posterior declínio no tamanho das sementes, devido à redução no grau de umidade (HEEL *et al.*, 2019).

Tabela 3. Média das variáveis morfométricas de frutos (comprimento e largura) e sementes (comprimento, largura e espessura) de *Schinus terebinthifolia* em diferentes estádios de maturação.

Estádio de Maturação	Caracter.	Fruto		Semente			
		Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Espessura (mm)	Peso de mil sementes (mg)
I	Verde	4,62(±0,08) a	4,89 (±0,09) a	2,57(±0,05) c	3,31(±0,05) c	1,75(±0,07) c	5,77 (±1,10) d
II	Verde-vermelho	4,72(±0,02) a	5,07 (±0,07) a	2,87(±0,08) b	3,55(±0,04) b	1,89(±0,05) bc	9,66 (±0,18) c
III	Vermelho	4,76(±0,13) a	5,01(±0,05) a	3,20(±0,09) a	3,85(±0,10) a	2,16(±0,11) a	12,67(±0,34) a
IV	Róseo	4,68(±0,03) a	4,92(±0,04) a	3,09(±0,05) a	3,74(±0,05) a	2,12(±0,10) a	11,36 (±0,08) b
V	Marrom	4,62(±0,14) a	4,87 (±0,14) a	2,73 (±0,11) bc	3,35(±0,12) c	2,01(±0,09) ab	4,64 (±0,26) d
Média Geral	-	4.68	4.95	2.89	3.56	1.98	8,82
CV (%)	-	2.09	1.84	2.92	2.32	4.65	6,10

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As sementes obtidas dos frutos no estágio de maturação Vermelho apresentaram maior Peso de Mil Sementes, 12,67 g, diferenciando-se dos demais estádios. A caracterização morfométrica de frutos e sementes é um importante parâmetro, pois subsidia a diferenciação de espécies dentro de um gênero e entre variedades da mesma espécie, além de ser uma das características que deve ser levada em conta no processo de maturação, sendo associada a outras características, podendo assim, indicar o melhor período de colheita. Estes aspectos são imprescindíveis para auxiliar estudos sobre germinação e produção de mudas para recomposição vegetal (CRUZ; MARTINS; CARVALHO, 2001; LEONHARDT *et al.*, 2008). As variações morfométricas também estão relacionadas aos fatores genéticos, além de poderem constituir uma resposta adaptativa ao meio ambiente, sendo estes aspectos importantes para estudos de melhoramento genético de espécies florestais nativas (SILVA *et al.*, 2017).

4.3.3. Avaliação fisiológica em função do estágio de maturação e secagem

Os maiores valores de germinação (G_{max}) das sementes ocorreram nos estádios de maturação Vermelho e Verde-vermelho com as sementes recém-colhidas, atingindo 80% e 63%, respectivamente (Figura 14). Não houve germinação de sementes nos estádios Verde e Marrom, por isso eles não foram considerados para análise estatística dos dados. A ausência de germinação de sementes no estágio Verde pode ter ocorrido pela imaturidade do embrião, pois nessa fase, as sementes ainda estão investindo na formação de tecidos e acúmulo de reservas para serem utilizadas durante o processo de germinação (BARROSO *et al.*, 2017). Já no estágio Marrom a ausência de germinação se deve à deterioração natural das sementes, que ocorre após as mesmas atingirem a maturidade fisiológica.

Houve uma redução significativa ($p < 0,05$) no percentual de germinação das sementes após o processo de secagem ambiente nos três estádios de maturação. No entanto, o maior valor permaneceu no lote de sementes do estágio Vermelho (62%) e a diferença foi mais acentuada no estágio Verde-vermelho, que reduziram a porcentagem de germinação de 63% para 26%. Os resultados corroboram com os obtidos por Totti e Medeiros (2006), com sementes obtidas de sementes provenientes da região metropolitana de Curitiba, nos quais as sementes obtidas de frutos com coloração vermelha escura, aos 64 DAA, apresentaram maiores taxas de germinação (48%) comparado aos demais estádios considerados. No mesmo trabalho, as sementes obtidas de frutos com coloração vermelho-claro (43 DAA) apresentaram 35% de germinação e os obtidos da coloração rosa (71 DAA) apenas 14% de germinação. Vitoria *et al.*, (2018), avaliando diferentes estádios de maturação e temperaturas na germinação de sementes de *S. terebinthifolia* colhidas na região de Conceição da Barra - ES, também verificaram maiores porcentagens de germinação (71 a 95%) em sementes obtidas de frutos com exocarpo completamente vermelho.

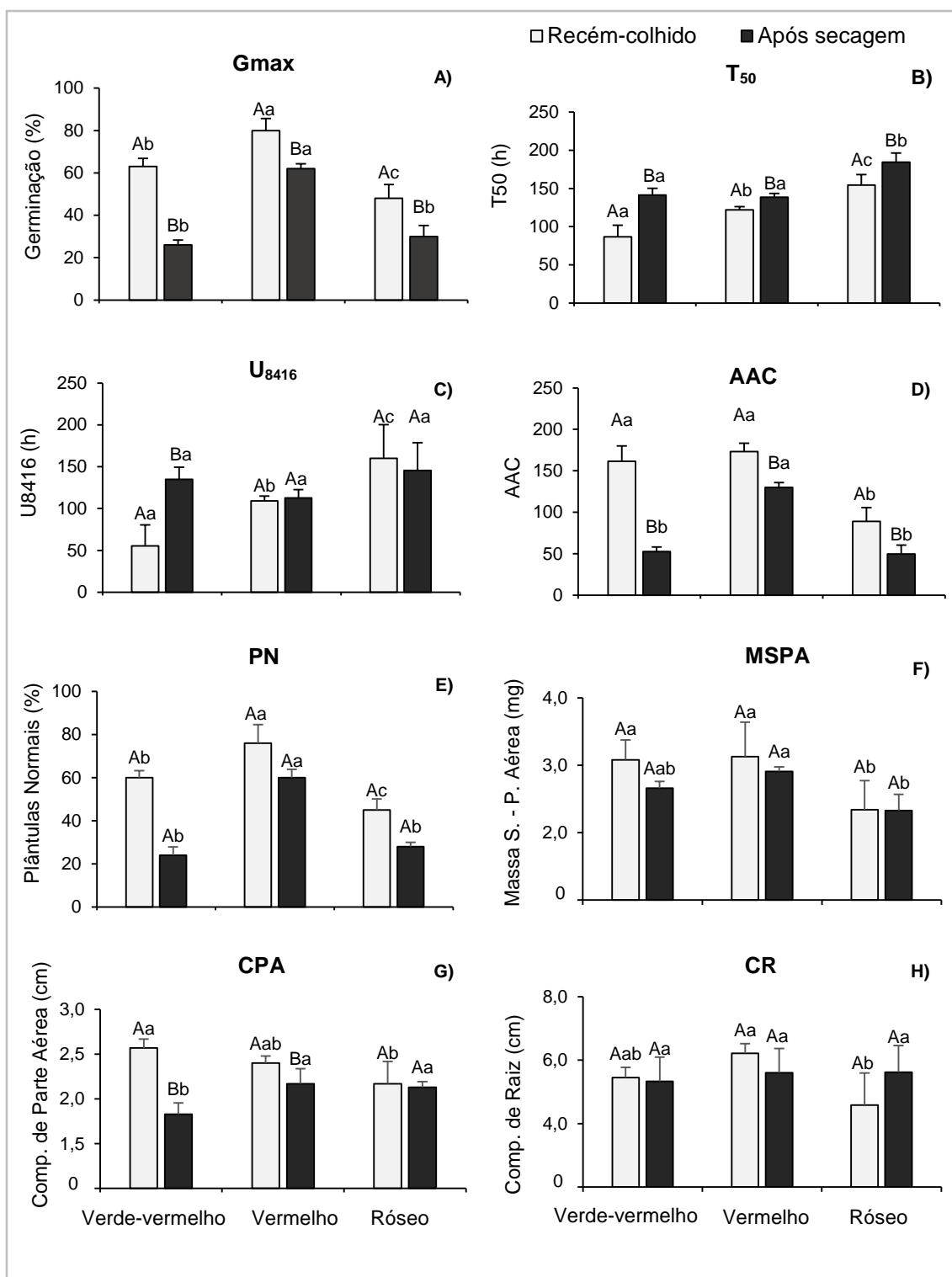


Figura 14. A) Germinação (Gmax), B) Tempo para atingir 50% de germinação (T₅₀), C) Uniformidade (U₈₄₁₆), D) Área abaixo da curva (AUC_{360h}), E) Porcentagem de Plântulas Normais (PN), F) Massa seca de parte aérea (MSPA), G) Comprimento de Parte Aérea (CPA) e H) Comprimento de raiz (CR) de plântulas e sementes recém-colhidas e após secagem de *Schinus terebinthifolia* em diferentes estádios de maturação. *Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas condições de secagem e minúsculas nos estádios de maturação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Sementes de *S. terebinthifolia* coletadas em Dourados – MS também tiveram menor porcentagem de germinação quando passaram por secagem e o grau de umidade foi reduzido abaixo de 20% (PINTO *et al.*, 2012). Em um estudo com sementes de *Sesbania virgata*, espécie nativa do Brasil, as sementes submetidas à secagem também apresentaram menor porcentagem de germinação quando comparado às sementes que não passaram por secagem (TEIXEIRA *et al.*, 2018). Esses autores relacionaram essa diminuição a possíveis danos sofridos durante o processo de embebição na transição da fase de gel até a fase líquido-cristalina dos fosfolipídios da membrana, devido ao seu baixo grau de umidade, o que pode ter causado danos aos tecidos e comprometido o desempenho na germinação.

Os trabalhos com sementes *S. terebinthifolia* mostram que esta espécie apresenta bastante variação na porcentagem final de germinação entre diferentes lotes de sementes (PACHECO *et al.*, 2011; SHIBATA; PRADO; OLIVEIRA, 2019). Em um estudo sobre a caracterização de 15 indivíduos de *S. terebinthifolia* na região do Baixo São Francisco, Souza *et al.*, (2013) observaram germinação variando de 83% a nula (0%), demonstrando uma grande diferença na qualidade de sementes obtidas de diferentes indivíduos.

A velocidade de germinação, representada pelo tempo máximo para alcançar 50% de germinação (T_{50}), é um parâmetro utilizado para avaliar o vigor das sementes. O menor valor obtido para essa variável, ou seja, a maior velocidade de germinação, ocorreu no estágio de maturação Verde-vermelho sem secagem (86,7 h), o que pode ser atribuído ao alto grau de umidade das sementes. Após o processo de secagem, houve um aumento significativo ($p < 0,05$) para os três estádios, mostrando que esse processo, além de influenciar na germinabilidade, também diminuiu a velocidade de germinação. Após a secagem, as sementes obtidas do estágio Verde-vermelho e Vermelho apresentaram velocidade de germinação superior ao estágio róseo.

O U_{8416} avalia a uniformidade medindo-se o intervalo de tempo em horas entre 16% e 84% de germinação, assim, quanto menor este intervalo, maior a uniformidade do lote. Neste parâmetro, foi observado uma maior uniformidade de germinação no estágio Verde-Vermelho de sementes recém-colhidas. Após o processo de secagem, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na uniformidade para os três estádios. Porém, o processo reduziu significativamente a uniformidade em sementes do estágio Verde-vermelho quando comparado as sementes recém-colhidas no mesmo estágio.

Diversos danos mecânicos e estruturais podem ocorrer nas células devido à dessecação e posterior reidratação. Quando ocorre perda de água a níveis muito baixos, as células vegetativas diminuem de volume em 60-80%, o que impõe uma tensão física na parede celular e na membrana plasmática. No processo, as mitocôndrias e cloroplastos perdem sua forma e organização interna, seu citoesqueleto é rompido, bicamadas lipídicas de membrana convergem e os domínios de ácidos graxos nas bicamadas tornam-se mais rígidos, resultando em mudanças de fase de um estado fluido para a fase de gel. Além disso, há um potencial aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) causando desequilíbrios metabólicos (OLIVER *et al.*, 2020).

Assim, a redução acentuada no percentual e na uniformidade de germinação em sementes no estágio Verde-vermelho submetidas a secagem, pode ser atribuído a imaturidade das sementes, ou seja, as mesmas não completaram o processo de maturação e conseqüentemente não desenvolveram completamente a tolerância à dessecação. Essa tolerância pode ser definida como a capacidade de um organismo em tolerar a perda de água até níveis extremos, sem danos irreversíveis às células, e poder retornar ao funcionamento normal na presença de água (BUITINK; LEPRINCE, 2004).

O desenvolvimento desses mecanismos de tolerância à dessecação começam a ocorrer gradualmente no processo de maturação e envolvem fatores físicos e fisiológicos regulados por um equilíbrio hormonal, entre eles: tamanho reduzido do vacúolo, acúmulo de açúcares solúveis (por exemplo, sacarose, rafinose, galactinol e trealose), metabólitos secundários (tocoferóis e flavonóides), proteínas LEA ("late embryogenesis abundant") e sHSP (small heat shock proteins), além da ativação de sistemas antioxidantes e mecanismos que impeçam a fusão das membranas e promovam reparos durante a reidratação (CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2004; ANGELOVICI *et al.*, 2010; FARRANT; MOORE, 2011; WALTERS *et al.*, 2013, MAIA *et al.*, 2014).

Resultados semelhantes foram obtidos em sementes de *Erythrina speciosa*, espécie nativa da Mata Atlântica, as quais foram aumentando a tolerância a dessecação conforme se avançava os estádios de maturação, havendo uma redução significativa na germinação de sementes nos estádios iniciais de maturação (até 44 DAA), não apresentando diferença significativa em estádios posteriores (HELL *et al.*, 2019). Nesse estudo, a tolerância a dessecação foi atribuída ao aumento do teor do

açúcar arabinose, que tem o papel de manter as paredes celulares flexíveis durante a desidratação, além de trealose, rafinose e estaquiose que têm função de evitarem danos causados pela perda de água às membranas em células de cotilédones e eixo embrionário (HELL *et al.*, 2019).

O cálculo da Área Abaixo da Curva (AAC), parâmetro que permite avaliar o vigor das sementes através da integração da curva utilizando a G_{max} , T_{50} e uniformidade (U_{8416}), mostrou que os maiores valores foram obtidos nos estádios de maturação Verde-vermelho e Vermelho, em sementes recém-cohidas, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) do estágio Róseo. Após a secagem, os maiores valores foram verificados no estágio Vermelho, embora tenha apresentado redução significativa de 25% quando comparado aos resultados encontrados para as sementes recém-colhidas no mesmo estágio. As sementes obtidas no estágio Róseo apresentaram menor AAC tanto recém-colhidas, quanto após a secagem, já as sementes do estágio Verde-vermelho recém-colhidas, que apresentaram uma germinação mais rápida e levaram menos tempo para alcançar 50% da germinação, apresentaram a AAC semelhante às sementes do estágio Vermelho, que por sua vez alcançaram maior percentual de germinação.

As sementes recém-colhidas e submetidas a secagem no estágio de maturação Vermelho também apresentaram maior número de plântulas normais (PN), diferenciando-se estatisticamente ($p < 0,05$) dos demais estádios. Avaliando-se o vigor das plântulas obtidas das sementes nos diferentes estádios de maturação, os maiores valores de massa seca de parte aérea (MSPA) foram obtidos em sementes no estágio de maturação Vermelho e Verde-vermelho. As plântulas obtidas no estágio Róseo apresentaram menor massa seca quando comparadas as dos demais estádios, tanto em sementes recém-colhidas quanto submetidas a secagem. A média da massa seca de raiz foi de 0,93 mg, não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes estádios e condições de secagem.

As maiores médias do comprimento de parte aérea de plântulas (CPA) de *S. terebinthifolia* foram verificadas nos estádios Verde-vermelho (2,57 cm) e Vermelho (2,40 cm), ambos para sementes recém-colhidas. No entanto, após a secagem das sementes, as plântulas obtidas do estágio Verde-vermelho foram 29% menores que as recém-colhidas e apresentaram os menores valores, quando comparados aos

demais. Apenas as plântulas do estágio Róseo não apresentaram redução no comprimento da parte aérea após a secagem das sementes.

As plântulas obtidas de sementes no estágio Vermelho e Verde-Vermelho apresentaram maior comprimento de raízes (CR), atingindo 6,21 cm e 5,45 cm, respectivamente. Após o processo de secagem, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes estágios de maturação, apresentando comprimento médio de raízes entre 5,33 a 5,62 cm. Além disso, não houve diferença no comprimento de raízes de plântulas para nenhum dos estágios de maturação quando comparadas as sementes recém-colhidas e após a secagem. Em estudos com sementes de araçá - *Psidium guineense* Swartz também foi observada diminuição na porcentagem de germinação, massa seca de parte aérea, e comprimento de raízes quando o grau de umidade foi reduzido de 15 para 5% (MASSETO *et al.*, 2014).

De acordo com esses resultados, embora haja diminuição no grau de umidade nas fases finais de maturação (Vermelho e Róseo), este ainda é alto em sementes recém-colhidas de *S. terebinthifolia*. A secagem natural a sombra até a graus de umidade entre 7 e 9% se mostraram prejudiciais, sendo as sementes obtidas de frutos vermelhos menos sensíveis a esse processo. Roberts (1973) classificou as sementes em dois grupos quanto à tolerância à secagem e a temperaturas baixas: sementes ortodoxas e recalcitrantes. Sementes ortodoxas podem ser secas até cerca de 5% de umidade e submetidas a armazenamento em baixas temperaturas, o que permite a sua viabilidade ao longo do tempo, diferentes das recalcitrantes que não sobrevivem à secagem a baixos níveis de umidade e não podem ser armazenadas. Um comportamento intermediário entre ortodoxo e recalcitrante foi proposto por Elis, Hong e Roberts (1990), sendo esse padrão encontrado em diferentes espécies tropicais. Por isso, nosso estudo sugere que essa espécie pode apresentar um comportamento intermediário com relação a tolerância a dessecação, sendo necessário mais estudos a esse respeito para a correta classificação destas sementes tendo como finalidade conservação e produção de mudas.

O critério da cor dos frutos como indicador da maturidade fisiológica das sementes também foi recomendado para colheita de sementes de diversas espécies florestais nativas, como *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz (LIMA *et al.*, 2012), *Inga laurina* (Sw.) Willd. (SCHULZ *et al.*, 2014), *Amburana cearensis* (Allem.) A.C. Smith. (LOPES *et al.*, 2014), além de espécies frutíferas nativas como *Eugenia uniflora* L. (ÁVILA *et al.*, 2009), *Eugenia pyriformis* Cambess e *Eugenia involucrata* DC. (ORO

et al., 2012). Para o nosso estudo, as sementes obtidas de frutos completamente vermelhos foram as que apresentaram melhor desempenho na germinação, além de serem mais tolerantes a dessecação pelo processo de secagem em temperatura ambiente. No entanto, para fins de propagação, as sementes obtidas de frutos no estágio Verde-vermelho, quando recém-colhidos, se destacaram por apresentarem uma germinação mais rápida e uniforme, quando comparadas as sementes obtidas de frutos Vermelho e Róseo, devendo este aspecto ser melhor estudado para estabelecimento de métodos de colheita e secagem que possam proporcionar sementes comerciais com germinação mais rápida e uniforme no campo.

Houve em geral uma diminuição na viabilidade e vigor das sementes de *S. terebinthifolia* após a secagem ambiente, sendo as sementes obtidas no estágio Verde-vermelho mais afetadas pela secagem natural. As sementes obtidas de frutos com exocarpo completamente vermelho foram as que apresentaram melhor qualidade fisiológica expressa pela germinabilidade, área abaixo da curva, e vigor expressos pela maior porcentagem de plântulas normais, comprimento e massa seca de parte aérea e raízes de plântulas, podendo este ser considerado o estágio no qual as sementes de aroeira-vermelha atingem a maturidade fisiológica.

4.3.4. Avaliações fisiológicas durante o armazenamento:

Para essas avaliações foram utilizadas sementes obtidas de frutos completamente vermelhos, pois apresentaram melhor qualidade fisiológica comparado aos demais estádios de maturação (ver itens 4.3.1 a 4.3.3). Ao longo do armazenamento, as sementes apresentaram graus de umidade próximos de 7%, tanto em temperatura ambiente quanto em ambiente refrigerado.

Quando armazenadas em temperatura ambiente, as sementes apresentaram maiores variações nos graus de umidade ao longo dos meses, com uma redução significativa ($p < 0,05$) logo aos três meses. Nos demais períodos, os valores não se diferenciaram estatisticamente quando comparados aos do início do armazenamento. No ambiente refrigerado, as sementes também apresentaram uma redução significativa no grau de umidade logo aos três meses, que se manteve até os 15 meses de avaliação. Esses resultados demonstram que a umidade relativa nesse ambiente pode ter contribuído para redução e manutenção do grau de umidade nas

sementes (Tabela 4), pois estas tendem a entrar em equilíbrio higroscópico com a umidade relativa do ambiente de armazenamento.

Tabela 4. Grau de umidade (%) de sementes de *Schinus terebinthifolia* durante 15 meses em dois diferentes ambientes de armazenamento.

Armazenamento	Período de Armazenamento				
	Tempo 0	3 meses	6 meses	9 meses	15 meses
Temperatura Ambiente	7,69 (±0,57) Aa	5,22 (±0,20) Bb	7,50 (±0,56) Aa	7,11 (±0,42) Aa	7,01 (±0,34) Aa
Refrigerado	7,69 (±0,57) Aa	6,57 (±0,51) Ba	6,61 (±0,32) Bb	6,97 (±0,12) ABa	7,02 (±0,33) ABa
Média Geral			6,93		
CV (%)			6.13		

*Médias seguidas de mesma letra maiúsculas entre períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 15 meses) e minúsculas entre ambientes (temperatura ambiente e refrigerado) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As sementes armazenadas em ambiente refrigerado mantiveram a porcentagem de germinação praticamente uniforme ao longo dos 15 meses, diferente das que permaneceram em temperatura ambiente que reduziram significativamente ($p < 0,05$) a germinação já após 3 meses de armazenamento (Figura 15). Após os 15 meses, as sementes mantidas em temperatura ambiente tiveram uma germinação 23,5% menor quando comparada a germinação inicial e 17,4% menor que as mantidas em ambiente refrigerado pelo mesmo período.

De acordo com Wielewick *et al.*, (2006), avaliando padrões de germinação e grau de umidade em sementes de 27 espécies florestais nativas do Brasil, as sementes de *S. terebinthifolia* apresentam germinação média de 64%, sendo o padrão mínimo de germinação proposto de 48%. Sendo assim, as sementes armazenadas em ambos os ambientes ao longo dos 15 meses apresentaram uma germinação dentro do padrão mínimo aceitável de acordo com estes autores e, quando mantidas em ambiente refrigerado, os valores foram próximos ao padrão médio de germinação da espécie. Medeiros e Zanon *et al.*, (1998) avaliando diferentes condições de armazenamento de *S. terebinthifolia*, mostraram que as sementes tiveram menor perda da qualidade quando armazenadas em embalagens de papel e câmara seca, no entanto, mesmo nestas condições, a germinação após 360 dias foi 27% menor em relação à germinação inicial.

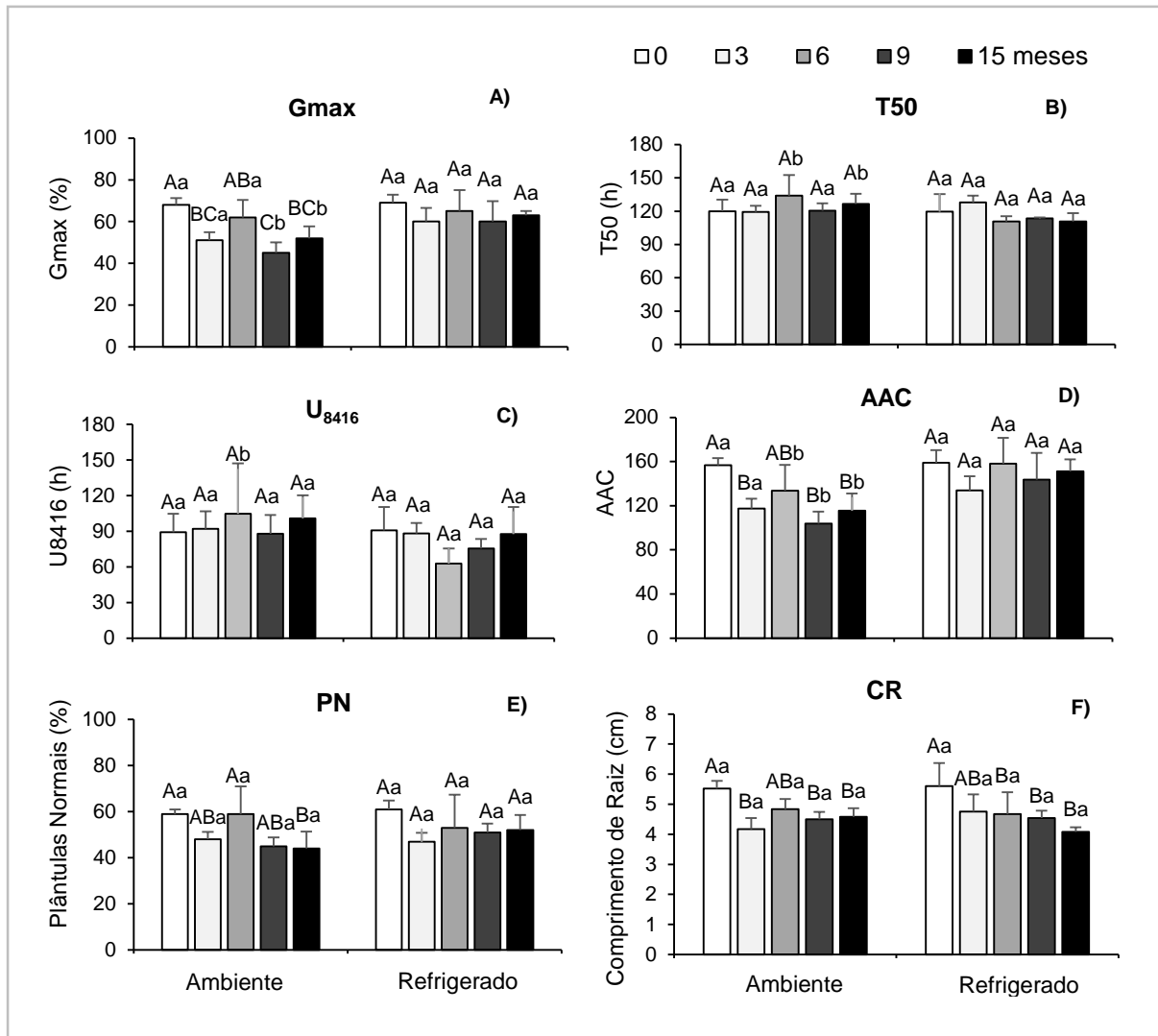


Figura 15. A) Germinação (G_{max}), B) Tempo para atingir 50% de germinação (T_{50}), C) Uniformidade (U_{8416}), D) Área abaixo da curva (AAC), E) Plântulas Normais (PN) e F) Comprimento de raízes (CR) de sementes de *Schinus terebinthifolia* armazenadas durante 15 meses em dois ambientes diferentes. *Médias seguidas de mesma letra maiúsculas entre períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 15 meses) e minúsculas entre ambientes (temperatura ambiente e refrigerado) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A maior germinação de sementes armazenadas em ambiente refrigerado em comparação com temperatura ambiente já foi demonstrada para outras espécies florestais nativas do Brasil, como *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. e *Jacaranda cuspidifolia* (SCALON *et al.*, 2006; GUEDES *et al.*, 2012). No mesmo sentido, Silva *et al.*, (2011), verificaram que a germinação de sementes de ipê-amarelo - *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich. se torna nula aos nove meses quando armazenadas em temperatura ambiente, enquanto que, em câmara fria, as sementes permanecem viáveis durante 12 meses de armazenamento.

As sementes armazenadas em temperatura ambiente apresentaram uma germinação mais lenta, avaliada pelo T_{50} , aos 6 e aos 15 meses, quando comparadas às armazenadas em ambiente refrigerado. O armazenamento em ambiente de laboratório também reduziu a velocidade de germinação em outras espécies nativas da família Anacardiaceae, como *Myracrodruon urundeuva* Fr. All quando comparadas com as mantidas em câmara refrigerada, mostrando que as oscilações das condições não controladas desse ambiente de armazenamento interferem diretamente na perda do vigor das sementes em menor período (GUEDES *et al.*, 2012; ALVES *et al.*, 2020).

Quanto a uniformidade de germinação, avaliado pelo U_{8416} , somente na avaliação aos 6 meses de armazenamento as sementes mantidas em ambiente refrigerado apresentaram uma germinação significativamente mais uniforme ($p < 0,05$) comparadas as mantidas em temperatura ambiente. Já a avaliação do desempenho da germinação, traduzida pelos valores de AAC, mostrou que as sementes de *S. terebinthifolia* mantidas em ambiente refrigerado não apresentaram variações significativas nos valores do AAC ao longo dos 15 meses, no entanto, quando mantidas em temperatura ambiente houve uma redução significativa ($p < 0,05$) dessa variável logo aos 3 meses de armazenamento.

Apesar de serem classificadas como ortodoxas, outros trabalhos também mostraram a redução na germinação das sementes de *S. terebinthifolia* durante o armazenamento em diferentes condições. Em estudo realizado por Silva-Mann *et al.*, (2013), com sementes dessa espécie coletadas na região do Baixo São Francisco-SE, armazenadas em câmara fria à temperatura de $6^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa do ar de 60 a 65% durante 24 meses, também foi observada redução na germinação e vigor de sementes ao longo do armazenamento, sendo esta redução mais acentuada após 16 meses. Da mesma forma, Oliveira *et al.*, (2018) avaliando a qualidade de sementes de *S. terebinthifolia* armazenadas em embalagens de vidro vedados com tampa emborrachada durante quatro meses em dois ambientes, também observaram uma redução na qualidade de sementes quando armazenadas em ambiente de laboratório comparado ao ambiente refrigerado.

Além da temperatura, a umidade relativa do ambiente também tem forte influência na manutenção da qualidade de sementes durante o armazenamento. Ribeiro *et al.*, (2018), mostraram que sementes de *S. terebinthifolia* mantiveram a porcentagem de germinação elevada quando armazenadas em ambientes com 34 e 55% de UR, já quando armazenadas em ambientes com 93 e 75% de UR, as mesmas

perderam sua viabilidade após o segundo e oitavos meses de armazenamento, respectivamente. A perda da capacidade de germinação das sementes após o armazenamento está relacionada a mudanças estruturais em várias organelas. Essas mudanças incluem distorções da membrana externa e/ou cristas de mitocôndrias, fragmentação ou desaparecimento de complexos de Golgi e retículo endoplasmático, gotículas de lipídios se fundindo para formar corpos maiores ou irregulares, dissolução das proteínas de membranas de organelas, degradação da estrutura da membrana plasmática e parede celular, além da condensação de cromatina nuclear (SMITH; BERJAK, 1995; ZHANG *et al.*, 2021).

A avaliação da porcentagem de plântulas normais (PN) mostrou que após 15 meses de armazenamento em temperatura ambiente houve uma redução significativa ($p < 0,05$) neste parâmetro, quando comparado aos demais períodos. Já o ambiente refrigerado foi capaz de manter a porcentagem de plântulas normais obtidas nos testes de germinação ao longo dos 15 meses. Não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os ambientes e períodos de armazenamento para as variáveis massa seca de raiz, massa seca parte aérea e comprimento de parte aérea, os quais apresentaram valores médios, respectivamente, de 1,04 mg/plântula; 3,06 mg/plântula e 2,07 cm.

A avaliação do vigor das sementes durante o armazenamento com base no comprimento de raiz (CR), mostrou que, tanto as plântulas obtidas de sementes mantidas em ambiente refrigerado quanto em temperatura ambiente tiveram uma redução significativa ($p < 0,05$) no tamanho de raízes ao longo do armazenamento. De acordo com Marcos Filho (2015), uma das modificações fisiológicas ocasionadas pelo baixo vigor é a diminuição da velocidade e crescimento de plântulas, interferindo negativamente no estabelecimento da cultura. Dessa forma, as duas condições testadas não foram eficazes para evitar a diminuição do vigor das sementes expresso pelo comprimento de raízes, mas a condição de ambiente refrigerado foi capaz de manter a porcentagem, velocidade e número de plantas normais mais estáveis, após 15 meses de armazenamento.

4.3.5. Avaliações bioquímicas durante o armazenamento

As atividades das enzimas SOD, CAT e APX em sementes de *S. terebinthifolia* tiveram diferentes comportamentos ao longo do armazenamento por 15 meses nos dois ambientes de conservação estudados. Houve aumento na atividade enzimática ($p < 0,05$) da superóxido dismutase (SOD) apenas aos três meses de armazenamento em ambos os ambientes. Nos demais meses, a atividade dessa enzima se manteve semelhante ao tempo zero (Figura 16). A SOD compreende uma família de metaloenzimas com isoformas diferentes, que são reguladas em diversos momentos e localizações subcelulares por vários tipos de estresse biótico e abiótico (GILL; TUTEJA, 2010). Gao, Yan e Chen (2015) também encontraram aumento na atividade da enzima SOD em sementes de *Jatropha curcas* L. após 3 meses de armazenamento tanto em temperatura ambiente quanto em ambientes refrigerados (4, -20 e -80 °C). Esse aumento na atividade desta enzima aos três meses de armazenamento pode ter ocorrido devido ao ajuste inicial causado pela mudança das condições nas quais a semente foi exposta nos ambientes de armazenamento.

Quando as sementes foram mantidas em temperatura ambiente, a maior atividade da catalase (CAT) ocorreu aos seis e nove meses, diferenciando-se também da condição de ambiente refrigerado nos mesmos períodos. Em ambas as condições de armazenamento, houve uma redução significativa na atividade da enzima catalase após os 15 meses. A CAT, que realiza a decomposição de peróxido de hidrogênio em oxigênio e água, participa da eliminação de ERO em todas os organismos aeróbicos (GILL; TUTEJA, 2010). O aumento na atividade dessa enzima aos seis e nove meses na condição ambiente, bem como a manutenção da atividade desta enzima até os nove meses na condição refrigerada, pode ser interpretado como uma tentativa de defesa celular contra os radicais livres e outras moléculas formadas devido ao estresse do armazenamento e a deterioração fisiológica.

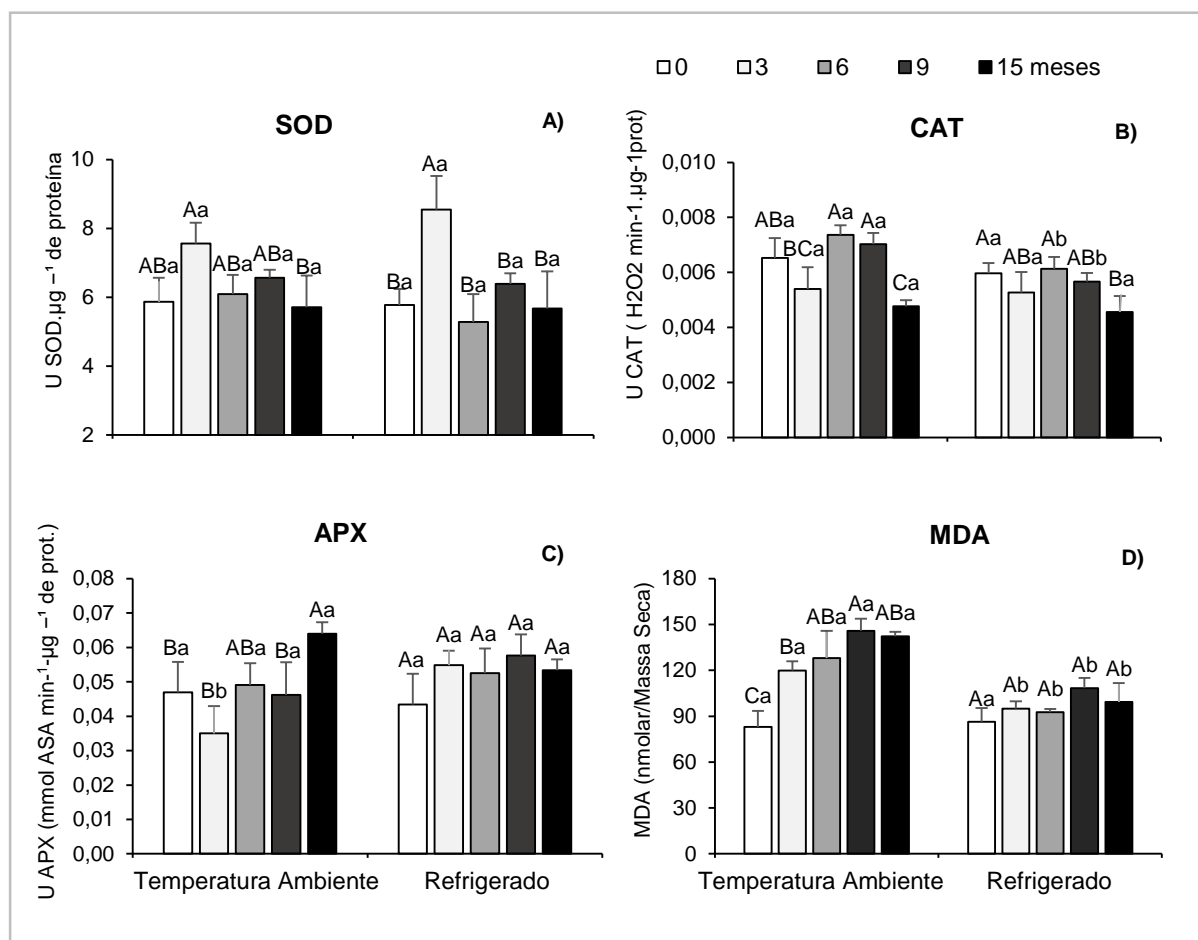


Figura 16. A) Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), B) catalase (CAT), C) ascorbato peroxidase (APX) e D) teor de malondialdeído (MDA), em sementes de *Schinus terebinthifolia* armazenadas durante 15 meses em dois ambientes diferentes. *Médias seguidas de mesma letra maiúsculas entre períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 15 meses) e minúsculas entre ambientes (temperatura ambiente e refrigerado) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) também foi influenciada pelas condições de armazenamento. As sementes mantidas em temperatura ambiente apresentaram maior atividade aos quinze meses ($p < 0,05$), já no ambiente refrigerado a atividade se manteve estável ao longo dos períodos avaliados. A CAT reduz os níveis de H_2O_2 nos peroxissomos. Já a APX apresenta pelo menos cinco isoformas, incluindo tilacóides (tAPX) e formas de membrana de glioxissomas (gmAPX), bem como a forma solúvel do estroma dos cloroplastos (sAPX) e a forma citosólica (cAPX) (GILL; TUTEJA, 2010; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011). Desta forma, o aumento de APX aos 15 meses de armazenamento na condição de temperatura ambiente pode ter ocorrido pelo aumento dos níveis de H_2O_2 em outros locais das células, como o citosol. Já foi demonstrado que as atividades da enzima SOD, CAT e APX se mantiveram estáveis ao longo do armazenamento de sementes

de *S. terebinthifolia* submetidas a diferentes porcentagens de umidade relativa ao longo do armazenamento, especialmente SOD e APX que se mantiveram em níveis baixos (RIBEIRO *et al.*, 2018).

Em um estudo de Melo *et al.*, (2020), os autores verificaram aumento da atividade das enzimas SOD, CAT e APX após 12 meses em sementes de *Moringa oleifera* Lam armazenadas em ambiente refrigerado (4°C e 20-25% UR) e em câmara de crescimento (27 °C e 60-65% UR). Essas condições de armazenamento também aumentaram a atividade dessas três enzimas em sementes de *Araucaria angustifolia*, armazenadas por 90 dias (ARALDI *et al.*, 2016). Em estudo de Kong, Hou e Mao (2015), avaliando a atividade de SOD, CAT e APX em sementes de *Avena sativa* L. (aveia) armazenadas com diferentes graus de umidade sob a temperatura de 4 °C, nos períodos de 0, 6 e 12 meses, houve aumento da atividade de SOD e CAT aos 6 meses em sementes com grau de umidade de 4 e 16%, respectivamente, seguidos de redução aos 12 meses. Já na APX, houve um aumento na atividade aos 6 meses, que se manteve na avaliação de 12 meses.

A extensão do estresse oxidativo em uma célula é determinada pela quantidade de $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 e radicais hidroxila produzidos. Portanto, o equilíbrio das atividades de SOD, CAT e APX são cruciais para suprimir os níveis tóxicos de ERO em uma célula. Porém, o desequilíbrio de uma enzima eliminadora pode induzir mecanismos compensatórios, e assim como ocorreu no nosso estudo, a enzima APX pode ser regulada para cima quando a atividade CAT é reduzida nas plantas (APEL; HIRT, 2004).

O malondialdeído (MDA), um dos produtos de decomposição dos ácidos graxos poliinsaturados-AGP da membrana, pode ser considerado um indicador confiável desse estresse oxidativo (RATAJCZAK *et al.*, 2019; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011). Nessa avaliação, foi observado que quando as sementes foram armazenadas em temperatura ambiente houve um aumento significativo ($p < 0,05$) no teor de MDA, que apresentou maiores valores a partir dos seis meses de armazenamento. Já no ambiente refrigerado não houve aumento nos valores de MDA, sendo verificados menores valores quando comparado à condição de temperatura ambiente já nos 3 meses após o início do armazenamento. Diferente dos resultados obtidos nesse estudo, Ribeiro *et al.*, (2018) observaram uma redução no nível de MDA em sementes de *S. terebinthifolia* ao longo do armazenamento realizado em diferentes porcentagens de umidade relativa.

Sabe-se que as células vegetais podem sofrer danos causados pelo excesso de ERO devido à alta quantidade de AGPI em fosfolipídios de membrana, por isso, esse dano é considerado o principal evento que ocorre no envelhecimento da semente. Diversos estudos têm mostrado que o MDA, como o produto final da peroxidação lipídica, tem sido usado com sucesso como um indicador desse nível de peroxidação lipídios e danos de membrana (GAO *et al.*, 2015; EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019). Esses fatores causam a morte celular através da abertura de poros, perda da homeostase iônica e rompimento da membrana, interferindo em sua função e comprometendo o metabolismo e germinação das sementes após o armazenamento (KAEWNAREE *et al.*, 2011; AGMON *et al.*, 2018).

Houve diferença estatística ($p > 0,05$) na avaliação de permeabilidade de membranas, por meio do teste de condutividade elétrica na comparação das duas condições de armazenamento. As sementes armazenadas por 15 meses em ambiente refrigerado tiveram uma liberação de eletrólitos 27% menor quando comparadas as que foram mantidas em temperatura ambiente (Figura 17).

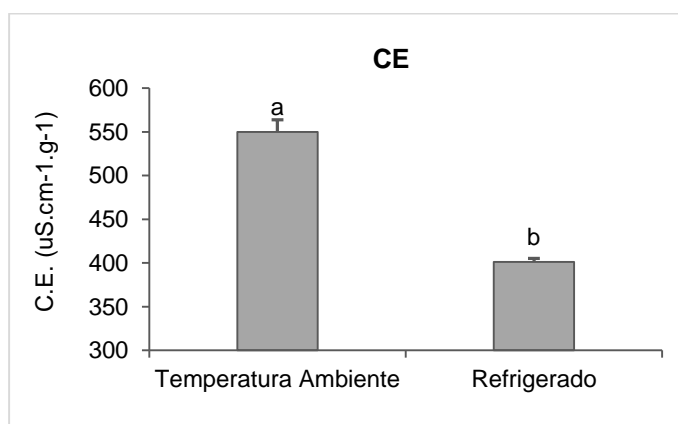


Figura 17. Avaliação da Condutividade Elétrica ($\text{uS}/\text{cm}^{-1}/\text{g}^{-1}$) em sementes de *Schinus terebinthifolia* armazenadas durante 15 meses em dois ambientes diferentes. *Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A bicamada semipermeável de fosfolipídios que compõe a membrana plasmática tem uma forma cilíndrica, porém, quando as sementes se deterioram, os fosfolipídios se organizam em um formato de cone, o que faz com que a membrana seja incapaz de manter uma bicamada uniforme. Essas mudanças morfológicas levam

a mudanças na estrutura celular e na permeabilidade seletiva da membrana (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019). Portanto, uma característica comum das sementes envelhecidas é seu aumento na quantidade de lixiviados quando as sementes são embebidas em água (LÓPEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2018, ZHANG *et al.*, 2021). No nosso estudo, o aumento no conteúdo de MDA e a maior permeabilidade de membranas foi positivamente relacionado ao nível de deterioração e à diminuição na germinabilidade do lote de sementes mantido em temperatura ambiente.

Nesse sentido, o aumento na peroxidação lipídica (MDA) assim como a maior atividade de algumas enzimas e a perda da qualidade de sementes mais acentuada quando armazenadas em condição de temperatura ambiente, pode ser atribuído a sequência de eventos que caracterizam a deterioração das sementes. O envelhecimento da semente causa várias mudanças deletérias dentro das células, como dano ao DNA, perda de síntese de RNA, perda de integridade da membrana, entre outros (WOJTYLA *et al.*, 2016). Além disso, várias enzimas críticas para o metabolismo, como ATP sintase, amilase, citocromo c oxidase, carboxilase, desidrogenases, DNA polimerase, DNA ligase, esterase, lipoxigenase, fosfatases e proteinases, são inativadas quando as sementes se deterioram (ZHANG *et al.*, 2021). Essas perdas podem resultar em diminuição no potencial respiratório na semente, e conseqüentemente, menor produção de energia (ATP) e compostos essenciais, levando a menores percentagens de germinação (XIN *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2021). Segundo Hooks, Allen e Wattis (2010), o envelhecimento e a oxidação lipídica também podem comprometer o consumo de reservas e sua mobilização para o processo de germinação.

A redução na qualidade fisiológica das sementes armazenados em temperatura ambiente, bem como os danos na membrana, demonstrados pelo aumento no teor de MDA e da lixiviação de eletrólitos no teste de condutividade elétrica, indicam que essa condição ocasionou uma maior deterioração nas sementes após 15 meses de armazenamento (Figura 18). Já o ambiente refrigerado foi capaz de preservar as estruturas básicas para o metabolismo da germinação de *S. terebinthifolia*, o que contribuiu para sua conservação ao longo deste período. O armazenamento em baixas temperaturas já provou ser uma técnica eficiente para prevenir a mobilização de compostos de reserva de sementes de espécies nativas como *Amburana cearenses* (Allemão) AC Sm. e garantiu uma boa emergência de plântulas de *Adenantha pavonina* L. (ARAUJO *et al.*, 2017; GUGÉ *et al.*, 2019).

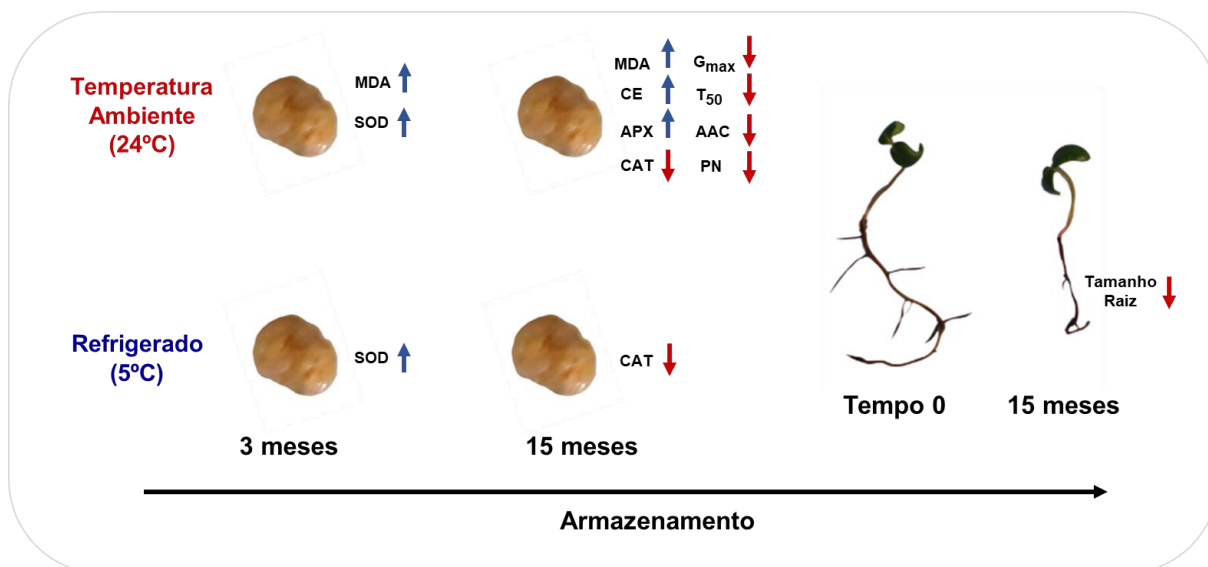


Figura 18: Alterações fisiológicas e bioquímicas ocorridas durante o armazenamento sementes de aroeira-vermelha em 2 condições.

A reserva dos cotilédones de *S. terebinthifolia* consiste, principalmente, de proteínas e lipídeos (CARMELLO-GUERREIRO; PAOLI, 1999), por isso, o alto teor de óleo pode contribuir para redução do seu poder de germinação. Os lipídios têm menos estabilidade química do que o amido, com isso, em condições de baixas temperaturas, como as do ambiente refrigerado utilizado neste trabalho, ocorreu uma diminuição do metabolismo, resultando em uma menor atividade fisiológica e menor perda de substâncias de reserva devido à respiração e peroxidação lipídica (MARCOS FILHO, 2015; BALEŠEVIĆ-TUBIĆ *et al.*, 2010).

Nosso estudo sugere que a eliminação de ERO pelo sistema enzimático pode não ser suficiente para garantir a mesma qualidade inicial das sementes ao longo do armazenamento, principalmente em condições de temperatura ambiente. As perdas da viabilidade e vigor das sementes podem estar relacionadas a danos oxidativos localizados no eixo embrionário (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019), tendo em vista que a diminuição do tamanho das raízes foi observada em ambas as condições ao longo dos 15 meses de armazenamento. No entanto, as alterações na atividade das enzimas SOD, CAT e APX sugerem que elas estejam relacionadas com a eliminação do excesso de ERO e, conseqüentemente, na redução desse dano oxidativo ao embrião, visto que nas duas condições houve uma germinação satisfatória ao final dos 15 meses. O nosso estudo também mostra o papel fundamental das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX) na manutenção da

viabilidade, qualidade e vigor das sementes de *S. terebinthifolia* durante o armazenamento. No entanto, estudos adicionais são necessários para elucidar se o estresse oxidativo em partes específicas do embrião está relacionado com a deterioração das sementes dessa espécie.

4.4. CONCLUSÃO

As sementes obtidas de frutos no estágio Vermelho apresentam melhor qualidade fisiológica representada pela massa seca, tamanho, peso de mil sementes, germinação, vigor e desenvolvimento inicial de plântulas, além de serem mais tolerantes à secagem, sendo assim pode-se considerar este o estágio no qual as sementes atingem a maturidade fisiológica para serem colhidas.

A secagem ambiente reduz significativamente o desempenho germinativo de sementes de *S. terebinthifolia*, podendo este fato ser indicativo da menor tolerância à dessecação das sementes desta espécie, o que pode levar a classificá-las como intermediárias. No entanto, são necessários estudos mais específicos e aprofundados para a investigação deste comportamento.

O ambiente refrigerado preservou a longevidade das sementes durante 15 meses, sendo uma condição indicada para o armazenamento por esse período.

Houve uma relação entre as atividades das enzimas SOD, CAT e APX e a manutenção da viabilidade das sementes, portanto essas enzimas podem ser utilizadas como marcadores bioquímicos para avaliação a qualidade das sementes.

As sementes armazenadas na condição ambiente tiveram menor longevidade por 15 meses, sendo a perda da qualidade das sementes nessa condição relacionada com o aumento da peroxidação lipídica (MDA) e os danos em membranas (CE), portanto, estes dois parâmetros também podem ser considerados como possíveis marcadores bioquímicos a serem utilizados na avaliação da qualidade de sementes de *S. terebinthifolia* ao longo do armazenamento.

Referências Bibliográficas

AGMON, E.; SOLON, J.; BASSEREAU, P.; STOCKWELL, B.R. Modeling the effect of lipid peroxidation during ferroptosis on membrane properties. **Scientific Reports**. v. 8, 5155, 2018.

ALFENAS, A. C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismos**. 2ª Ed. Viçosa: Ed.UFV. 2006.

ALVES, R.M.; SILVA, M.A.D.; SILVA, E.F.; ALVES, R.J.R.; MOURA, D.P.; SILVA, J.N. Stored diaspores of *Astronium urundeuva* Fr. (M. Allemão) Engl. (Anacardiaceae) submitted to hydropriming. **Journal of Seed Science**, v. 42, e202042026, 2020.

ANGELOVICI, R.; GALILI, G.; FERNIE, A. R.; FAIT, A. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 4, p. 211-218, 2010.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

ARALDI, C.G.; COELHO, C.M.M.; GAZIOLA, S.A. AZEVEDO, R.A. Storage elicits a fast antioxidant enzyme activity in *Araucaria angustifolia* embryos. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 8, 2016.

ARAUJO, M.N.; FERRAZ, M.; AMÉRICO, F.K.A.; SILVA, F.F.S.; DANTAS, B.F.; CRUZ, C.R.P. Seed quality of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Sm. (Fabaceae) is influenced by storage condition. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 4, p. 401-409, 2017.

ÁVILA, A.L.; ARGENTA, M.S.; MUNIZ, M.F.B.; POLETO, I.; BLUME, E. Maturação fisiológica e coleta de sementes de *Eugenia uniflora* L. (pitanga), Santa Maria. **Revista Ciência Florestal**, v. 19, n. 1, p. 61-68, 2009.

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

BALESEVIC-TUBIC, S.; TACTIC, M., DORDEVIC, V.; NIKOLIC, Z.; DUKIC, V. Seed viability of oil crops depending on storage conditions. **Helia**, v. 33, n. 52, p. 153-160, 2010.

BARROSO, N.S.; SOUZA, M.O.; RODRIGUES, L.C.S.; PELACANI, C.R. Maturation stages of fruits and physiological seed quality of *Physalis ixocarpa* BROT. EX HORMEN. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 3. p. 1-9, 2017.

BERGMEYER, N. **Methoden der enzymatischen analyse**. Akademie Verlag, Berlin, 1970. v. 1, p. 636-647.

BEWLEY J.D.; BRADFORD K.J.; HILHORST H.W.M.; NONOGAKI H. **Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3^o ed. New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer; 2013. 392p.

BRADFORD, M.M.A. rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 398p.

BRITO, C.D.; LOUREIRO, M.B.; SOUZA JÚNIOR, A.P.; FERNANDEZ, L.G.; CASTRO, R.D. Morphophysiological profile of *Jatropha curcas* L. fruits and seeds maturation. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 3615-3628, 2015.

BUITINK J.; LEPRINCE O. Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. **Cryobiology**, v. 48, p. 215–228, 2004.

CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; PAOLI, A. A. S. Morfologia e anatomia da semente de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em desenvolvimento. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 1, p. 1-9, 1999.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 588p.

CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: BORGHETTI, F.; FERREIRA, A.G. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 51-68.

CRUZ, E.D.; MARTINS, F.O.; CARVALHO, J.E.U. Biometria de frutos e sementes e germinação de jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 161-165, 2001.

DE CASTRO, R.D.; HILHORST, H.W.M. Embebição e Reativação do Metabolismo. In: **Germinação: do básico ao aplicado** (A. Gui Ferreira; Borghetti, F., orgs.) Artmed, Porto Alegre, p. 149-162. 2004.

DIAS, D.C.F.S.; RIBEIRO, F.P.; DIAS, L.A.S.; SILVA, D.J.H.; VIDIGAL, D.S. Tomato seed quality in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, v. 34, p. 691-699, 2006.

EBONE, L.A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 145, p. 34-42, 2019.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behaviour? **Journal of Experimental Botany**, v. 41, n. 9, p. 1167-1174, 1990.

ELSHARKAWY M.M.; EL-SAWY M.M. Control of Bean common mosaic virus by plant extracts in bean plants. **International Journal of Pest Management**, v. 61, n. 1, p. 54-59, 2015.

ESTEVIÃO, L. R. M.; MEDEIROS, J. P.; SIMÕES, R.S.; ARANTES, R.M.E.; RACHID, M.A.; SILVA, R.M.G.; MENDONÇA, F.S.; NETO, J.E. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 289-295, 2015.

FARRANT J.M.; MOORE J.P. Programming desiccation-tolerance: from plants to seeds to resurrection plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 340-345, 2011.

FERREIRA-FILHO P.J.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; SILVA, J.M.S.; GUERREIRO, J.C.; GHIOTTO, T. C.; PIOTROWSKI, I.; DIAS, L. P.; WILCKEN, C.F.; ZANUNCIO, J. C. The exotic wasp *Megastigmus transvaalensis* (Hymenoptera: Torymidae): first record and damage on the Brazilian peppertree, *Schinus terebinthifolius* drupes. São Paulo, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, p. 2091-2095, 2015.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In... REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000. **Anais...** São Carlos, SP: SIB, p. 255-258, 2000.

FERREIRA, R.A.; SANTOS, P.L.; ARAGÃO, A.G.; SANTOS, T.I.S.; SANTOS NETO, E.M.; REZENDE, A.M.S. Semeadura direta com espécies florestais na implantação de mata ciliar no Baixo São Francisco em Sergipe. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 81, p. 37-46, 2009.

FONSECA, D.A.; BACKES, A.R.; ROSENFELD, M.F.; OVERBECK, G.E.; MÜLLER, S.C. Avaliação da regeneração natural em área de restauração ecológica e mata ciliar de referência. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 2, p. 521- 534, 2017.

GAO, S.; YAN, R.; CHEN, F. Effects of different storage temperatures and times on germination and antioxidant responses of *Jatropha curcas* seeds. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, p. 1619-1628, 2015.

GHIOTTO, T.C.; PRADO, M.C.N.; GIULIANI, G.K.F. *Megastigmus* seed wasp damage on native *Schinus terebinthifolia* drupes in ecological restoration area in Brazil. **Scientific Reports**, v. 9, p. 2438, 2019.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

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

GUEDES, R.S.; ALVES, E.U.; BRUNO, R.L.A.; GONÇALVES, E.P.; COSTA, E.G.; MEDEIROS, M.S. Armazenamento de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 68- 75, 2012.

GUGÉ, L.M.A.; GUGÉ, R.M.A.; COELHO, R.S.; NASCIMENTO, F.M.; CASTRO FILHO, M.N. Avaliação de técnicas de armazenamento de sementes de tento-carolina (*Adenantha pavonina* L.) em função de diferentes tipos de embalagens e ambientes. **Biodiversidade**, n. 18, v. 3, p. 126-135, 2019.

HAY, F.R.; PROBERT, R.J. Advances in seed conservation of wild plant species: a review of recent research. **Conservation Physiology**, v. 1, 2013.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation, **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, p. 180-198, 1968.

HELL, A.F.; KRETZSCHMAR, F.S.; SIMÕES, K.; HEYER, A.G.; BARBEDO, C.J.; BRAGA, M.R. CENTENO, D.C. Metabolic Changes on the Acquisition of Desiccation Tolerance in Seeds of the Brazilian Native Tree *Erythrina speciosa*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 1356, 2019.

HOOKE, M.A.; ALLEN, E.; WATTIS, J.A.D. Modelling the peroxisomal carbon leak during lipid mobilization in *Arabidopsis*. **Biochemical Society Transactions**, v. 38, n. 5, p. 1230-1233, 2010.

JOSÉ, A. C.; DAVIDE, A. C.; OLIVEIRA, S.L. Produção de mudas de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para recuperação de áreas degradadas pela mineração de bauxite. **Cerne**, v. 11, n. 2, p. 187-196, 2005.

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

KAERNAREE, P.; VICHITOHAN, S.; KLANRIT, P.; SIRI, B.; VICHITOHAN, K. Effect of accelerated aging process on seed quality and biochemical changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* Linn.) seeds. **Biotechnology**, v. 10, p. 175–182, 2011.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.C.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709-725, 2011.

KONG, L.; HUO, H.; MAO, P. Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 158. 2015.

LEONHARDT, C; BUENO, O. L.; CALIL, A. C.; BUSNELLO, Â.; ROSA, R. Morfologia e desenvolvimento de plântulas de 29 espécies arbóreas nativas da área da Bacia Hidrográfica do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia Série Botânica**, v. 63, n.1, p.5-14, 2008.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 17, n. 2, 2004.

LIMA, C.R.; BRUNO, R.L.A.; SILVA, K.R.G.; PACHECO, M.V.; ALVES, E.U. ANDRADE, A.P. Physiological maturity of fruits and seeds of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 2 p. 231-240, 2012.

LOPES, I.S.; NÓBREGA, A.M.F.; MATOS, V.P. Maturação e colheita da semente de *Amburana cearensis* (Allem.) A. C. Smith. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 565-572, 2014.

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, M.P.; MOYANO, L.; CORREA, M.D.; VASILE, F.; BURRIEZA, H.P.; MALDONADO, S. Deterioration of willow seeds during storage. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 11, 2018.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v.1, 5^o Ed., 2008, 384p.

LULSDORF, M.M.; YUAN, H.Y.; SLATERAMH, VANDENBERG, A.; HAN, X.; ZAHARIA, L.I. Endogenous hormone profiles during early seed development of *C. arietinum* and *C. anatolicum*. **Plant Growth Regulation**. v. 71, n. 2, p. 191-198, 2013.

MAIA, J.; DEKKERS, B.J.; DOLLE, M.J.; LIGTERINK, W.; HILHORST, H.W. Abscisic acid (ABA) sensitivity regulates desiccation tolerance in germinated Arabidopsis seeds. **New Phytologist**, v. 203, p. 81-93, 2014.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015. 659p.

MASETTO, T.E.; NEVES, E.M.S.; SCALON, S.D.P.Q.; DRESCH, D.M. Drying, storage and osmotic conditioning of *Psidium guineense* Swartz seeds. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 17, p. 2591-2598, 2014.

MEDEIROS, A.C.; ZANON, A. Conservação de sementes de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* RADDI). **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 36, p. 11-20, 1998.

MELO, S.M.B; OLIVEIRA, D.F.A.; SOUZA, N.C.; SILVA, W.K.T.; MACÊDO, C.E.C.; VOIGT, E.L.; Oxidative status of *Moringa oleifera* Lam. seeds during storage. **South African Journal of Botany**, v. 129. p. 429-434, 2020.

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

NEVES, E.J.M; SANTOS, A.M; GOMES, J.B.V; RUAS, F.G; VENTURA, J.A. Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para produção de pimento rosa. Colombo: **Embrapa Florestas**, 2016. 10p. (Documentos, 294).

PACHECO, M.V.; C.S. SILVA; T.M.T. SILVEIRA; L.S. HÖLBIG; F.S.; HARTER; F.A. VILLELA. Physiological Quality Evaluation of the Raddi *Schinus terebinthifolius* Seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 4, p. 762-767, 2011.

PEREIRA, C.E.; SILVA, L.A.M. Produção de sementes de essências florestais. In: SAMBUICHI, R.H.R., MIELKE, M.S., and PEREIRA, C.E., org. **Nossas árvores: conservação, uso e manejo de árvores nativas no sul da Bahia** [online]. Ilhéus, BA: Editus, 2009, p. 111-123. ISBN: 978-85-7455- 515-7.

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

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; NOGUEIRA, E.S.; PEIXOTO, M.C.; REIS, L.L. Estado da arte da produção de sementes de espécies florestais na Mata Atlântica. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FREIRE, J.M.; LELES, P.S.S.; BREIER, T.B. **Parâmetros técnicos para produção de sementes florestais**. Seropédica: EDUR, 2007. 186p.

PINTO, J.V.C.; POLETO, G.V.; KATO, E.M.; VIEIRA, M.C.; ZÁRATE, N.A, H.; BOTTEGA, S.P.; RECH, J. Germinação, umidade e quebra de dormência em sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 6253-6258, 2012.

OLIVER, M. J.; FARRANT, J. M.; HILHORST, H. W. M.; MUNDREE, S.; WILLIAMS, B., BEWLEY, J. D. Desiccation Tolerance: Avoiding Cellular Damage During Drying and Rehydration. **Annual Review of Plant Biology**, v. 71, n. 1, p. 435-460, 2020.

OLIVEIRA, F.T.G.; VITÓRIA, R.Z.; POSSE, S.C.P.; ARANTES, S.D.; SCHMILDT, O.; VIANA, A.; MALIKOUSKI, R.G.; BARROS, B.L.A. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira em função das condições de armazenamento. **Nucleus**, v.15, n. 2, p. 567-574, 2018.

OLIVEIRA, V.S.; AUGUSTA, I.M.; BRAZ, M.V.D.C.; RIGER, C.J.; PRUDÊNCIO, E.R.; SAWAYA, A.C.H.F.; SAMPAIO, G.R.; TORRES, E.A.F.D.S.; SALDANHA, T. Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 15, n. 315, 126274, 2020a.

ORO, P.; SCHULZ, D.G.; VOLKWEIS, C.R.; BANDEIRA, K.B.; MALAVASI, U.C.; MALAVASI, M.M. Maturação fisiológica de sementes de *Eugenia pyriformis* Cambess e *Eugenia involucrata* DC. **Revista Biotemas**, v. 25, n. 3, p. 11-18, 2012.

RIBEIRO-OLIVEIRA, J.P.; RANAL, M.A. Sementes florestais brasileiras: início precário, presente inebriante e o futuro, promissor? **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 771-784, 2014.

RIBEIRO, L.P., LEITE FILHO, A.T., SILVA, L.B.J., SILVA, V.F., BORGES, E.E.L. Physiological and biochemical changes in brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) seeds during storage. **Revista Árvore**, v. 42, n. 1, e420105, 2018.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 4, p. 499-514, 1973.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURYII, R.M.; SCALON FILHO, H.; FRANCELINO, C.S.F.; FLORENCIO, D.K.A. Armazenamento e tratamentos pré-germinativos em sementes de jacarandá (*Jacaranda cuspidifolia* Mart.). **Revista Árvore**, v. 30, n. 2, p. 179-85, 2006.

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

SHIBATA, M.; PRADO, J. P. C.; OLIVEIRA, L. M. Germination and electrical conductivity of *Schinus terebinthifolius* seeds (Anacardiaceae). **Acta Biológica Catarinense**, v. 6, n. 3, p. 98-105, 2019.

SILVA, R.M.; CARDOSO, A.D.; DUTRA, F.V.; MORAIS, O.M. Aspectos biométricos de frutos e sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. Ex Tul. provenientes do semiárido baiano. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 85-91, 2017.

SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R.A.; RABBANI, A.R.C.; OLIVEIRA, A.S.; SOUZA, E.M. Qualidade de Sementes. In: Gomes; L.J.; Silva-Mann, R.; Mattos, P.P. **Pensando a biodiversidade: aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. São Cristóvão: Editora UFS, 2013.

SMITH, M.T.; BERJAK, P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation-tolerant and desiccation-sensitive seeds. In: Jaime, J., Galili, G. (Eds.), **Seed: Development and Germination**. Marcel Dekker Inc., New York, p. 701–746, 1995.

SOUZA, A.A.; BRUNO, R.L.A.; LOPES, K.P.; CARDOSO, G.D.; PEREIRA, W.E.; FILHO, J.C. Seeds of *Spondias tuberosa* originated from fruits harvested at four maturation stages and stored. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 372-378, 2005.

SOUZA, D.C.L.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R.A.; GOMES, L.J.; ALMEIDA, T.S.; OLIVEIRA, A.S.; PEREIRA, G.S.; GOIS, I.B. Produção de frutos e características morfofisiológicas de *Schinus terebinthifolius* Raddi., na região do baixo São Francisco, Brasil. **Revista Arvore**, v. 37 n. 5, p. 923-932, 2013.

TEIXEIRA, F.P.; FARIA, J.M.R.; PEREIRA, W.V.S.; JOSÉ, A.C. Maturation and Desiccation Tolerance in Seeds of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 4, e20160419, 2018.

TLILI, N.; YAHIA, Y.; FERIANI, A.; LABIDI, A.; GHAZOUANI, L.; NASRI, N.; SAADAOU, E.; KHALDI, A. *Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits, **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 559–565, 2018.

TOTTI, L.C.; MEDEIROS, A.C.S. **Maturação e Época de Colheita de Sementes de Aroeira-vermelha. Comunicado Técnico.** Colombo-PR, Dezembro, 2006. 4p.

VITÓRIA, R.Z.; OLIVEIRA, F.T.G.; POSSE, S.C.P.; ARANTES, S.D.; SCHMILDT, O.; VIANA, A.; MALIKOUSKI, R.G.; BARROS, B.L.A. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira em função da maturação dos frutos sob diferentes temperaturas de germinação. **Nucleus**, v. 15, n. 2, p. 575-582, 2018.

WALTERS, C.; BERJAK, P.; PAMMENTER, N.; KENNEDY, K.; RAVEN, P. Preservation of recalcitrant seeds. **Science**, v. 339, p. 915-916, 2013.

WIELEWICKI, A.P.; LEONHARDT, C.; SCHLINDWEIN, G.; MEDEIROS, A.C.S. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 191-197, 2006.

WOJTYLA, Ł.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers Plant Science**. v. 7, p. 66, 2016.

XIN, X.; TIAN, Q.; YIN, G.; CHEN, X.; ZHANG, J.; NG, S. Reduced mitochondrial and ascorbate–glutathione activity after artificial ageing in soybean seed. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, p. 140-147, 2014.

ZHANG, K.; ZHANG, Y.; SUN, J.; MENG, J.; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 475-485, 2021.

5. CAPÍTULO II: ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE AROEIRA-VERMELHA (*Schinus terebinthifolia* RADDI.) SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA

5.1. INTRODUÇÃO:

Diversos estudos abordam o potencial econômico de espécies nativas brasileiras que são proeminentes pelo seu valor nutricional ou medicinal. Entre elas, *S. terebinthifolia*, conhecida como aroeira-vermelha ou pimenta-rosa, se destaca por possuir frutos que são amplamente utilizados na culinária como tempero, sendo um substituto para pimenta, além de fornecer propriedades nutricionais e benéficas à saúde humana (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Além disso, a aroeira-vermelha é tradicionalmente empregada na medicina por suas atividades antioxidantes, terapêuticas, antissépticas e anti-inflamatória, cicatrizante e no tratamento de infecções urinárias e respiratórias (BERNARDES *et al.*, 2014; LIMA GLÓRIA *et al.*, 2017).

A espécie *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae) é nativa da América do Sul e se espalhou para outras regiões da América Central, Europa, Ásia e África. No Brasil é facilmente encontrada ao longo da costa, desde o Nordeste até o Sul e constitui uma fonte alternativa viável de renda para a agricultura familiar e pequenos produtores extrativistas (JESUS *et al.*, 2013). Além disso, devido ao seu valor no mercado, já existem no Brasil plantios comerciais para produção de frutos (NEVES *et al.*, 2016). A espécie também se mostra promissora no processo de recuperação de matas ciliares, como potencial fitorremediadora de solos contaminados e na utilização em sistemas agroflorestais consorciada com outras culturas (FERREIRA *et al.*, 2009; KUKI; OLIVA; COSTA, 2009; FEIJÓ; MIELKE; GOMES, 2009; BONA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2017).

Com a necessidade de propagação de árvores nativas, como *S. terebinthifolia*, surge a necessidade de conhecimentos que permitam a obtenção de sementes dessas espécies com boa qualidade física e fisiológica, capazes de suprir a demanda de produção em larga escala de programas de recomposição da vegetação e plantios comerciais (RIBEIRO-OLIVEIRA; RANAL, 2014; PAPARELLA *et al.*, 2015). Do ponto de vista de sustentabilidade e conservação, as pesquisas relacionadas ao processo

germinativo de suas sementes, podem ser a base para eventual plano de domesticação, manejo, propagação e uso desta espécie.

Para a realização de recomposição de matas nativas são necessárias sementes com qualidade (viabilidade e vigor) que possam suportar diversos tipos de estresse, sendo necessário o estudo do comportamento fisiológico destas sementes para que se possa entender melhor os mecanismos de retomada de germinação e o seu comportamento sob condições ambientais adversas, e assim estabelecer protocolos de otimização do processo germinativo. Durante a germinação, as células do embrião mudam para um estado metabolicamente ativo no qual ocorrem vários eventos fisiológicos e bioquímicos, como alongamento e ativação do ciclo celular, além de transcrição e tradução de proteínas e enzimas antioxidantes, dentre outros compostos (BEWLEY *et al.*, 2013; ROSENTAL; NONOGAKI; FAIT, 2014; BRITO *et al.*, 2016).

A seca é um dos principais fatores ambientais que afetam a germinação de sementes e estabelecimento de plântulas, alterando a viabilidade e o vigor das sementes. No entanto, em algumas situações, a embebição controlada pode funcionar como um pré-tratamento em uma técnica conhecida como condicionamento osmótico. Este método consiste na hidratação das sementes em soluções de baixo potencial osmótico por determinado período, de modo que as mesmas iniciem a embebição, porém, o processo é interrompido assim que entram em equilíbrio com o potencial osmótico da solução (PAPARELLA *et al.*, 2015). Isso faz com que ocorram os processos iniciais da germinação, mas que não haja expansão e divisões celulares o suficiente para que ocorra a protrusão da radícula embrionária, ou seja, sem que a germinação seja concluída, podendo proporcionar uma emergência de plântulas de forma mais rápida e uniforme (HEYDECKER; HIGGINS; GULLIVER, 1973; DE CASTRO; HILHORST, 2004; MARCOS FILHO, 2015). No entanto, os fatores fisiológicos, os mecanismos subjacentes relacionados à restrição hídrica e osmocondicionamento não são totalmente compreendidos, especialmente quando se refere a espécies florestais nativas ainda não completamente domesticadas, como é o caso de *S. terebinthifolia*.

Uma característica comum das respostas das plantas em relação a todos os estresses abióticos é a produção das chamadas espécies reativas de oxigênio (ROS; JASPERS; KANGASJARVI, 2010; PETROV *et al.*, 2015). Em condições normais, as ERO são componentes de diversas vias de sinalização da célula, sendo produzidas continuamente como subprodutos das reações de oxidação-redução em níveis

menores em organelas tais como: cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos durante o desenvolvimento vegetal, no entanto, em condições de estresse, ocorre o aumento na taxa de produção destas espécies, causando danos oxidativos em proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos (GILL; TUTEJA, 2010).

Para evitar o efeito desses estresses as plantas desenvolveram sofisticadas adaptações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas para sobreviver no meio ambiente (HIRAYAMA; SHINOZAKI, 2010). Dentre os mecanismos, estão a atividade das enzimas antioxidantes tais como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), que atuam como removedores de espécies reativas de oxigênio, evitando os danos das ERO nas células (APEL; HIRT, 2004; HASANUZZAMAN *et al.*, 2012; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011).

Portanto, o entendimento desses mecanismos pode auxiliar no desenvolvimento de técnicas que promovam a produção de sementes e mudas mais tolerantes à estresses abióticos. Diante do exposto, o objetivo do presente Capítulo foi avaliar o efeito da restrição hídrica (estresse osmótico) sobre a germinação de sementes, vigor e desenvolvimento de plântulas de *Schinus terebinthifolia*, o efeito desse estresse na atividade de enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX em sementes e plântulas e o uso do osmocondicionamento como tratamento pré-germinativo e pré-semeadura para sementes da espécie estudada.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1. Obtenção das sementes

Os frutos de *Schinus terebinthifolia* utilizados no trabalho foram coletados de aproximadamente 12 plantas matrizes, localizadas no município de Camaçari – BA (Catú de Abrantes). Após a coleta, os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos - LBBB do Instituto de Ciências da Saúde – ICS, da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, onde as sementes foram extraídas e selecionadas as intactas. Para condução dos experimentos foram utilizadas sementes extraídas de frutos maduros (frutos completamente vermelhos), secos em bancada sob temperatura ambiente (24°C), até atingir o grau de umidade de 7,6%, quando foram acondicionadas em embalagens de papel kraft, armazenadas

em caixas plásticas com sílica gel, e mantidas em geladeira ($5^{\circ} \pm 1,9^{\circ}\text{C}$ / UR $9 \pm 2,1\%$) durante a condução dos experimentos.

5.2.2. Restrição Hídrica (estresse osmótico) em sementes

Para o ensaio de restrição hídrica, as sementes de *Schinus terebinthifolia* foram distribuídas em caixas gerbox, utilizando-se o papel germitest umedecido com três vezes o peso do papel de água destilada (controle) e diferentes potenciais de restrição hídrica, utilizando-se para tal soluções osmóticas de PEG 8000 (-0.1, -0.2, -0.3, - 0,4 MPa e -0,8 MPa) na temperatura de 25°C . O preparo da solução de Polietilenoglicol (PEG 8000) foi realizado de acordo com as recomendações de Vilela e Beckert (2001). O experimento foi conduzido durante 21 dias, sendo a germinação monitorada diariamente. As sementes foram consideradas germinadas quando houve protusão radicular mínima de 2 mm. Foram calculados a porcentagem de germinação (G_{\max}), tempo para 50% da germinação total (T_{50}), uniformidade da germinação (U_{8416}) e área abaixo da curva (AAC) com auxílio do programa “Germinator” (JOOSEN *et al.*, 2010), além disso, foram avaliados o comprimento e massa seca de raiz e parte aérea das plântulas obtidas (Figura 19).

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições de 50 sementes por tratamento.

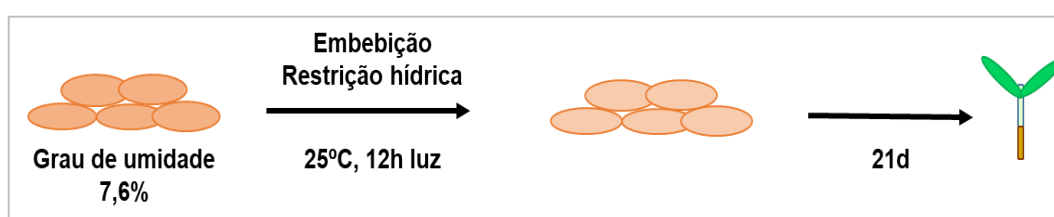


Figura 19: Representação esquemática do ensaio de restrição hídrica (estresse osmótico) em sementes de aroeira-vermelha.

5.2.3. Curva de embebição em diferentes potenciais osmóticos

A curva de embebição é importante tanto em estudos de permeabilidade do tegumento, como na determinação do período de embebição em sementes, no condicionamento osmótico e pré-hidratação em sementes. Para tal procedimento, as sementes foram mantidas em água destilada (controle) e sob restrição hídrica em

solução osmótica preparada com PEG 8000 nos potenciais de -0.2 MPa (restrição na qual a semente ainda é capaz de germinar) e -0,8 MPa (restrição hídrica que impede a germinação) e permaceram em germinador (Eletrolab, Mod. EL202) ajustado a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 h. Foram utilizadas para cada condição três repetições de 50 sementes. A curva de embebição foi feita com base no grau de umidade, calculado através do peso das sementes secas (antes do início do experimento), e após embebição (peso úmido) até completar 240 horas (Figura 20). O papel foi trocado e reumedecido a cada dois dias para manutenção da umidade e do potencial osmótico. Para avaliação, as sementes foram retiradas e secas superficialmente com papel toalha, pesadas a cada 24 h em balança de precisão, contadas e colocadas novamente nas condições dos tratamentos e retornadas ao germinador, segundo método descrito por Baskin e Baskin (2001).

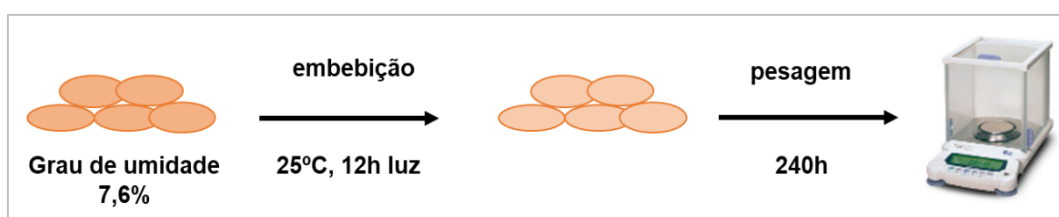


Figura 20: Representação esquemática do ensaio da curva de embebição em diferentes potenciais osmóticos.

5.2.4 Avaliação da atividade de enzimas antioxidantes durante a embebição de sementes sob restrição hídrica

Para as análises bioquímicas, as sementes foram distribuídas em caixas gerbox, utilizando o papel germitest umedecido com três vezes o peso do papel com água destilada (controle) e sob restrição hídrica utilizando-se soluções de PEG 8000 nos potenciais de -0.2 MPa (estresse leve) e -0,8 MPa (estresse severo). As sementes foram mantidas no germinador (Eletrolab, Mod. EL202) com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com esquema fatorial (3x4), sendo três potenciais osmóticos (0.0, -0.2 e -0.8 MPa) e quatro tempos de embebição (0, 24, 72 e 168 h). As amostras foram analisadas em triplicata utilizando-se 50 sementes por repetição (Figura 21).

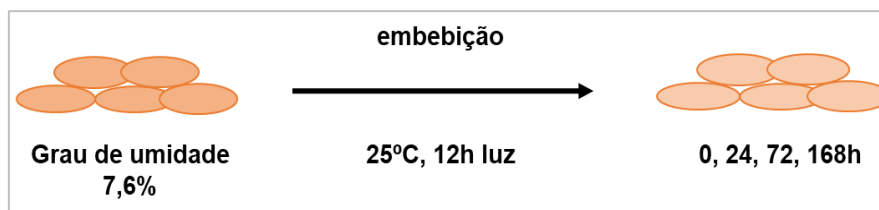


Figura 21: Representação esquemática do ensaio da curva de embebição em diferentes potenciais osmóticos.

Os extratos enzimáticos brutos utilizados para a determinação das atividades de SOD, CAT e APX foram produzidos a partir de sementes sem tegumento, liofilizadas por 48 horas e trituradas em nitrogênio líquido, até obtenção de um pó fino. A quantificação de proteínas totais e a análise da atividade enzimática foram realizados de acordo com a descrição do item 4.2.5. do Cap. I.

5.2.5. Restrição hídrica (estresse osmótico) em plântulas

Para se avaliar o efeito da restrição hídrica em plântulas de *Schinus terebinthifolia*, as sementes foram postas para germinar em caixas gerbox na temperatura de 25°C, utilizando-se como substrato o papel germitest umedecido com água em volume equivalente a três vezes o peso do papel. Após quatro dias da protusão da radícula, foram selecionadas três repetições de 10 plântulas de tamanho homogêneo para cada uma das seguintes condições: um tratamento foi transferido para caixas gerbox com substrato umedecido com solução de PEG -0,2 MPa (tratamento de estresse) e outro foi retransferida para caixas gerbox com substrato umedecido com água destilada (tratamento controle).

Após mais quatro dias submetidas as duas condições descritas, foram avaliados os parâmetros de comprimento de raiz e parte aérea. Posteriormente as plântulas foram retiradas, seccionadas em três partes (raiz, hipocótilo e colétilones), das quais uma parte das amostras foi usada para determinação da massa seca e outra parte foi imediatamente congeladas, liofilizadas por 48 h, trituradas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80 °C (Figura 22).

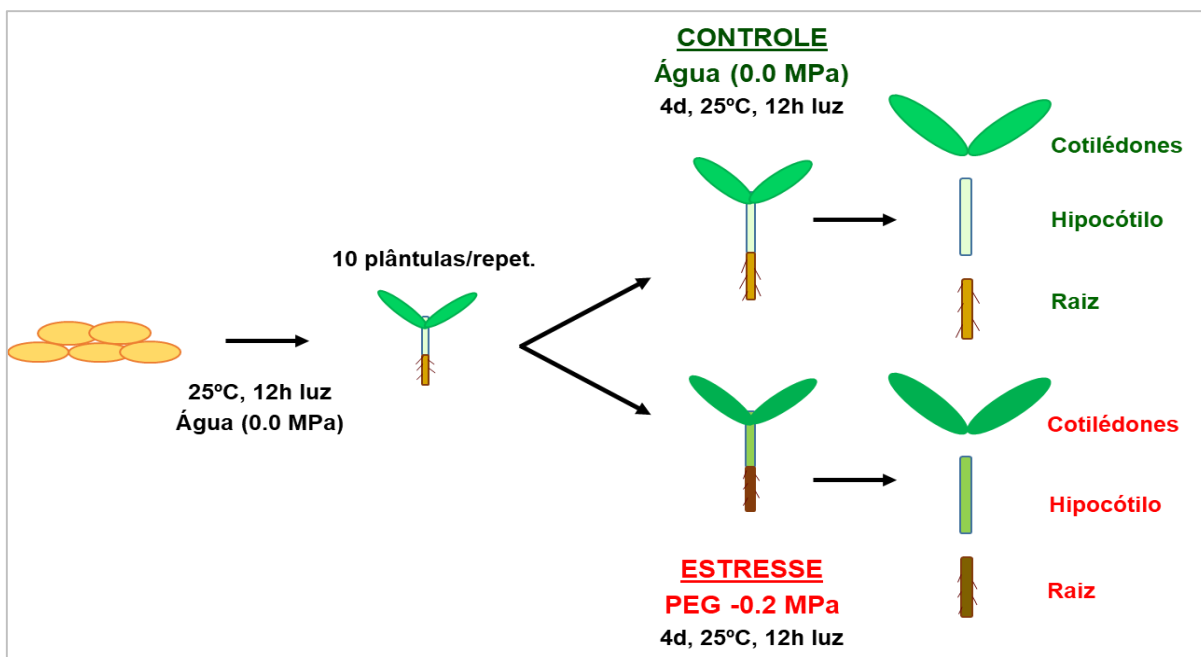


Figura 22: Representação esquemática do ensaio para a avaliação do efeito da restrição hídrica em plântulas.

Para extração e quantificação de proteínas, foram produzidos extratos com 0,02 g das amostras trituradas de hipocótilo e cotilédone, e 0,01 g de de raiz, seguido da adição de 400 mL (hipocótilo e cotilédone) e 200 mL (raiz) do meio de homogeneização: potássio 0,1 M tampão fosfato de potássio (pH 6,8), 0,1 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e 1% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVP). O extrato foi então centrifugado a $12.000 \times g$ por 30 min a $4^\circ C$. Após a extração, alíquotas foram tomadas para quantificar as proteínas totais e determinar a atividade das enzimas SOD, CAT e APX, conforme descrito no item 4.2.5 do Cap. I.

5.2.6. Efeito do osmocondicionamento sobre a qualidade de sementes

Para se avaliar efeito do osmocondicionamento, as sementes de *S. terebinthifolia* foram submetidas à diferentes potenciais osmóticos (-0.2, -0.4, -0.6, -0.8 e -1,0 MPa) mantidas em germinador (Eletrolab, Mod. EL202) com temperatura de $25^\circ C$ e fotoperíodo de 12 h. Para isso, as sementes foram distribuídas entre papéis germitest, sendo dois papéis na parte de baixo e um para a cobertura, umedecidos com a solução teste em volume equivalente a três vezes o peso do papel, e mantidas nestas condições durante sete dias. Os papéis foram trocados e reumidificados a cada dois dias, para manutenção da umidade e do potencial osmótico.

Para avaliar o efeito da secagem após osmocondicionamento, uma parte das sementes foi posta imediatamente para germinar, após serem retiradas do osmocondicionamento (sementes frescas) e uma parte das sementes foi posta para secar em condições de temperatura ambiente até atingirem o peso inicial (sementes secas). Posteriormente as sementes foram colocadas para germinar, em caixas gerbox com papéis germitest umedecidos com água em volume equivalente a três vezes o peso do papel e mantidas em germinador (Eletrolab, Mod. EL202) com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 h. Foram utilizadas sementes não osmocondicionadas como controle (Figura 23).

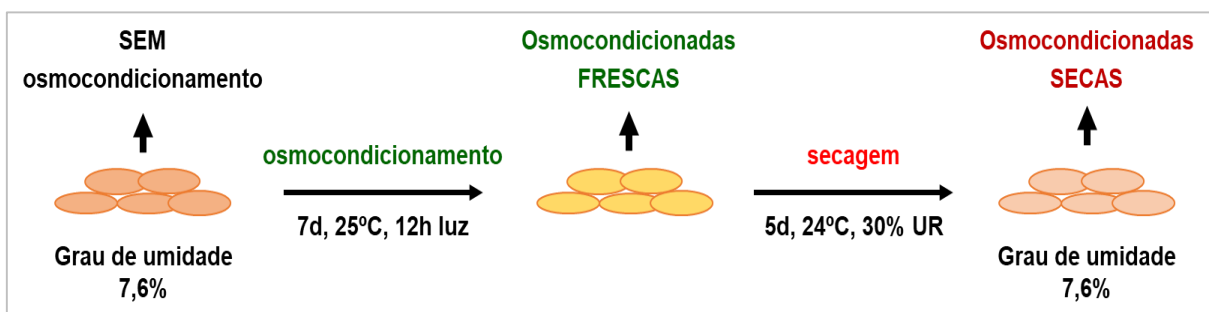


Figura 23: Representação esquemática do ensaio da avaliação do efeito do osmocondicionamento sobre a qualidade de sementes.

Os parâmetros avaliados foram: germinação máxima (G_{max}), tempo para 50% da germinação total (T_{50}), uniformidade da germinação (U_{8416}) e área abaixo da curva (AAC), além do comprimento e massa seca de raiz e da parte aérea das plântulas. Os resultados obtidos após 21 dias do teste de germinação foram analisados com auxílio do programa “Germinator” (JOOSEN *et al.*, 2010).

5.2.7 Análise estatística

Os dados foram testados para ajuste a distribuição normal, submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias dos ensaios de restrição hídrica foram comparadas pelo teste de Tukey, e os de osmocondicionamento pelo teste Dunnett, à 5% de probabilidade, empregando-se o Programa de Análise Estatística Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2000) e Graphpad Prism 8.4.3 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA), respectivamente.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Restrição hídrica (estresse osmótico) em sementes

Os ensaios de restrição hídrica em sementes de *Schinus terebinthifolia* submetidas à diferentes potenciais osmóticos, mostraram que não houve germinação a partir do potencial de -0,4 MPa, por isso, foram considerados para análise dos dados apenas os tratamentos: água destilada (controle) e solução osmótica de PEG -0,1; -0,2 e -0,3 MPa. A máxima germinação de 70,5%, ocorreu quando as sementes foram embebidas em água destilada, diferenciando-se estatisticamente ($p < 0.05$) de todos os outros tratamentos, que apresentaram 52,5; 46,0 e 8,0%, nos potenciais de -0,1; -0,2 e -0,3 MPa, respectivamente (Figura 24). Já em estudo realizado com sementes de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva*), outra Anacardiaceae nativa do Brasil e natural do cerrado e caatinga, Virgens *et al.*, (2012) consideraram o potencial de -0,2 MPa o ótimo de germinabilidade, -0,7 MPa promoveu 50 % de germinação e a partir de -0,9 MPa a germinabilidade foi nula, mostrando a grande diferença de resposta à restrição hídrica durante a germinação em espécies da mesma família, porém, adaptadas a diferentes ecossistemas.

O T_{50} avalia o vigor do lote de sementes, através do tempo necessário para atingir 50% da germinação total, ou seja, quanto menor este valor, maior a velocidade de germinação. Nesta avaliação, todos os tratamentos de estresse se diferenciaram estatisticamente ($p < 0.05$) do controle. As sementes submetidas aos potenciais de estresse de -0,1; -0,2 e -0,3 MPa demoraram, respectivamente, 78,6; 134,0 e 190,4 horas a mais para atingirem 50% de germinação, quando comparadas ao tratamento controle, que apresentou T_{50} de 139,4 h. Isso demonstra o efeito fisiológico da restrição hídrica, sendo promovido um atraso na expansão e divisão das células, e, conseqüentemente, na protusão da raiz.

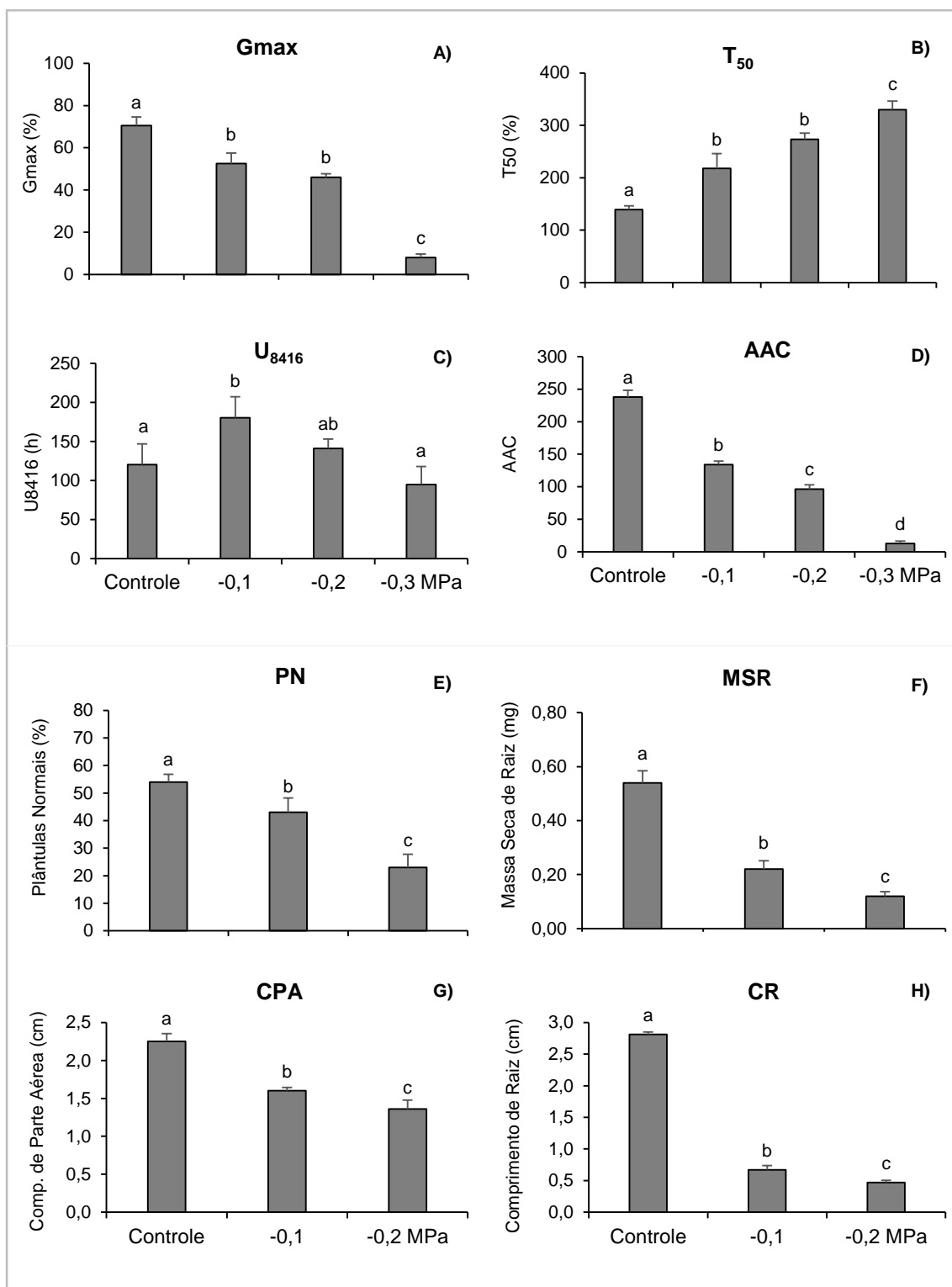


Figura 24. A) Germinação (Gmax), B) Tempo para atingir 50% de germinação (T₅₀), C) Uniformidade (U₈₄₁₆), D) Área abaixo da curva (AUC_{360h}), E) Plântulas Normais (%), F) Massa seca de raiz (MSR) G) Comprimento de Parte Aérea (CPA) e H) Comprimento de raiz (CR) de sementes e plântulas de *Schinus terebinthifolius* em diferentes potenciais osmóticos (restrição hídrica). *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto a uniformidade, representado pelo U_{8416} , a germinação foi mais desuniforme, ou seja, o maior valor de U_{8416} , foi obtido no potencial de -0,1 MPa, seguido do potencial -0,2 MPa. Já o cálculo da Área Abaixo da Curva (AAC), que avalia o vigor das sementes a partir do G_{max} , T_{50} e U_{8416} , mostrou que os tratamentos de estresse de -0,1; -0,2 e -0,3 MPa apresentaram, respectivamente, uma redução de 43,7, 59,4 e 94,6% quando comparados ao controle, diferenciando-se estatisticamente ($p < 0.05$) entre si.

O estresse também afetou a porcentagem de plântulas normais obtidas no teste. O tratamento controle apresentou 54,0% de plântulas normais, enquanto os outros tiveram 43,5 e 23,0% de plântulas normais. No potencial de -0,3 MPa não foram obtidas plântulas. A média de massa seca de raízes foi de 2,29 mg/plântula no tratamento controle e os potenciais de -0,1 e 0,2 reduziram significativamente a massa seca de raízes em 58,4 e 77,3%, respectivamente, quando comparados ao tratamento controle.

Com relação ao crescimento inicial e vigor das plântulas obtidas, observou-se que os tratamentos de estresse de -0,1 e -0,2 MPa proporcionaram redução de 29,8 e 40,3% respectivamente no comprimento de parte aérea e 75,9 e 83,1% no comprimento de raízes. É possível observar um drástico efeito da restrição hídrica sobre as estruturas das plântulas em todos os potenciais de restrição hídrica, mostrando a importância da disponibilidade hídrica no processo de estabelecimento de plântulas da espécie (Figura 25).



Figura 25. Efeito da restrição hídrica sobre a germinação de sementes e estabelecimento inicial de plântulas de *S. terebinthifolia* após 21 dias. A restrição hídrica nos potenciais de -0,1 e -0,2 MPa provocaram a diminuição do tamanho da parte aérea e das raízes das plântulas, enquanto no potencial de -0,3 MPa as sementes não conseguiram completar o processo germinativo, apresentando apenas o início da protrusão radicular. (Fonte: Autor).

A intensidade da resposta germinativa ao estresse hídrico é variável entre as sementes de diferentes espécies. Em *Amburana cearenses*, uma espécie nativa característica da caatinga, a restrição de água utilizando soluções de PEG afetou a absorção de água e sua germinabilidade (PEREIRA *et al.*, 2014). Sementes de jenipapo - *Genipa americana* L. também reduziram o vigor e a germinação quando submetidas à restrição hídrica, cessando a germinação nos potenciais de -0,3 e -0,4 MPa em soluções de PEG 6000. No mesmo trabalho, o potencial de -0,3 MPa permitiu condicionamento osmótico, enquanto que em -0,4 MPa houve interferência negativa no vigor das sementes (SANTOS; SILVA-MANN; FERREIRA, 2011).

5.3.2. Curva de Embebição em diferentes potenciais osmóticos

As sementes de *Schinus terebinthifolia* submetidas aos três potenciais osmóticos, apresentaram variação nos graus de umidade (%) alcançados nos diferentes tempos de embebição. Quando embebidas em água destilada (controle), as sementes tiveram um rápido aumento no grau de umidade logo nas primeiras horas, com mudança da fase I para fase II já com quatro horas após o início da embebição. Durante a fase II, houve um aumento crescente e gradual no grau de umidade até as 72 h, quando ocorreu a protusão da radícula das primeiras sementes, caracterizando a mudança para fase III (Figura 26).

Quando embebidas em solução de PEG no potencial de -0,2 MPa, a absorção ocorreu de forma mais lenta comparado ao controle. A fase I teve duração de 24 horas e a protusão da radícula neste potencial ocorreu somente após 168 horas de embebição, indicando que neste potencial as sementes permaneceram na fase II 76 horas a mais quando comparado às sementes embebidas em água destilada. Já nas sementes embebidas com solução osmótica no potencial de -0,8 MPa, não foi possível identificar a mudança da fase I para fase II e não houve protusão da radícula ao longo das 240 h de avaliação, constatando-se que neste potencial as sementes não absorvem água suficiente para completarem a germinação no número de horas avaliadas.

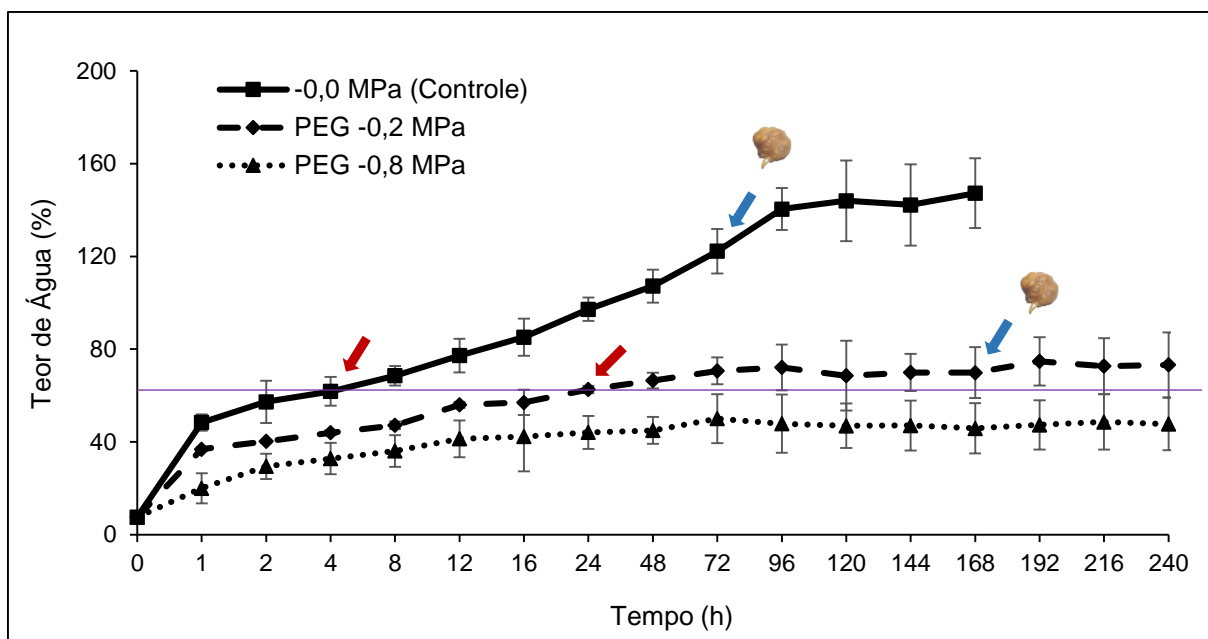


Figura 26. Curva de Embebição de sementes de *Schinus terebinthifolia* em água destilada (controle) e soluções de PEG 8000 com diferentes potenciais osmóticos a 25 °C. As setas vermelhas indicam a mudança das fases I, II e III, segundo definição de Bewley *et al.* (2013).

0,0 MPa: $y = -0,2475x^2 + 13,708x + 8,4705$ ($R^2 = 0,966$)

-0,2 MPa: $y = -0,3333x^2 + 9,1359x + 11,006$ ($R^2 = 0,937$)

-0,8 MPa: $y = -0,2721x^2 + 6,7899x + 7,4843$ ($R^2 = 0,941$)

5.3.3. Avaliação da atividade de enzimas antioxidantes durante a embebição de sementes sob restrição hídrica

O sistema enzimático antioxidante de sementes de *Schinus terebinthifolia* apresentou diferentes comportamentos ao longo do processo de embebição nos diferentes potenciais de restrição hídrica (Figura 27). A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) manteve-se estável quando as sementes foram embebidas em água destilada. No entanto, foi observado um aumento significativo na atividade dessa enzima após 168 h de embebição no potencial de -0,2 MPa e 24 h de embebição no potencial de -0,8 MPa. Neste último potencial, diferentemente dos demais, houve uma redução significativa na atividade da enzima nos tempos de 72 h e 168 h de embebição.

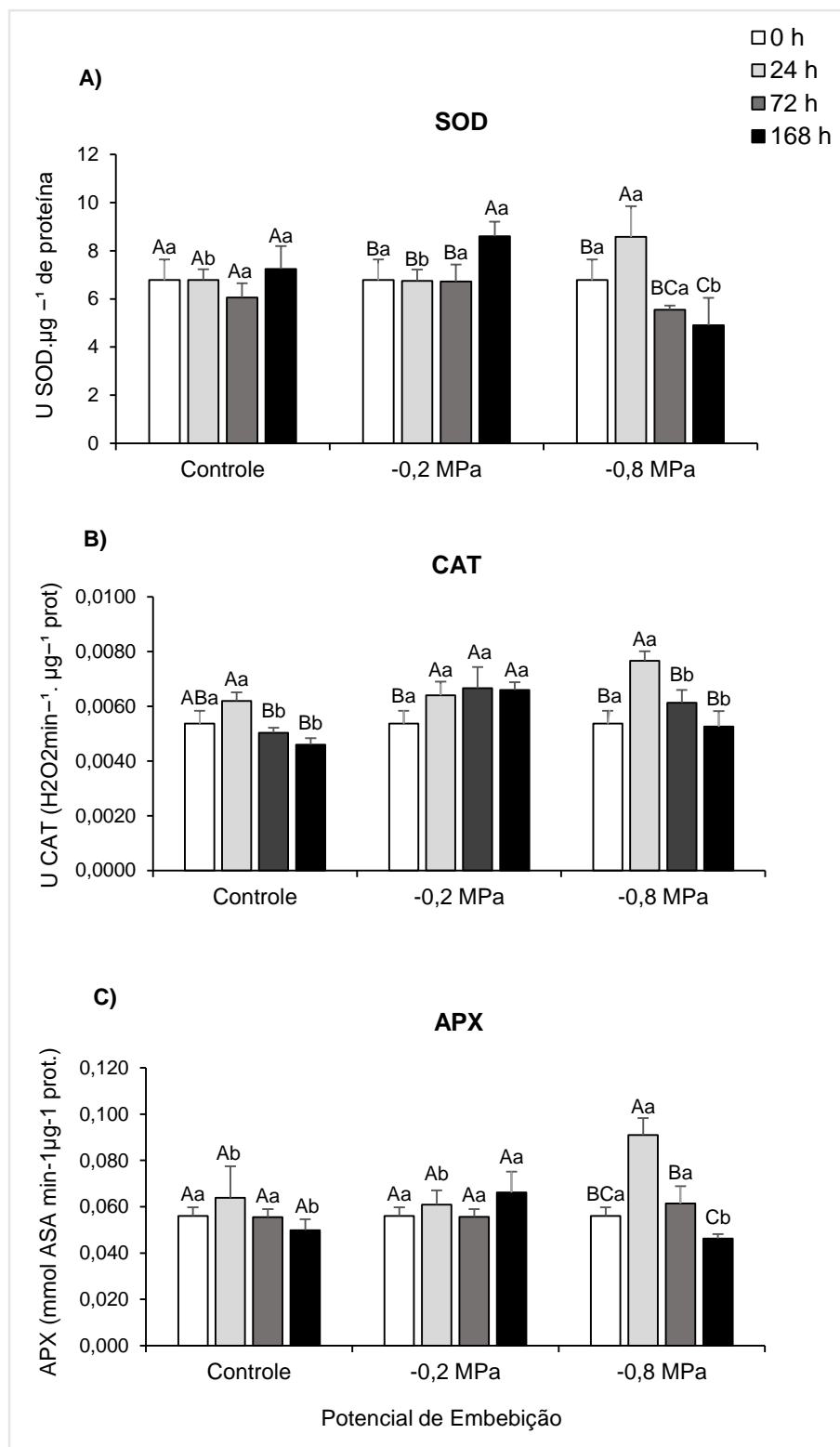


Figura 27. Atividade das enzimas Superóxido Dismutase (A) Catalase (B) e Ascorbato Peroxidase (C) em sementes de *Schinus terebinthifolia* sob diferentes potenciais de restrição hídrica (MPa). *Médias seguidas de mesma letra maiúsculas entre tempos de embebição (0, 24, 72 e 168 meses) e minúsculas entre potenciais de embebição (Controle; -0,2 MPa e -0,8 MPa) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quando embebidas em água destilada e em PEG a -0,8 MPa, houve um aumento significativo ($p < 0.05$) na atividade da enzima catalase nas primeiras 24 h, seguido de uma redução nos tempos de 72 e 168 h. Já quando submetidas ao potencial osmótico de -0,2 MPa, também ocorreu um aumento significativo na atividade desta enzima logo nas 24 h de embebição, que se manteve até as 168 h. A atividade dessa enzima no potencial de -0,2 MPa, nos tempos de 72 e 168 h, foi estatisticamente superior quando comparado aos demais potenciais.

Quando as sementes foram embebidas em água destilada (controle) e em solução de PEG -0,2 MPa, não houve diferença estatística na atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) ao longo dos períodos avaliados. No entanto, assim como nas demais enzimas avaliadas, ocorreu um aumento significativo ($p < 0.05$) na atividade desta enzima nas 24 h quando imersas no potencial -0,8 MPa, seguidas de uma redução gradual nos tempos de 72 e 168 h. Na avaliação do efeito dos diferentes potenciais osmóticos dentro de cada período, nota-se que a atividade da APX no potencial -0,8 MPa em 24 h e no potencial de -0,2 MPa em 168 h foi estatisticamente superior aos demais. Assim como no nosso estudo, Pereira *et al.*, (2014) demonstraram que sementes de *Amburana cearensis* mantiveram níveis similares de atividade antioxidante, mesmo depois da reativação do metabolismo, após a embebição, e a restrição hídrica promoveu um aumento significativo na atividade antioxidante em sementes dessa espécie após 72 h de embebição.

Os resultados aqui encontrados podem ser relacionados aos de germinação, pois a redução na germinação de sementes de *S. terebinthifolia* sob restrição hídrica pode ser explicada por um provável desbalanço entre a produção de ERO e a capacidade do sistema antioxidante dessas sementes em combatê-los. O aumento da atividade das enzimas SOD e CAT no potencial de -0,2 MPa, bem como o aumento da atividade das três enzimas no potencial de -0,8 MPa logo nas 24 h, demonstram que provavelmente o estresse hídrico provocou um aumento na produção de ERO e que houve ativação da defesa antioxidante para tentar evitar o estresse oxidativo e manter o metabolismo da semente estável para germinação (GILL; TUTEJA 2010; HASANUZZAMAN *et al.*, 2012).

No entanto, a posterior redução na atividade das três enzimas nos tempos de 72 e 168 h quando mantidas em PEG -0,8 MPa, pode ser relacionada à um provável acúmulo de ERO e conseqüentemente danos ao sistema antioxidante nessa condição de estresse severo. Sabe-se que a integridade dos sistemas antioxidantes também é

de vital importância para as sementes, por isso, o comprometimento da maquinaria antioxidante pode reduzir significativamente a eficiência da germinação em condições de restrição hídrica (CHEN *et al.*, 2014; PETROV *et al.*, 2015). O superacúmulo de ERO pode causar danos oxidativos a uma ampla gama de componentes celulares e causar danos ao DNA, reduzindo a capacidade da semente de germinar (BAILLY; BOUTEAU; CORBINEAU, 2008).

5.3.4. Restrição Hídrica (estresse osmótico) em plântulas

Na avaliação da restrição hídrica promovida pelo potencial osmótico de -0,2 MPa sob o estabelecimento de plântulas, pode-se verificar que o estresse promoveu diminuição significativa ($p < 0,05$) no comprimento e na massa seca de plântulas. O estresse promoveu uma redução de 14,8% e 27,8% no comprimento de parte aérea e de raízes, respectivamente, quando comparado às que permeceram em água destilada (Figura 28). Os danos mais severos ocorreram nas raízes das plântulas com atrofiamento e poucas raízes secundárias. O desenvolvimento de plântulas é influenciado pelas condições hídricas e a sensibilidade a esse fator é maior comparando-se a qualquer outro fator ambiental que promova estresse, pois, primordialmente a fase de alongamento celular depende da absorção de água (TAIZ; ZEIGER, 2013).

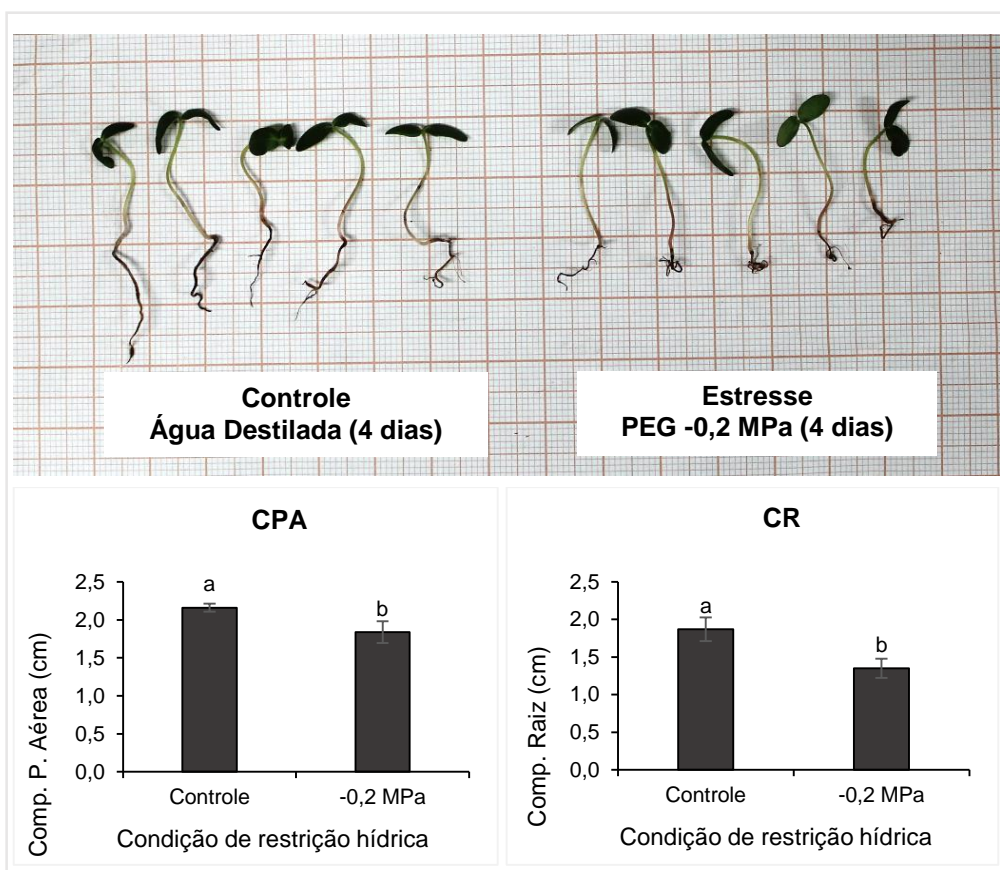


Figura 28. Comprimento de Parte Aérea (A) e Raiz (B) de plântulas obtidas de sementes de *Schinus terebinthifolia* mantidas em potencial de restrição hídrica por 4 dias. *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O tratamento de estresse também proporcionou redução de 55,5; 25,3 e 20,7% na massa seca de raiz, hipocótilo e cotilédone, respectivamente (Figura 29). Reduções no comprimento e massa seca de plântulas já foram observados em espécies nativas como juazeiro (*Zizyphus joazeiro*) e catanduva (*Piptadenia moniliformis*) em resposta à restrição hídrica com PEG (LIMA; TORRES, 2009; AZEREDO; PAULA; VALERI, 2016). Os resultados de comprimento e massa seca estão relacionados e pode-se verificar o efeito mais acentuado da restrição hídrica sobre o desenvolvimento das raízes.

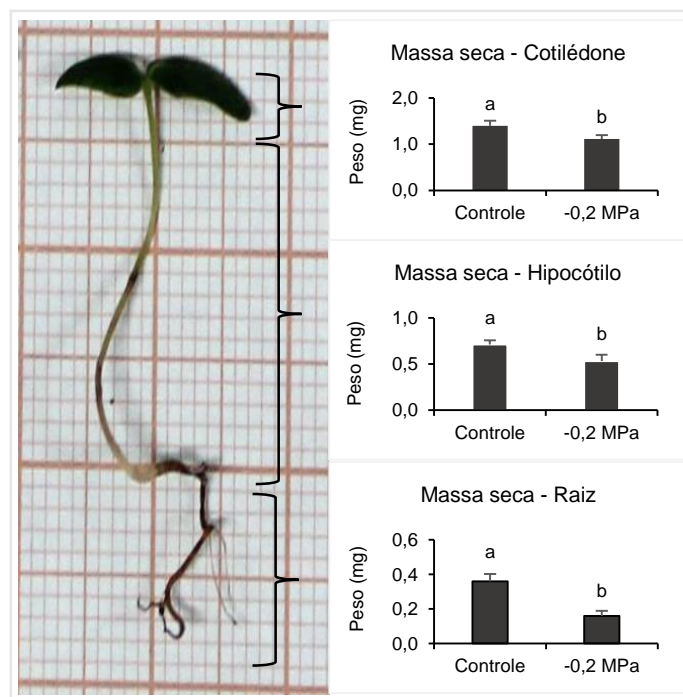


Figura 29. Massa seca de raiz (A) hipocótilo (B) e cotilédone (C) de plântulas de *Schinus terebinthifolia* desenvolvidas por 4 dias em água destilada (Controle) e sob restrição hídrica (-0,2 MPa). *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.3.5. Avaliação da atividade de enzimas antioxidantes durante a desenvolvimento inicial de plântulas sob restrição hídrica

Na avaliação da atividade enzimática em diferentes estruturas de plântulas de *Schinus terebinthifolia*, pode-se verificar que o tratamento de restrição hídrica (-0,2 MPa) promoveu uma redução significativa ($p < 0,05$) na atividade de SOD, CAT e APX em raízes das plântulas (Figura 30). Na comparação das diferentes estruturas, os cotilédones apresentaram maior atividade das três enzimas antioxidantes analisadas. Para as enzimas SOD e APX não houve diferença na atividade no hipocótilo e cotilédones das plântulas submetidas as duas condições. Porém, houve uma maior atividade da enzima CAT no cotilédone de plântulas que foram submetidas ao estresse. O aumento da atividade da CAT em condições de déficit hídrico também foi observado em mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. (ROSA *et al.*, 2017). Esse

aumento é considerado um traço adaptativo, podendo possivelmente ajudar a superar os danos ao metabolismo do tecido, reduzindo os níveis tóxicos de H_2O_2 (KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011). Já foi demonstrado que em muitas plantas, os sistemas de eliminação de H_2O_2 , representados por APX e CAT, podem ser mais importantes para conferir tolerância ao estresse oxidativo induzido pela seca do que a SOD (HOJATI *et al.*, 2010; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011). Reduções nos níveis de SOD já foram observadas em folhas de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva*) após 20 dias de restrição hídrica, sendo a tolerância a esse estresse atribuída à manutenção no conteúdo de carotenoides para proteção contra o estresse oxidativo (SOUZA *et al.*, 2020).

Sabe-se que nos tecidos fotossintéticos, os cloroplastos são a principal fonte de ERO com capacidade para produzir altas quantidades de superóxido ($O^{\bullet-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Já em tecidos não fotossintéticos, as mitocôndrias são as maiores fontes de ERO, porém, sua contribuição é considerada pequena em comparação com cloroplastos. A terceira fonte de ERO intracelular são os peroxissomos, devido as várias oxidases que produzem H_2O_2 e $O^{\bullet-}$ como subprodutos das reações que catalisam (NAVROT *et al.*, 2007; JASPERS; KANGASJARVI, 2010).

Em estudo de avaliação do déficit hídrico intermitente, através da suspensão da irrigação, em mudas já estabelecidas de *S. terebinthifolia*, Nunes *et al.*, (2017) verificaram maior atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX) tanto na parte aérea e quanto nas raízes das mudas sob estresse, mostrando que nessa condição as plantas foram capazes de modular sua resposta de defesa para superar o acúmulo de ERO e restaurar o metabolismo normal. Já na fase de desenvolvimento após a germinação, como avaliado em nosso trabalho, as plântulas não se mostraram capazes de modular esse mecanismo para superar o estresse hídrico.

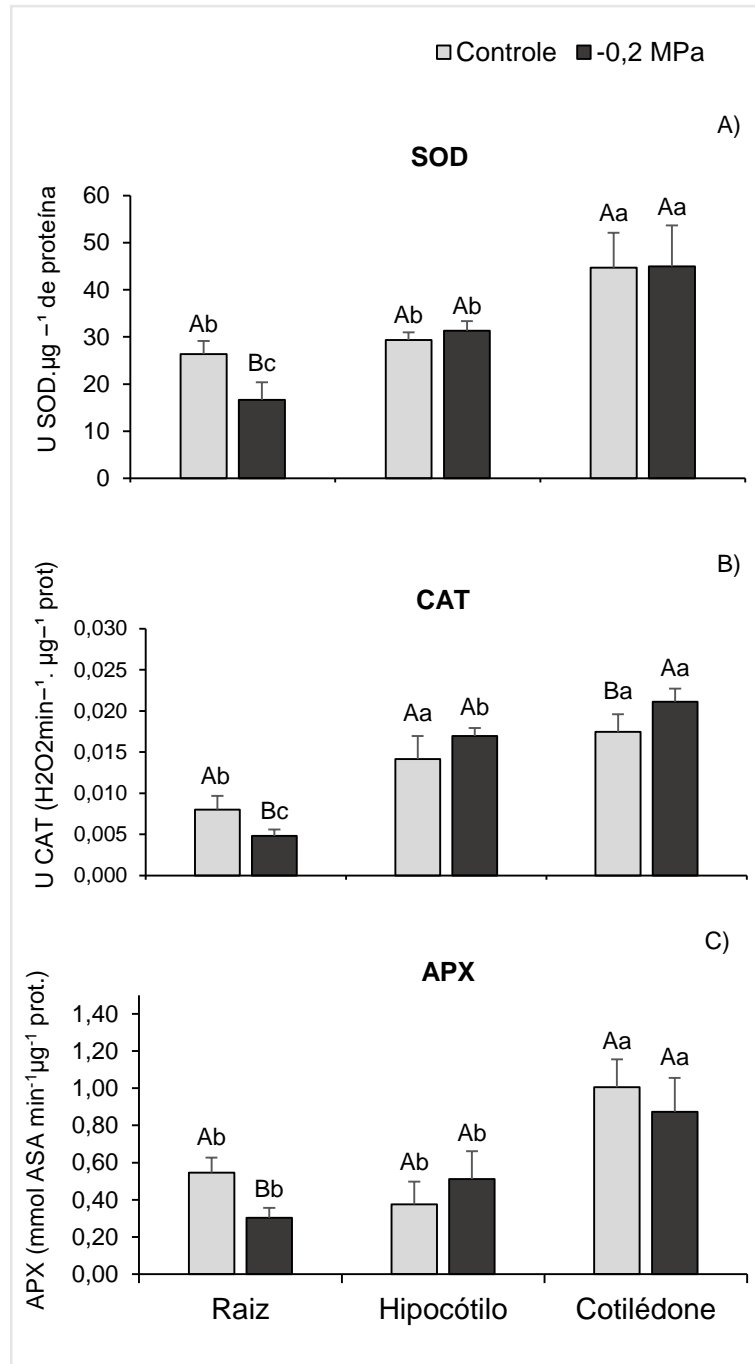


Figura 30. Atividade das enzimas Superóxido Dismutase (A) Catalase (B) e Ascorbato Peroxidase (C) em diferentes estruturas de plântulas de *Schinus terebinthifolia* mantidas em água destilada (Controle) e em condições de restrição hídrica (-0,2 MPa). *Médias seguidas de mesma letra maiúsculas entre as condições de estresse (Controle e -0,2 MPa) e minúsculas entre diferentes partes das plântulas (raiz, hipocótilo e cotilédone) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em condições normais de desenvolvimento, a formação e remoção de ERO são equilibradas para que as plântulas atinjam um estado homeostático. No entanto, sob

condições estressantes, como a restrição hídrica, a formação de ERO aumenta dramaticamente e o sistema de defesa pode ser sobrecarregado, levando a dano celular (GILL; TUTEJA, 2010). No caso de *S. terebinthifolia*, esse desequilíbrio pode ser constatado inicialmente nas raízes das plântulas (Figura 31). Sharma e Dubey (2005) verificaram que plântulas de arroz submetidas à seca moderada tinham maior atividade de APX do que as plantas controle, mas a atividade diminuiu no nível mais alto de estresse hídrico. Outros trabalhos já demonstraram que as reduções nas atividades de enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX podem ocorrer provavelmente relacionadas ao dano pelo acúmulo excessivo de ERO nas células em condições de estresse (CHEN; ZHANG; SHEN, 2010).

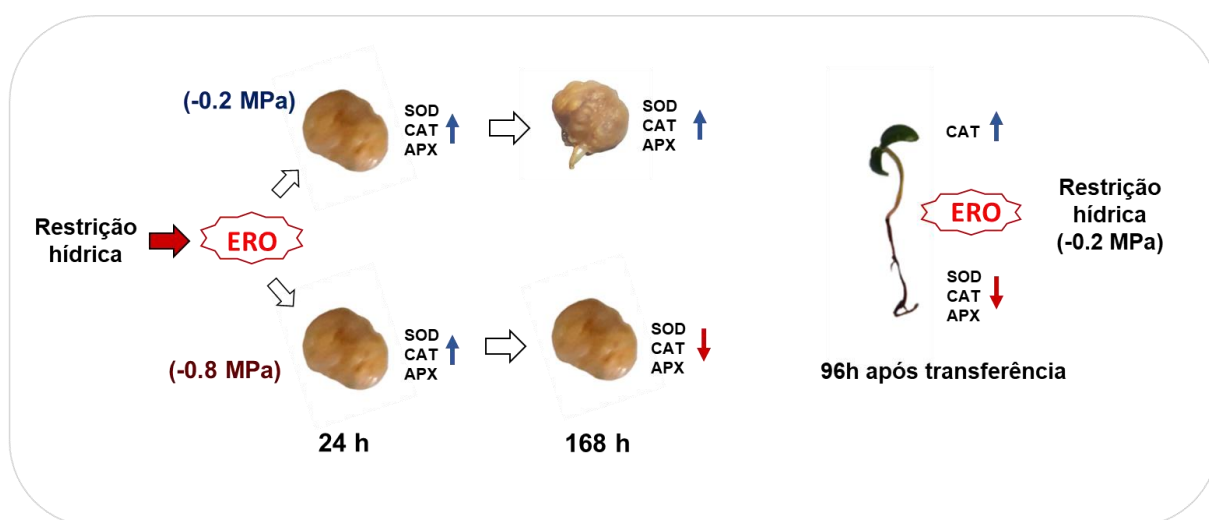


Figura 31: Alterações da atividade de enzimas antioxidantes em sementes e plântulas de *S. terebinthifolia* em resposta estresse hídrico.

5.3.6. Efeito do osmocondicionamento na germinação e vigor das sementes:

O processo de osmocondicionamento provocou uma redução na germinação máxima (G_{max}) de sementes, a medida que diminuiu o potencial osmótico da solução, sendo que as sementes frescas tiveram melhor desempenho comparado as que foram submetidas à secagem (Figura 32). O estresse provocado pelo osmocondicionamento pode desencadear distintas respostas bioquímicas na semente, por isso, espécies diferentes respondem diferentemente a esse processo. Como exemplo, o processo foi capaz de aumentar a germinação, vigor e resistência a estresses abióticos em culturas como *Sorghum bicolor*, *Spinacia oleracea*, *Physalis angulata*, *Ricinus comunis* e

Cucumis melo (CHEN; ARORA, 2011, ZHANG *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2016; GOMES NETO *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2019). Já em café *Coffea arábica* L. cv. Catuaí vermelho IAC – 99, o processo de osmocondicionamento durante quatro e oito dias, não melhorou a qualidade das sementes, e durante 12 dias, provocou prejuízo na germinação e no vigor (CARVALHO; GUIMARÃES; SILVA, 2012). Também já foi observado redução na germinação de sementes de *Jatropha curcas* após o processo, sendo esta resposta associada a uma possível aquisição de dormência secundária após o processo (BRITO *et al.*, 2016).

No caso das espécies florestais nativas, esta técnica promoveu melhora na germinação em barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), faveiro (*Dimorphandra mollis*) e canafístula (*Peltophorum dubium*), osmocondicionadas com PEG 6000 em diferentes potenciais (KISMANN *et al.*, 2010; MASSETO *et al.*, 2014; MISSIO *et al.*, 2018). No entanto, a utilização desta técnica diminuiu a germinação de garapa (*Apuleia leiocarpa*) e maricá (*Mimosa bimucronata*) quando osmocondicionadas com PEG 6000 nos potenciais de -0,4 ou -1,0 MPa, respectivamente (SPADETO *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2018). Além disso, está técnica também não foi eficaz para melhora na germinação pau-formiga (*Triplaris americana*), jacarandá-branco (*Pterogyne nitens*), carobinha (*Jacaranda decurrens*) e Ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius*) osmocondicionados em diferentes condições (MENDONÇA *et al.*, 2005; TONIN *et al.*, 2005; KISSMANN *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2019).

Para o sucesso desta técnica, o potencial osmótico utilizado no processo deve ser suficiente para impedir a protusão radicular e a germinação, mas permitir que os processos metabólicos que ocorrem na fase II do processo de embebição sejam intensificados (MARCOS FILHO, 2015; DE CASTRO; HILHORST, 2004; HEYDECKER; HIGGINS; GULLIVER, 1973). Porém, assim como observado neste trabalho para *S. terebinthifolia*, alguns estudos mostram que o aumento do estresse provocado por potenciais osmóticos mais negativos pode reduzir a germinação e vigor das sementes. Em estudo com sementes de barbatimão – (*Stryphnodendron* sp.), pré-condicionadas em soluções de PEG e KNO₃ nos potenciais de -0,5 e -1,0, foi observada uma redução quando utilizado o potencial mais negativo (KISSMANN *et al.*, 2010). Em outras espécies, como o angico (*Anadenanthera peregrina*), a máxima germinação ocorreu nas sementes submetidas ao osmocondicionamento no potencial osmótico de -0,4 MPa induzido por PEG 6000, apresentando queda nos valores a partir do potencial de -0,6 MPa (PINHO; BORGES; PONTES, 2010).

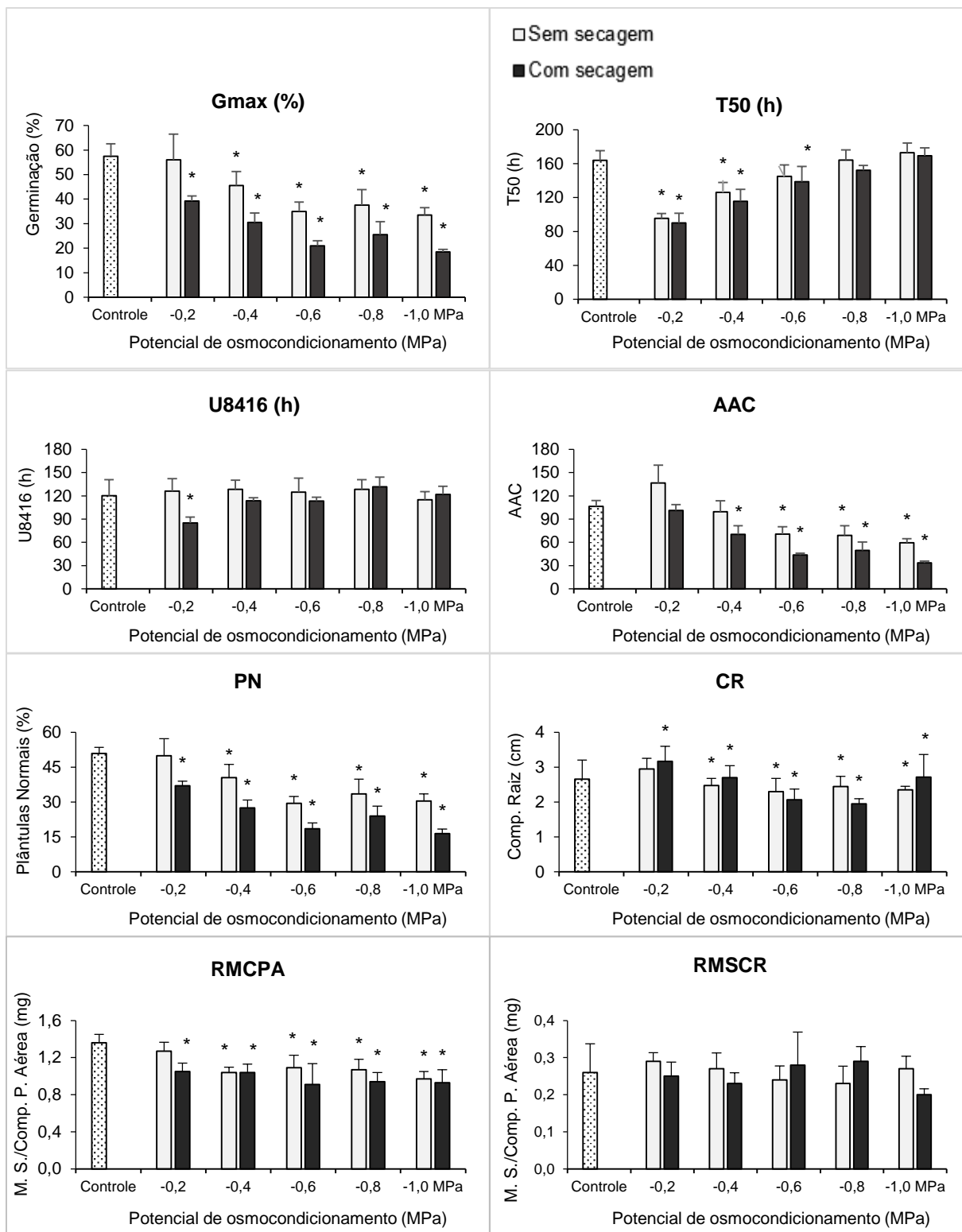


Figura 32. A) Germinação (G_{max}). B) Tempo para atingir 50% de germinação (T_{50}). C) Uniformidade (U_{8416}). D) Área abaixo da curva (AAC_{384h}) E) Plântulas Normais (PN), F) Comprimento de raiz (CR), G) Razão m. seca/comprimento de parte aérea (RMCPA), H) Relação massa seca/comprimento de raiz (RMCR) de plântulas e sementes de *Schinus terebinthifolia* osmocondicionadas por sete dias em diferentes potenciais osmóticos e submetidas a condições sem osmocondicionamento (barra rachurada) osmocondicionamento sem secagem (barra clara) e osmocondicionamento com secagem (barra escura). *Barras seguidas de (*) diferem estatisticamente com o controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

A redução da germinabilidade de *S. terebinthifolia* também pode ser atribuída ao fato das sementes possuírem uma camada estrutural de mesocarpo formada por células parenquimatosas, tecido vascular e ductos secretores com cristais de oxalato de cálcio, cobrindo o tegumento da semente (CARMELLO-GUERREIRO; PAOLI, 2002). Esta camada no exterior das sementes pode limitar ou evitar a troca de íons, e com isso, controlar a sua permeabilidade à água e aos solutos utilizados. A depender do agente osmótico, os íons liberados dos sais da solução podem penetrar facilmente na semente, interrompendo o equilíbrio osmótico endógeno (BRADFORD 1995; ZHOU; WANG; JAHUFER, 2013; PAPARELLA *et al.*, 2015). Os solutos usados ou soluções osmóticas com as quais as sementes permanecem em contato não podem ser tóxicos ou causar alterações estruturais; não devem penetrar no sistema de membranas das células; nem participarem de reações metabólicas, assim como não estarem sujeitos à deterioração microbiana durante o osmocondicionamento das sementes (BRADFORD, 1986). No entanto, os agentes osmóticos comumente utilizados como o polietilenoglicol (PEG), K_3PO_4 , KNO_3 , manitol, sorbitol e glicerol não atendem por completo essas exigências (SANTOS *et al.*, 2008).

Além disso, a possível melhora induzida pelo osmocondicionamento se baseia no seu efeito sobre a ativação de mecanismos de reparo do DNA, sincronização do ciclo celular em G2 e preparação para a divisão celular (DE CASTRO *et al.*, 2000; BALESTRAZZI *et al.*, 2010; VENTURA *et al.*, 2012; LUTSS *et al.*, 2016). No entanto, o estresse provocado pelo tratamento também pode resultar em um imprevisível aumento da lesão oxidativa do DNA, que afeta irreversivelmente a viabilidade das sementes e pode levar a morte celular (WATERWORTH *et al.*, 2011; BALESTRAZZI *et al.*, 2011; PAPARELLA *et al.*, 2015).

Para a variável velocidade de germinação, avaliada pelo T_{50} , foi observada uma tendência de melhora no tempo de germinação quanto menor o potencial utilizado, com os melhores resultados quando utilizado o potencial -0,2 MPa, com 90,2 e 95,5 h, para as condições com e sem secagem, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados no osmocondicionamento em sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis* Benth), espécie nativa do Cerrado, na qual tiveram um efeito significativo sobre a velocidade de germinação os potenciais de -0,3 e -0,7 MPa, com resultado médio de IVG de 7,4, enquanto nos tratamentos 0,0 (controle), -1,0 e -1,3 MPa apresentaram média de IVG de 4,3 (MASSETO *et al.*, 2014).

A melhoria na velocidade de germinação após o processo de osmocondicionamento também já foi observada em sementes de outras espécies florestais nativas, como canafístula (*Peltophorum dubium*), osmocondicionadas em PEG 6000 no potencial -0.6 MPa (MISSIO *et al.*, 2018) e catanduva (*Piptadenia moniliformis*; RAMALHO *et al.*, 2020) que quando hidrocondicionadas, apresentaram maior velocidade de germinação quando comparadas as não-hidrocondicionadas, sendo verificada uma maior tolerância ao serem submetidas a condições de estresse salino. Isto pode ser devido ao fato de que as sementes pré-hidratadas estão fisiologicamente mais próximas de alcançarem a fase III do processo de embebição, e conseqüentemente da protusão da radícula, conforme foi demonstrado na curva de embebição da espécie. Outros fatores ligados a germinação mais rápida estão relacionados a ativação de eventos como a transcrição e tradução genômica, respiração e metabolismo energético, mobilização inicial de reservas e reparo do DNA, que ocorrem quando as sementes são expostas a baixa disponibilidade de água durante o osmocondicionamento (VARIER; VARI; DADLANI, 2010). Em sementes osmocondicionadas de *Poincianella pyramidalis*, a melhoria dos parâmetros de germinação em comparação às sementes não osmocondicionadas foi atribuída à indução de genes envolvidos em processos metabólicos e processos aeróbicos e anaeróbicos, além de mudanças no transcriptoma da semente, passando então a expressar genes relacionados ao metabolismo da germinação (ANTUNES *et al.*, 2021).

Houve uma tendência de uniformização da germinação, sendo esta representada pelo U_{8416} , quando as sementes foram submetidas ao osmocondicionamento no potencial de -0,2 MPa com posterior secagem. Em estudo com aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva*), espécie da mesma família de *S. terebinthifolia*, a técnica de osmocondicionamento também não foi eficiente para aumentar a germinabilidade das sementes, porém, o tratamento promoveu um aumento na uniformidade de germinação (CARDOSO *et al.*, 2012).

O AAC mostrou uma diminuição à medida que reduzia o potencial de osmocondicionamento. Na comparação das sementes com ou sem secagem após o osmocondicionamento, foi observado que a melhor AAC ocorreu nas sementes não submetidas à secagem. Sementes de diversas espécies respondem diferencialmente à desidratação após o processo de osmocondicionamento, porém para o sucesso deste processo, usualmente, requer-se a secagem das sementes para armazenagem

e posterior utilização. Em sementes de guaratã (*Esebeckia leiocarpa*), Cordoba *et al.*, (1995) verificaram que para obter melhoria na emergência após o condicionamento osmótico, as sementes deveriam ser utilizadas imediatamente ou armazenadas no máximo durante 15 dias a 5°C e não passem por secagem. Já em sementes de garapa (*Apuleia leiocarpa*) o osmocondicionamento reduziu a germinação logo após o processo, porém foi capaz de manter a viabilidade das sementes armazenadas por 120 dias, o que não aconteceu com as sementes embebidas em água e armazenadas (SPADETO *et al.*, 2018).

Em estudo com sementes de mutamba (*Guazuma ulmifolia*), outra espécie florestal pioneira, houve efeito benéfico de *priming* com utilização de PEG 8000 no potencial de -0,8 MPa quando as sementes foram semeadas logo após o processo, porém, quando foram submetidas a secagem, houve redução na germinação, além de menor uniformidade e comprimento de plântulas (BRANCALION *et al.*, 2010). Esses autores sugerem que este comportamento pode ter ocorrido devido a danos mecânicos e desorganização das membranas celulares durante a secagem das sementes, visto que também foram obtidos maiores valores de condutividade elétrica em sementes após a secagem. Além disso, a redução pode ser devido a concentração reduzida de moléculas osmoprotetoras como os oligossacarídeos nas células, o que diminui a viscosidade do citoplasma e aumenta a suscetibilidade das sementes aos processos de deterioração (BUITINK; HEMMINGA; HOEKSTRA, 2000).

Na avaliação do número de plântulas normais (PN), comprimento de raiz (CR) e razão entre massa seca/comprimento de parte aérea (RMCPA), houve uma tendência de redução dessas variáveis à medida que diminuiu o potencial de osmocondicionamento, sendo que as sementes que não passaram pelo processo de secagem após o processo tiveram um melhor desempenho comparado as que foram secas. Já na razão de massa seca/comprimento de raiz (RMCR), expressas em mg/cm, não houve diferença estatística para os diferentes potenciais osmóticos utilizados e para os tratamentos de secagem. Em sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), árvore do Cerrado brasileiro, a germinação de sementes e o comprimento das raízes também diminuíram após osmocondicionamento, indicando também a sensibilidade dessas sementes à exposição ao PEG (MASSETO; SCALON, 2014).

Os resultados negativos do osmocondicionamento em potenciais osmóticos mais negativos, podem estar relacionados ao fato de que o uso desta técnica com

soluções como o PEG, pode causar estresse osmótico, que provavelmente reflete como dano oxidativo aos componentes celulares. A nossa avaliação da atividade enzimática relatada no tópico 5.3.3., mostra que a embebição em baixos potenciais osmóticos, como -0,8 MPa, promoveu um aumento inicial na atividade das enzimas SOD, CAT e APX, seguido de uma posterior redução (Figura 31). Essa redução pode ter sido ocasionado por uma sobrecarga no sistema de defesa, levando ao estresse oxidativo e dano celular (GILL; TUTEJA, 2010). O comportamento fisiológico das sementes sob restrição hídrica e osmocondicionamento se diferencia entre espécies, famílias, gêneros e lotes de sementes da mesma espécie. Portanto, há necessidade de conduzir estudos mais aprofundados com diferentes metodologias para elucidar e estabelecer protocolos de otimização desta técnica como pré-tratamento para a germinação de sementes e estabelecimento de plântulas de *Schinus terebinthifolia*.

5.4. CONCLUSÃO

A espécie *S. terebinthifolia* se mostrou altamente sensível à restrição hídrica (estresse osmótico) no processo de germinação e estabelecimento inicial de plântulas.

O sistema antioxidante representado pelas enzimas SOD, CAT e APX foi capaz de proteger as sementes do estresse oxidativo causado pela restrição hídrica no potencial de -0,2 MPa.

Houve um desbalanço entre o acúmulo de ERO e o sistema antioxidante enzimático no potencial de -0,8 MPa, o que pode ser comprovado pela redução na atividade dessas enzimas, a ausência de protusão da radícula e a diminuição da germinação e vigor após o osmocondicionamento.

Os primeiros danos oxidativos em plântulas de *S. terebinthifolia* ocorrem nas raízes, comprovados pela redução no tamanho e nas atividades da SOD, CAT e APX em condição de restrição hídrica.

O osmocondicionamento de sementes de *S. terebinthifolia* em -0,2 e -0,4 MPa, por 168 h, promoveu uma germinação mais rápida e uniforme, porém, sem efeito de *priming*, pois não houve melhora na germinação e vigor das sementes e plântulas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A redução na qualidade das sementes de aroeira-vermelha após a secagem ambiente sugere algum grau de intolerância à dessecação, podendo as sementes serem classificadas como intermediárias. No entanto, são necessários maiores estudos para elucidar esse grau de intolerância a dessecação e assim estabelecer protocolos para obtenção e conservação de sementes dessa espécie.

A diminuição no tamanho das raízes após os 15 meses de armazenamento demonstra a suscetibilidade das sementes ao armazenamento prolongado e sinaliza a necessidade do desenvolvimento de estudos do estresse oxidativo em partes específicas do embrião e das plântulas, com objetivo de elucidar o processo de envelhecimento e assim estabelecer protocolos para preservação da longevidade das sementes de aroeira-vermelha.

Os nossos resultados sobre o osmocondicionamento demonstram que são necessários mais estudos visando a obtenção do efeito de *priming* para sementes de aroeira-vermelha, talvez testando diferentes osmóticos, tempos e temperaturas durante esse processo. Além disso, a redução na qualidade das sementes de forma mais acentuada nas sementes osmocondicionadas e submetidas a secagem, sugere mais uma vez o possível grau intermediário de tolerância a dessecação das sementes dessa espécie.

A baixa tolerância da espécie ao estresse osmótico constatada com os resultados obtidos nos ensaios fisiológicos e bioquímicos, demonstra a necessidade de estudos mais aprofundados, envolvendo aspectos moleculares para investigar, por exemplo, a expressão de genes envolvidos no estresse oxidativo, que também permitirão compreender os fatores genéticos que regulam essa resposta. Por fim, essas descobertas fornecem informações sobre os mecanismos relacionados à resposta das plantas à estresses ambientais durante a germinação e estabelecimento de plântulas, sendo útil para para elaboração de futuros projetos com foco em programas de melhoramento genéticos da espécie, bem como no estabelecimento de protocolos para obtenção de sementes e mudas voltados para domesticação e exploração sustentável de aroeira-vermelha em diferentes regiões do Brasil.

Referências Bibliográficas:

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

AZEREDO, G.A; PAULA, R.C.; VALERI, S.V. Germinação de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. sob estresse hídrico. **Ciência Florestal.**, v. 26, n. 1, p. 193-202, 2016.

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

BALESTRAZZI A.; CONFALONIERI M.; MACOVEI A.; CARBONERA D. Seed imbibition in *Medicago truncatula* Gaertn.: expression profiles of DNA repair genes in relation to PEG-mediated stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 706–713, 2010.

BALESTRAZZI, A.; CONFALONIERI, M.; MACOVEI, A.; DONA, M.; CARBONERA, D. Genotoxic stress and DNA repair in plants: emerging functions and tools for improving crop productivity. **Plant Cell Reports**, v. 30, p. 287-295, 2011.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. New York: Academic Press, 2001. 666p.

BERNARDES, N.R.; HEGGDORNE-ARAÚJO, M.; BORGES, I.F.J.C.; ALMEIDA, F.M., AMARAL, E.P.; LASUNSKAIA, E.B.; MUZITANO, M.F.; OLIVEIRA, D.B. Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 644-650, 2014.

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3^o ed. New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer; 2013. 392 p.

BONA, C.; SILVA, M.Y.B.; REZENDE, I.M.; SANTOS, G.; SOUZA, L.A.; INCKOT, R.C. Efeito do solo contaminado com óleo diesel na estrutura da raiz e da folha de plântulas de *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae) e *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 2, p. 277-285, 2011.

BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming germination under stress conditions. **HortScience**, v. 21, n. 5, p. 1105-1112, 1986.

BRADFORD, K.J. Water relations in seed germination. In: J. Kigel and G. Galili (eds.) **Seed Development and Germination**. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA, 1995. p. 351-396.

BRANCALION, P.H.S.; TAY, D.; NOVENBRE, A.D.L.C.; RODRIGUES, R.R.; FILHO, J.M. Priming of pioneer tree *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae) seeds evaluated by an

automated computer image analysis. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 3, p. 274-279, 2010.

BRITO, C.D.D.; LOUREIRO, M.B.; RIBEIRO, P.R.; VASCONCELOS, P.D.C.T.; FERNANDEZ, L.G.; CASTRO, R.D. Osmoconditioning prevents the onset of microtubularcytoskeleton and activation of cell cycle and it is detrimental for germination of *Jatropha curcas* L. seeds. **Journal of Plant Biology**, v. 18, n. 6, p. 1053-1057, 2016.

BUITINK J.; HEMMINGA M.A.; HOEKSTRA F.A. Is there a role for oligosaccharides in seed longevity? An assessment of intercellular glass stability. **Plant Physiology**, v. 122, p. 1217-1224, 2000.

CARDOSO, N.S.N.; OLIVEIRA, L.M.; FERNANDEZ, L.G.; PELACANI, C.R.; SOUZA, C.L.M.; OLIVEIRA, A.R.M.F. Osmocondicionamento na germinação de sementes, crescimento inicial e conteúdo de pigmentos de *Myracrodruon urundeuva* fr. Allemão. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p. 457, 2012.

CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; PAOLI, A.A. S. Ontogeny and Structure of the Pericarp of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 1, p. 73-79, 2002.

CARVALHO, C.A.M.; GUIMARAES, R.M.; SILVA, T.T.A. Physiological Conditioning in Solid Matrix of Coffee Seeds (*Coffea arabica* L.) with and without Parchment. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, p. 94-98, 2012.

CHEN, Q.; ZHANG, M.; SHEN, S. Effect of salt on malondialdehyde and antioxidant enzymes in seedling roots of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, p. 273-278, 2010.

CHEN, K.; ARORA, R. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, postpriming germination, and seedling establishment in spinach (*Spinacia oleracea*). **Plant Science**, v. 180, p. 212-220, 2011.

CHEN, C.; LETNIK, I.; HACHAM, Y.; DOBREV, P.; BEM-DANIEL, B. H.; VANKOVA, R. Ascorbate peroxidase6 protects *Arabidopsis thaliana* desiccating and germinating seeds from stress and mediates cross talk between ROS, ABA and auxin. **Plant Physiology**, v. 166, p. 370-383, 2014.

CÓRDOBA, G.A.T.; BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; NEVES, J.C.L. Osmocondicionamento em sementes de *Esenbeckia leiocarpa* ENGL (GUARANTÃ). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, n. 2, p. 220-226, 1995.

DE CASTRO, R.D.; HILHORST, H.W.M. Embebição e Reativação do Metabolismo. In: **Germinação: do básico ao aplicado** (A. Gui Ferreira; Borghetti, F., orgs.) Artmed, Porto Alegre, p. 149-162. 2004.

DE CASTRO, R.D.; VAN LAMMEREN, A.A.; GROOT, S.P.; BINO, R.J.; HILHORST, H.W. Cell division and subsequent radicle protrusion in tomato seeds are inhibited by osmotic stress but DNA synthesis and formation of microtubular cytoskeleton are not. **Plant Physiology**, v. 122, n. 2, p. 327-336, 2000.

FEIJÓ, N.S.A.; MIELKE, M.S.; GOMES, F.P. Growth and photosynthetic responses of *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms and *Schinus terebinthifolius* Raddi seedlings in dense shade. **Agroforestry Systems**, v. 77, p. 49, 2009.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In... REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000. **Anais...** São Carlos, SP: SIB, p. 255-258, 2000.

FERREIRA, R.A.; SANTOS, P.L.; ARAGÃO, A.G.; SANTOS, T.I.S.; SANTOS NETO, E.M.; REZENDE, A.M.S. Semeadura direta com espécies florestais na implantação de mata ciliar no Baixo São Francisco em Sergipe. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 81, p. 37-46, 2009.

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

GOMES NETO, V.; RIBEIRO, P.R.; DEL-BEM, L.E.; BERNAL, D.T.; LIMA S.T.C.; LIGTERINK, W.; FERNANDEZ, L.G.; DE CASTRO, R.D. Characterization of the superoxide dismutase gene family in seeds of two *Ricinus communis* L. genotypes submitted to germination under water restriction conditions, **Environmental and Experimental Botany**, v. 155, p. 453-463, 2018.

HASANUZZAMAN M.; HOSSAIN M. A.; DA SILVA J. A. T.; FUJITA M. Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor, in: **Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies**, eds Bandi, V., Shanker A. K., Shanker C., Mandapaka M. (Berlin: Springer), p. 261-316, 2012.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R. Accelerated Germination by Osmotic Seed Treatment. **Nature**, v. 246, p. 42-44, 1973.

HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. **Plant Journal**, v. 61, p. 1041–1052, 2010.

HOJATI, M.; MODARRES-SANAVY, S.A.M.; KARIMI, M.; GHANATI, F. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, p. 105-112, 2010.

JASPERS, P.; KANGASJARVI, J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. **Physiologia Plantarum**, v. 138, p. 405-413, 2010.

JESUS, N.B.; SOUZA, A.L.G.; SANTOS, S.L.M.; GOMES, L.J. Cadeia produtiva. In: GOMES, L.J.; SILVA-MANN, R.; MATTOS, P.P.; RABBANI, A.R.C. **Pensando a biodiversidade: aroeira** (*Schinus terebinthifolius* Raddi.). São Cristóvão: Editora UFS, 2013. 372 p.

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

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.C.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709-725, 2011.

KISSMANN, C.; SCALON, S.P.Q.; MOTA, L.H.S.; VIEIRA, M.C. Germinação de sementes de *Stryphnodendron* Mart. osmocondicionadas, **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32 n. 2, 2010.

KISSMANN, C.; SCALON, S.P.Q.; SCALON FILHO, H.; VIEIRA, M.C. Biorregulador e pré-condicionamento osmótico na germinação de sementes e no crescimento inicial da muda de carobinha (*Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença) – Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 1, p. 58-67, 2011.

KUKI, K.N.; OLIVA, M.A.; COSTA, A.C. The Simulated Effects of Iron Dust and Acidity During the Early Stages of Establishment of Two Coastal Plant Species. **Water Air Soil Pollut**, v. 196, p. 287-295, 2009.

LIMA, B. G.; TORRES, S. B. Estresses hídrico e salino na germinação de sementes de *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 4, p. 93-99, 2009.

LIMA GLÓRIA, L.; ARANTES M.B.S.; PEREIRA S.M.F.; VIEIRA G.S.; MARTINS C. X.; CARVALHO JUNIOR A.R.; ANTUNES, F.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I.J.C.; CRUZ L.L.; CHAVES, D.S.A.; FREITAS, S.P.; OLIVEIRA D.B. Phenolic Compounds Present *Schinus terebinthifolius* Raddi Influence the Lowering of Blood Pressure in Rats. **Molecules**. v. 22, n. 10, p. 1792, 2017.

LUTTS, S.; BENINCASA, P.; WOJTYLA, L.; KUBALA, S.; PACE, R.; LECHOWSKA K.; QUINET, M.; GARNCZARSKA, M. Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. In: Susana Araujo S, Balestrazzi A (eds). **New challenges in seed biology**—basic and translational research driving seed technology. InTech, Rijeka, 2016.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015. 659p.

MASETTO, T.E.; SCALON, S.D.P.Q. Drying and Osmotic Conditioning in *Hancornia speciosa* Gomes Seeds. **Floresta e Ambiente**, v. 21, p. 62-68, 2014.

MASETTO, T.E.; SCALON, S.D.P.Q.; REZENDE, R.K.S.; OBA, G.C.; GAMBATTI, M.; PATRICIO, V.S. Germination of *Dimorphandra mollis* Benth. Seeds: Effect of Salinity and Osmotic Conditioning. **Revista Brasileira de Biociencias**, v. 12, p. 127-131, 2014.

- MELO, L.D.F.A.; MELO JUNIOR, J.L.A.; ARAÚJO NETO, J.C.; FERREIRA, V.M.; NEVES, M.I.R.S.; CHAVES, L.F.G. Influence of light, temperature and humidity on substrate and osmoconditioning during the germination of *Mimosa bimucronata* (DC) O. Kuntze. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 7, p. 1177-1183, 2018.
- MENDONÇA, A. V. R.; COELHO, E. A.; SOUZA, N. A.; BALBINOT, E.; SILVA, R. F.; BARROSO, D. G. Efeito da hidratação e do condicionamento osmótico em sementes de pau-formiga. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 2, p. 111-116, 2005.
- MISSIO, E. L.; NUNES, U. R.; SALDANHA, C. W.; MALDANER, J.; STEFFEN, G. P. K.; MORAIS R. M. Seeds of *Peltophorum dubium* submitted to osmotic conditioning increases germination and vigor. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 38, p. 1-9, 2018.
- NAVROT, N.; ROUHIER, N.; GELHAYE, E. JACQUOT, J.P. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria, **Physiologia Plantarum**, v. 129, p. 185-195, 2007.
- NEVES, E.J.M; SANTOS, A.M; GOMES, J.B.V; RUAS, F.G; VENTURA, J.A. Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para produção de pimento rosa. Colombo: **Embrapa Florestas**, 2016. 10p. (Documentos, 294).
- NUNES, D.P.; SCALON, S.P.Q.; DRESCH, D.M.; GORDIN, C.R.B. Photosynthetic and enzymatic metabolism of *Schinus terebinthifolius* Raddi. seedlings under water deficit. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 6, p. 676-682, 2017.
- PAPARELLA, S.; ARAÚJO, S.S.; ROSSI, G.; WIJAYASINGHE, M.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A. Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant Cell Reports**. v. 34, p. 1281-1293, 2015.
- PEREIRA, E. P. L.; RIBEIRO, P. R.; LOUREIRO, M. B.; CASTRO, R. D. FERNANDEZ, L. G. Effect of water restriction on total phenolics and antioxidante properties of *Amburana cearensis* (Fr. Allem) A.C. Smith cotyledons during seed imbibition. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 1293-1297, 2014.
- PETROV, V.; HILLE, J.; MUELLER-ROEBER, B.; GECHEV, T. S. ROS mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. **Plant Science**, v. 6, n. 69, 2015.
- PINHO, D.S.; BORGES, E.E.L.; PONTES, C.A. Avaliação da viabilidade e vigor de sementes de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. submetidas ao envelhecimento acelerado e ao osmocondicionamento. **Revista Árvore**, v. 34, n. 3, p. 425-434, 2010.
- OLIVEIRA, C.E.S.; STEINER, F.; ZUFFO, A.M.; ZOZ, T.; ALVES, C.Z.; AGUIAR, V.C.B. Seed priming improves the germination and growth rate of melon seedlings under saline stress. **Ciência Rural**, v. 49, n. 7, 2019.
- OLIVEIRA, V.S.; AUGUSTA, I.M.; BRAZ, M.V.D.C.; RIGER, C.J.; PRUDÊNCIO, E.R.; SAWAYA, A.C.H.F.; SAMPAIO, G.R.; TORRES, E.A.F.D.S.; SALDANHA, T.

Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 15, n. 315, 126274, 2020.

RAMALHO, L.B.; BENEDITO, C.P.; PEREIRA, K.T.O.; SILVA, K.C.N.; MEDEIROS, H.L.D.S. Hidrocondicionamento de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. e seus efeitos sobre a tolerância ao estresse salino. **Ciência Florestal**, v. 30, n. 1, p. 221-230, 2020.

RIBEIRO-OLIVEIRA, J.P.; RANAL, M.A. Sementes florestais brasileiras: início precário, presente inebriante e o futuro, promissor? **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 771-784, 2014.

ROSA, D. B.C.J.; SCALON, S. P.Q.; CREMON, T.; CECCON, F.; DRESCH, D. M. Gas exchange and antioxidant activity in seedlings of *Copaifera langsdorffii* Desf. under different water conditions. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 4, p. 3039-3050, 2017.

ROSENTAL, L.; NONOGAKI, H.; FAIT, A. Activation and regulation of primary metabolism during seed germination. **Seed Science Research**, v. 24, n. 01, p. 1-15, 2014.

SANTOS, M.C.A.; AROUCHA, E.M.M.; SOUZA, M.S.; SILVA, R. F.; SOUSA, P.A. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 2, p. 1-6, 2008.

SANTOS, A.R. F.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Restrição hídrica em sementes de Jenipapo (*Genipa americana* L.). **Revista Árvore**, v. 35, n. 2, p. 213-220, 2011.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 46, p. 209-221, 2005.

SILVA, E.; GUILHERME M.F.; OLIVEIRA H.; VIANA Z., SANTOS, V. L.; Caracterização morfométrica e efeitos ecotoxicológicos do chumbo na germinação de sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 84, p. 1-7, 2017.

SILVA, E.; GUILHERME, M. F. S.; OLIVEIRA, H. M.; ARAÚJO, L. N. C. P.; VIANA, Z. C.V.; SANTOS, V. L. C.S. Ecotoxicological effects of cadmium on the germination and initial development of *Schinus terebinthifolius*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 2, p. 10-17, 2017.

SILVA, G.; JOSÉ, A.; TEIXEIRA, F.; GONZAGA, L.; MOLINA, R.; MEDEIROS, J.; OKADA, M.; CHAMMA, L. Effect of Priming on Physiological Quality of *Handroanthus serratifolius* (Vahl.) Seeds. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 31, n. 3, p. 1-8, 2019.

- SPADETO, C.; GOLIN, L.H.; PAULUCIO, M.C.; LOPES, J.C. Embebição, osmocondicionamento e viabilidade de sementes de *Apuleia leiocarpa* (VOGEL.) J. F. MACBR. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 80-89, 2018.
- SOUZA, M.O.; PELACANI, C.R.; WILLEMS, L.A.J., DE CASTRO, R.D., HILHORST, H.W.M.; LIGTERINK, W. Effect of osmopriming on germination and initial growth of *Physalis angulata* L. under salt stress and on expression of associated genes. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, p. 503-516, 2016.
- SOUZA, L.M.; BARBOSA, M.R.; MORAIS, M.B.; NETO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, A.T.R. Biochemical and morphophysiological strategies of *Myracrodruon*. **Biologia Plantarum**, v. 64, p. 20-31, 2020.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.
- TONIN, G.A.; GATTI, A.B.; CARELLI, B.P.; PEREZ, S.C.J.G.A. Influência da temperatura de condicionamento osmótico na viabilidade e no vigor de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 2, p. 35-43, 2005.
- VARIER, A.; VARI, A.K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, v. 99, p. 450-456, 2010.
- VENTURA, L.; DONA, M.; MACOVEI, A.; CARBONERA, D.; BUTTAFAVA, A. MONDONI, A.; ROSSI, G.; BALESTRAZZI, A. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 60, p. 196-206, 2012.
- VILLELA, F.A.; BECKERT, O.P. Potencial osmótico de soluções aquosas de polietilenoglicol 8000. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 267-275. 2001.
- VIRGENS, I.O., CASTRO, R.D., FERNANDEZ, L.G.; PELACANI, C.R. Comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anarcadiaceae) submetidas a fatores abióticos. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 4, p. 681-692, 2012.
- WATERWORTH, W.M.; DRURY, G.E.; BRAY, C.M.; WEST, C.E. Repairing breaks in the plant genome: the importance of keeping it together. **New Phytologist**, v. 192, p. 805-822, 2011.
- ZHANG, K.; ZHANG, Y.; SUN, J.; MENG, J.; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 475-485, 2021.
- ZHOU, J.; WANG, Y.; JAHUFER, Z. Location and chemical composition of semi-permeable layer of forage seeds. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 42, n. 1, p. 23-30, 2013.